تأثیر تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز بر پروتئولیز و لیپولیز پنیر سفید آب‌نمکی کم‌چرب تلفیق‌شده با پروتئین‌های آب‌پنیر طی دوره رسیدن

حسین جوینده[a*]، عرفان دانش[b]، مصطفی گودرزی[c]

[a] *دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دام و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی خوزستان، ایران*

[b] *دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دام و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی خوزستان، ایران*

[c] *دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده بیوسیستم، دانشگاه تهران، کرج، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۰۹

چکیده

مقدمه: کاهش چربی، ویژگی‌های مختلف پنیر را به گونه‌ای منفی تحت تاثیر قرار می‌دهد. می‌توان با تیمار ترانس‌گلوتامیناز پنیر سفید آب-نمکی کم‌چرب تلفیق‌شده با پروتئین‌های آب‌پنیر، به محصولی با ویژگی‌های رئولوژیکی مشابه با پنیر پرچرب دست یافت. هدف از این پژوهش، بررسی تغییرات شاخص‌های پروتئولیز و لیپولیز این پنیر طی دوره رسیدن بود.

مواد و روش‌ها: سه نمونه آزمایشی پنیر شاهد پرچرب (۳٪ چربی شیر)، شاهد کم‌چرب (۱٪ چربی شیر) و پنیر کم‌چرب تیمار شده با ترانس‌گلوتامیناز (۱٪ چربی، ۰/۹ واحد ترانس‌گلوتامیناز به ازای هر گرم پروتئین شیر، ۵ گرم ایزوله پروتئینی آب‌پنیر به ازای هر لیتر شیر) تولید، و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، شاخص‌های پروتئولیز و لیپولیز و خصوصیات ارگانولپتیکی آن‌ها در ۳، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز پس از تولید مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: طی دوره رسیدن، شاخص‌های پروتئولیز و لیپولیز همه نمونه‌ها افزایش نشان داد ($p<0/05$) ولی شیب افزایش آنها کاهش پیدا کرد. کاهش چربی باعث کاهش چشمگیر سرعت پروتئولیز و لیپولیز پنیر سفید آب‌نمکی شد ($p<0/05$)، این در حالی بود که تیمار آنزیمی شیر کم‌چرب همراه با تلفیق پروتئین‌های آب‌پنیر به فرمولاسیون آن، با کاهش آب‌اندازی پنیر حاصله، باعث ارتقای شاخص‌های پروتئولیز و لیپولیز شد ($p<0/05$). طی دوره رسیدن، کاهش سرعت تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نسبت به انواع متوسط و بلند زنجیر به مراتب شدیدتر بود که احتمالا به دلیل شرکت آنها در واکنش‌های تولید ترکیبات عامل عطر و طعم بوده است. با افزایش زمان رسیدن، عطر و طعم نمونه تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به گونه قابل ملاحظه‌ای بهبود پیدا کرد ($p<0/05$) ولی همچنان کمتر از نمونه پرچرب مورد پسند مصرف‌کنندگان قرار گرفت ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: تلفیق پروتئین‌های آب‌پنیر به همراه تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز سبب بهبود واکنش‌های لیپولیز و پروتئولیز در پنیر کم-چرب طی دوره رسیدن می‌شود و در نتیجه آن ویژگی‌های ارگانولپتیکی آن بهبود می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: *آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، ایزوله پروتئینی آب‌پنیر، پروتئولیز، پنیر سفید آب‌نمکی کم‌چرب، لیپولیز*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: hosjooy@yahoo.com

مقدمه

شواهد علمی نشان داده است که بین مصرف چربی و احتمال ابتلا به بیماری‌هایی نظیر چاقی مفرط [1]، دیابت نوع ۲، فشار خون بالا، بیماری‌های قلبی –عروقی و انواع خاصی از سرطان ارتباط مستقیمی وجود دارد (Ritvanen *et al.*, 2005). با افزایش آگاهی‌های مصرف‌کنندگان نسبت به خطرات مصرف چربی، تقاضا برای محصولات کم‌چرب از جمله پنیر رشد چشمگیری پیدا کرده است (Kondyli *et al.*, 2003a). با این وجود، طعم و بافت ناخوشایند پنیرهای با چربی کاهش‌یافته، مانع از رونق بازار تولید و مصرف این محصولات شده است. پنیرهای کم‌چرب بافتی سخت و لاستیکی دارند و فاقد عطر و طعم دلپذیر پنیرهای پرچرب هستند (Costa *et al.*, 2010). نقطه نظر قطعی در رابطه با علت عطر و طعم ضعیف‌تر پنیر کم‌چرب وجود ندارد اما به طور کلی عطر و طعم ضعیف‌تر پنیر کم‌چرب را به مواردی مانند فقدان چربی به عنوان پیش‌ساز تولید ترکیبات عامل عطر و طعم، خروج ترکیبات عامل عطر و طعم از شبکه پنیر کم‌چرب به دلیل ماهیت چربی‌دوستی اکثر این ترکیبات و ساختار فیزیکی متفاوت پنیر کم‌چرب که مانع واکنش‌های آنزیمی مربوط به تشکیل ترکیبات عامل عطر و طعم می‌شود، نسبت می‌دهند (Urbach, 1997). توسعه عطر و طعم در پنیرهای رسیده، فرآیند پیچیده‌ای شامل فعالیت‌های میکروبی و بیوشیمیایی مختلف است که منجر به تولید یک مخلوط ناهمگن از ترکیبات فرار و غیرفرار می‌شود (Kondyli *et al.*, 2003a). در بیشتر پنیرها، فرآیند رسیدن با هیدرولیز تری‌گلیسریدها به اسیدهای چرب آزاد با طول زنجیره بیشتر از ۴ اتم کربن همراه است. اسیدهای چرب آزاد پیش‌ساز تشکیل بسیاری از ترکیبات عامل عطر و طعم از قبیل الکل‌ها، استرها، آلدهیدها، کتون‌ها و لاکتون‌ها به شمار می‌روند (Kondyli *et al.*, 2003b). یکی دیگر از واکنش‌های بیوشیمیایی که از نقش مهمی در شکل‌گیری ترکیبات عامل عطر و طعم پنیرهای رسیده برخوردار است، پروتئولیز می‌باشد. اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئین‌های شیر، علاوه بر اینکه، خود به طور مستقیم، عامل عطر و طعم به شمار می‌آیند، با شرکت در واکنش‌هایی از قبیل دآمیناسیون، دکربوکسیلاسیون، دسولفوراسیون و ....، به صورت غیرمستقیم نیز در شکل‌گیری ترکیبات عامل عطر و طعم پنیر نقش‌آفرینی می‌کنند (Sousa *et al.*, 2001). گفته می‌شود که در پنیرهای کم‌چرب، به دلیل ماتریس پروتئینی فشرده‌تر و همچنین نسبت رطوبت به پروتئین کمتر این پنیرها، دسترسی رنت و آنزیم‌های پروتئولیتیک میکروبی به سوبسترای پروتئینی محدود می‌شود و بر این اساس، تولید ترکیبات عامل عطر و طعم ممکن تحت تحت تاثیر قرار بگیرد (Rudan *et al.*, 1999). یکی از کارآمدترین رهیافت‌هایی که تاکنون برای بهبود ویژگی‌های پنیرهای کم‌چرب پیشنهاد شده است، افزایش نسبت رطوبت به پروتئین از طریق تلفیق اجزای غذایی آب‌دوست مانند پروتئین‌های آب‌پنیر، صمغ‌ها و .. به فرمولاسیون پنیر می‌باشد (Broadbent *et al.*, 2001). نشان داده شده است که تیمار آنزیمی شیر پنیرسازی با آنزیم‌هایی نظیر ترانس‌گلوتامیناز نیز می‌تواند از طریق ایجاد شبکه‌های پروتئینی با قابلیت حفظ رطوبت بیشتر در پنیر، دستیابی به این مهم را میسر سازد (Sayadi *et al.*, 2013). آب اضافی به دام افتاده در ماتریس پنیر، علاوه بر اینکه نقش چربی به عنوان روان‌ساز اصلی شبکه پروتئینی پنیر را شبیه‌سازی کرده و بدین‌ترتیب باعث نزدیک شدن ویژگی‌های بافتی پنیر کم‌چرب به همتای پرچرب آن می‌شود (Banks., 2004)، می‌تواند با تسهیل فعالیت پروتئولیتیک و لیپولیتیک، باعث تشدید تولید ترکیبات عامل عطر و طعم شده و به دنبال آن، بهبود ویژگی‌های ارگانولپتیک را سبب شود (Romeih *et al.*, 2002). Sahan و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که تلفیق جایگزین‌های چربی به فرمولاسیون پنیر کم‌چرب کشار [2]، باعث افزایش چشمگیر شاخص‌های پروتئولیز و لیپولیز و در پی آن، بهبود ویژگی‌های ارگانولپتیک و از جمله طعم این پنیر می‌شود. در میان پژوهش‌هایی که تا کنون در زمینه تیمار شیر پنیرهای کم‌چرب (Sayadi *et al.*, 2013) و یا پرچرب (Mleko *et al.*, 2004) با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز صورت پذیرفته است، توجه اصلی پژوهش معطوف به بررسی تاثیر تیمار آنزیمی بر پارامترهای رئولوژیک و ویژگی‌های بافتی بوده است و تغییرات شاخص‌های

[1] Obesity

[2] Kashar Cheese

پروتئولیتیک و لیپولیتیک کمتر مورد بحث بوده است. در یکی از معدود پژوهش‌هایی که در این زمینه گزارش شده است، Özer و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده کردند که میزان تولید نیتروژن محلول –به عنوان یکی از شاخص‌های اصلی پروتئولیز– در پنیر سفید آب‌نمکی تیمارشده با ترانس-گلوتامیناز به گونه چشمگیری کمتر از نمونه شاهد می‌باشد و علت آن را ناشی از محدود شدن فعالیت‌های پروتئولیتیک در نتیجه ساختار مستحکم‌تر ماتریس پروتئینی پنیرهای تیمار شده با ترانس‌گلوتامیناز دانستند. پیشتر، ما دریافتیم که با بهینه‌سازی شرایط تیمار آنزیمی پنیر سفید آب‌نمکی کم‌چرب تلفیق‌شده با پروتئین‌های آب‌پنیر، می‌توان ویژگی‌های بافتی را به گونه چشمگیری بهبود بخشید (دانش و همکاران، ۱۳۹۵). در ادامه پژوهش پیشین، در مطالعه پیش‌رو تلاش شده است تا تغییرات شاخص‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک این پنیرها طی یک دوره رسیدن ۶۰ روزه مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

– مواد

نمونه‌های پنیر در کارخانه شیر پاستوریزه پگاه خوزستان (شوش، ایران) تولید شدند. ایزوله پروتئینی آب‌پنیر (۸۸٪ پروتئین، ۱/۳٪ لاکتوز، ۴/۵٪ خاکستر، ۰/۲٪ چربی) از شرکت Arla Food Ingredient دانمارک و آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی (EC ۱۳،۲،۳،۲) از شرکت Natural BDF Ingredients اسپانیا خریداری شد. از رنت استاندارد Chy-Max شرکت لبنی هانسن دانمارک و آغازگر مزوفیل CHOOZIT 230 (محتوی سویه‌های *لاکتوکوکوس-لاکتیس زیرگونه‌های کرموریس* و *لاکتیس*) و ترموفیل YO-MIX 532 (محتوی سویه‌های *استرپتوکوکوس-ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس‌دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس*) شرکت لبنی دانیسکوی آلمان استفاده شد.

– تولید پنیر

سه نمونه آزمایشی پنیر آب‌نمکی سفید ایرانی شامل نمونه شاهد پرچرب (FF)، نمونه شاهد کم چرب (LF) و نمونه بهینه کم‌چرب –تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و تلفیق‌شده با ایزوله پروتئینی آب‌پنیر– (W+TG) تولید شدند. فرمولاسیون نمونه بهینه با بررسی تاثیر تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز (۰–۲ واحد به ازای گرم پروتئین شیر) بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و ارگانولپتیکی پنیر آب‌نمکی سفید ایرانی کم‌چرب (۰/۴–۱/۴ درصد چربی شیر) تلفیق‌شده با ایزوله پروتئین آب‌پنیر (۰–۶ گرم در هر لیتر شیر)، بوسیله روش سطح پاسخ و در قالب یک طرح مرکب مرکزی (CCD) ۵ سطحه ($\alpha = 1.68$) انتخاب شد (مقاله در دست چاپ، دانش و همکاران، ۱۳۹۵). برای تنظیم درصد چربی شیر مورد استفاده برای تولید نمونه کم‌چرب شاهد و بهینه (۱ درصد)، شیر پس چرخ خام (۰/۴ درصد چربی) با مقادیر مناسبی از خامه مخلوط شد. برای تولید نمونه شاهد پرچرب نیز از شیر ۳٪ چربی استفاده شد. به منظور تولید نمونه بهینه کم‌چرب، نخست، یک محلول ۲۰٪ (وزنی–وزنی) پروتئین آب‌پنیر، با حل کردن پودر WPI در آب مقطر و هم‌زدن با یک همزن مغناطیسی با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه تهیه شد. به منظور اطمینان از هیدراته شدن کامل، محلول پروتئین آب‌پنیر در دمای ۴°C به مدت یک شب نگه‌داری شد (Sayadi *et al.*, 2013). طبق فرمولاسیون نمونه بهینه، مقدار مشخصی از محلول ایزوله پروتئینی آب‌پنیر (۵ گرم پروتئین به ازای هر لیتر شیر) به شیر پنیرسازی افزوده شد. شیر استاندارد شده، به شیوه‌ی غیر مداوم در دمای ۶۴°C به مدت ۳۰ دقیقه در داخل وتی از جنس فولاد زنگ نزن که درون حمام آبی قرار گرفته بود پاستوریزه گردید. در این مرحله، کلرید کلسیم به میزان ۰/۱ گرم به ازای هر کیلوگرم شیر به آن افزوده و سپس پودر مایه کشت آغازگر به غلظت ۰/۰۴ گرم به ازای هر کیلوگرم شیر تلقیح شد و به مدت ۵۵ دقیقه در دمای ۳۵°C نگهداری شد تا آغازگرها فرصت کافی برای فعالیت و کاهش pH قبل از افزودن رنت را داشته باشند. پس از سپری‌شدن این مدت زمان، رنت به میزان ۰/۲۵ گرم به ازای هر کیلوگرم شیر به وت افزوده و۵۰ دقیقه برای تشکیل لخته به آن فرصت داده شد. همزمان با رنت، آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (۰/۹ واحد به ازای گرم پروتئین شیر) نیز به شیر اضافه شد. لخته ایجاد شده به مکعب‌های $1cm^3$ بریده شد و به مدت ۱۰ دقیقه به حال خود رها شد و سپس با آهنگی افزایشی، مکعب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شدند تا خروج آب‌پنیر از آن‌ها تسریع شود. پس از تخلیه آب‌پنیر، لخته‌ها در قالب مخصوص پرس به مدت ۲/۵ ساعت قرار داده شدند. فشار به صورت تدریجی از ۰/۳

کیلوپاسال تا تقریبا ۲/۹ کیلوپاسکال در یک ساعت اول افزایش یافت و تا پایان فرآیند پرس‌کردن، تحت همین فشار باقی ماند. در ادامه، لخته پرس‌شده به قطعه‌هایی به ابعاد ۴×۴×۸ سانتی‌متر بریده شد؛ در ظروف پلاستیکی غیرقابل نفوذ به هوا قرار داده شد و سطح آن با آب‌نمک ۱۳٪ پوشانده شد. لازم به ذکر است که پیشتر آب نمک مصرفی در دمای ۸۰°C به مدت زمان ۱۰ دقیقه پاستوریزه و خنک شده بود. بعـد از عمل درب‌بندی، ظروف در دمای ۲۳-۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۹ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس تمام نمونه‌های پنیر تولیدشده، تا زمان انجام آزمون‌های فیزیکوشیمیایی، پروتئولیز، لیپولیز و حسی در دمای ۵-۶ درجه سلسیوس نگهداری شدند. تولید پنیرهای شاهد پرچرب و شاهد کم‌چرب نیز با پیروی از پروتکل عنوان‌شده برای تولید نمونه کم‌چرب بهینه و البته بدون افزودن محلول پروتئین آب‌پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، صورت پذیرفت. بررسی ویژگی‌های مختلف نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدن در چهار بازه زمانی (۳، ۲۰، ۴۰، ۶۰ روز پس از تولید) انجام گرفت.

- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

ویژگی‌های شیمیایی با استفاده از دستورالعمل‌های AOAC (۲۰۰۰) اندازه گیری شدند. اندازه‌گیری pH با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال (مدل827، متراهم[1]، ساخت سوئیس) انجام گرفت. درصد ماده جامد کل توسط خـشک کردن به روش آون تحت خلاء و تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد. چربی به روش ژربر و پروتئین توسط روش کلدال (حاصلضرب مقدار نیتروژن اندازه گیری شده در فاکتور ۶/۳۸) تعیین شد.

- ارزیابی پروتئولیز

- نسبت نیتروژن محلول در آب به نیتروژن کل

نسبت نیتروژن محلول در آب به نیتروژن کل به عنوان شاخصی از پروتئولیز در نمونه‌های مختلف مطابق روش Kuchroo & Fox (۱۹۸۲) اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری ازت محلول هر کدام از نمونه‌ها، ۳۰ گرم نمونه پنیر به همراه ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای آزمایشگاه بوسیله مخلوط کن به خوبی همگن گردید و pH هر کدام از آنها با استفاده از محلول HCl و یا NaOH در ۴/۶ تنظیم شد. پس از قرار گرفتن نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه، pH آنها دوباره در ۴/۶ تنظیم شده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در آون ۴۰ درجه سلسیوس، گرمخانه‌گذاری شدند. در ادامه، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و پس از جداسازی محلول رویی با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲، ازت محلول آن با روش کلدال اندازه‌گیری شد.

- نسبت مجموع اسیدهای آمینه تیروزین و تریپتوفان به پروتئین کل

سرعت پروتئولیز نمونه‌های پنیر در روزهای ۳، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز پس از تولید با اندازه‌گیری غلظت تیروزین-تریپتوفان استخراج شده در تری‌کلرواستیک اسید و تقسیم آن بر محتوای پروتئین با پیروی از روش Khosrowshahi و همکاران (۲۰۰۶) تعیین شد. دوغاب پنیر با مخلوط کردن محلول استریل ۵/۲٪ سدیم کلراید با نسبت ۱ به ۲ با نمونه‌های پنیر در دمای ۴۵ درجه سلسیوس تهیه شد. ۱ گرم از دوغاب نمونه‌های پنیر در ۵/۴ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۱۲٪ (وزنی/حجمی) تری‌کلرواستیک اسید به هر یک از سوسپانسیون‌های تهیه شده اضافه شد پس از ۱۰ دقیقه با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ محلول حاصله صاف شد. ۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های مختلف استخراج شده در تری‌کلرو استیک اسید به ۱۰ میلی‌لیتر از یک محلول شامل ۱۵٪ سدیم کربنات و ۲٪ سدیم هگزامتافسفات در تیوپ مخصوص در دمای ۴۰ درجه سلسیوس اضافه شد. پس از آن ۳ میلی‌لیتر از واکنشگر فولین فنول ۳ بار رقیق شده به تیوپ اضافه شد و محلول حاصله کاملا همزده شد و سپس در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه قبل از اندازه‌گیری جذب در ۶۵۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر (Spectrophotomter Shimadzu UV-1601، ساخت ژاپن) نگهداری شد. ۶ میلی‌لیتر آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱۲٪ (وزنی/حجمی) تری‌کلرواستیک اسید اضافه شد و مخلوط حاصله در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه نگهداری و سپس با کاغذ صافی واتمن شماره ۲

[1] Metrohm

صاف شد. پس از آن ۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده و ۳ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین به ۱۰ میلی‌لیتر محلول سدیم هگزامتافسفات اضافه شد. محلول حاصله به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. منحنی استاندارد تیروزین با استفاده از غلظت ۰، ۵، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در تری-کلرواستیک اسید صاف شده رسم گردید.

- ارزیابی لیپولیز

لیپولیز نمونه‌های مختلف پنیر طی دوره رسیدن با استفاده از اندازه‌گیری عدد اسیدی[1] مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور ۱۰ گرم نمونه پنیر را به همراه ۶ گرم سولفات سدیم بدون آب کاملا مخلوط کرده و پس از افزودن ۶۰ میلی‌لیتر محلول دی اتیل اتر بر روی هم‌زن مغناطیسی کاملا مخلوط کرده، سپس به کمک کاغذ صافی، صاف کرده و محلول زیر صافی را با محلول KOH اتانولی ۰/۱ نرمال در حضور فنول فتالئین تیتر نموده و در نهایت با قرار دادن محلول تیتر شده در زیر هود چربی باقی مانده توزین و مقدار کل اسیدهای چرب در پنیر با واحد میلی اکی والان در ۱ گرم بیان شد (Marshal *et al.*, 1992).

- تعیین پروفیل اسیدهای چرب

استخراج اسیدهای چرب با پیروی از روش Garcia-Lopez و همکاران (۱۹۹۴) انجام شد. بر طبق این روش، چربی نمونه پنیر با استفاده از مخلوط متانول و متیلن کلراید به نسبت ۱ به ۹ و به وسیله تبخیر حلال در ۴۰ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط خلا استخراج شد. چربی استخراج شده طبق روش Metcalf و همکاران (۱۹۶۶) متیله شد و تا زمان تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی، در دمای نزدیک به صفر درجه نگهداری گردید. کروماتوگرافی گازی (Shimadzu GC-17AAF,V3 230V SERIES; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای و ستون (Varian, CPSill 88 –100m*250um*0.2um) برای آنالیز اسیدهای چرب آزاد نمونه‌های پنیر مورد استفاده قرار گرفت. گاز هلیوم به عنوان گاز حامل انتخاب شد و دمای آشکارساز ۲۵۰ درجه سلسیوس بود. دمای داخلی ستون در ۴۰ درجه سلسیوس تنظیم شده و به مدت ۱ دقیقه نگهداری شد، سپس دما تا ۲۴۰ درجه سلسیوس با نرخ ۵ درجه سلسیوس در دقیقه افزایش یافته تا به دمای نهایی ۲۴۰ درجه سلسیوس برسد و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در این دما حفظ شد. در این آزمون نونانویک اسید به عنوان استاندارد داخلی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین زمان بازداری استاندارد با استفاده از مخلوط استاندارد اسیدهای چرب تعیین شد و در نهایت با مقایسه زمان بازداری پیک‌های کروماتوگرام استاندارد با کروماتوگرام نمونه‌های پنیر، اسیدهای چرب پنیر شناسایی شدند.

- ارزیابی حسی

مهمترین خصوصیات حسی نمونه‌های پنیر سفید ایرانی فراپالایش شامل رنگ و ظاهر، طعم و رایحه، و قوام و بافت، توسط توسط یک گروه ۱۰ نفره از دانشجویان صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین (ملاثانی، خوزستان) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها از طریق یک آزمون ترجیحی ده نقطه‌ای با یکدیگر مقایسه شدند. بر اساس اهمیت هر یک از صفات کیفی مورد نظر، برای نمرات هر یک از صفات بنا بر پیشنهاد IDF (۱۹۸۷) ضریبی در نظر گرفته شد (طعم: ضریب ۵، بافت: ضریب ۴، ظاهر و رنگ: ضریب ۱) و حاصل‌جمع آنها به عنوان نمره پذیرش کلی هر نمونه گزارش شد (Katsiari *et al.*, 2002).

- تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی تغییرات ویژگی‌های تیمارهای مختلف پنیر (۳ تیمار) در طول زمان (۴ حالت) از طرح کاملا تصادفی استفاده شد. نتایج با استفاده از برنامه GLM از نرم افزار SAS نسخه ۹/۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از آزمون دانکن و در سطح اطمینان ۹۵٪ برای مقایسه میانگین ویژگی‌های مختلف هر تیمار در مقاطع زمانی مختلف دوره انبارمانی و یا مقایسه ویژگی‌های تیمارهای مختلف در مقطع یکسانی از دوره انبارمانی استفاده شد. همه اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام گرفت. برای ترسیم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده گردید.

[1] Acid Degree Value

یافته‌ها

-ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

مشاهدات حاصل از بررسی تغییرات ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های مختلف پنیر سفید ایرانی طی یک دوره رسیدن ۶۰ روزه، در جدول ۱ گزارش شده است. بر پایه این یافته‌ها، افزایش دوره رسیدن با کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۵) رطوبت برای نمونه‌های مختلف پنیر سفید ایرانی همراه بود؛ با این حال، تغییرات مشاهده شده برای نمونه شاهد پرچرب و نمونه کم‌چرب بهینه، تنها در ۲۰ روز نخست و برای نمونه شاهد کم‌چرب در ۴۰ روز نخست، از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). همچنین لازم به ذکر است که در تمامی مقاطع دوره رسیدن، در بین نمونه‌های مورد پژوهش، نمونه کم‌چرب بهینه داری بیشترین و نمونه شاهد پرچرب دارای کمترین میزان رطوبت بودند. ترتیب نمونه‌ها از لحاظ پارامتر "نیتروژن کل به ماده خشک" نیز مانند ترتیب آنها از لحاظ میزان رطوبت بود. ولی بر خلاف رطوبت، روند کاهشی این پارامتر، برای نمونه شاهد کم-چرب تا روز بیستم و برای دو نمونه دیگر تا روز چهلم رسیدن معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). این در حالی بود که روند تغییرات نسبت رطوبت به پروتئین نمونه‌های مختلف طی دوره رسیدن از الگویی کاملا مشابه با روند تغییرات رطوبت آنها پیروی کرد. به مانند دو پارامتر پیشین، در مورد این پارامتر نیز برتری در تمامی مقاطع دوره رسیدن از آن نمونه کم‌چرب بهینه بود ولی در بین دو نمونه دیگر، این بار، برتری از آن نمونه شاهد پرچرب بود. اما در ارتباط با چربی، روند تغییرات این پارامتر بر خلاف تمامی پارامترهای فیزیکوشیمیایی مورد بررسی در این پژوهش، یک روند افزایشی بود. البته، از لحاظ آماری، این افزایش برای نمونه شاهد پرچرب و نمونه بهینه کم‌چرب تنها در ۲۰ روز نخست و برای نمونه شاهد کم‌چرب در ۴۰ روز نخست دوره رسیدن قابل اعتنا بود (p<۰/۰۵). در مورد pH، روند تغییرات همه نمونه‌ها طی دوره رسیدن، یک روند کاهشی معنی‌دار بود (p<۰/۰۵) و بین نمونه‌های مختلف نیز تفاوت محسوسی مشاهده نشد.

جدول ۱- تغییرات فیزیکوشیمیایی انواع مختلف پنیرهای سفید آب‌نمکی در طی دوره رسیدن

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی	نوع پنیر	زمان رسیدن (روز) ۳	۲۰	۴۰	۶۰
رطوبت (وزنی/وزنی)	(W+TG)	۷۷/۶۰±۰/۳۳^{aA}	۷۲/۴۹±۰/۱۹^{bA}	۷۲/۱۶±۰/۶۴^{bA}	۷۱/۷۹±۰/۶۴^{bA}
	FF	۶۵/۲۰±۰/ ۳۳^{aC}	۵۹/۰۴±۰/ ۴۳^{bC}	۵۸/۸۷±۰/ ۷۰^{bC}	۵۸/۵۶±۰/ ۷۱^{bC}
	LF	۷۳/۲۰±۰/ ۴۶^{aB}	۶۵/۱۳±۰/ ۲۶^{bB}	۶۲/۰۱±۰/۴۰^{cB}	۶۱/۷۹±۰/۴۰^{cB}
نیتروژن کل در ماده خشک (وزنی/وزنی)	(W+TG)	۵/۹۷±۰/ ۰۷^{aA}	۵/۸۲±۰/ ۰۴^{bA}	۵/۶۳±۰/ ۰۵^{cA}	۵/۵۹±۰/ ۰۴^{cA}
	FF	۵/۳۷±۰/ ۰۶^{aC}	۵/۲۶±۰/ ۰۵^{bC}	۵/۱۵±۰/ ۰۶^{cC}	۵/۱۰±۰/ ۰۴^{cC}
	LF	۵/۷۸±۰/۰۵^{aB}	۵/۵۰±۰/۰۷^{bB}	۵/۴۷±۰/ ۰۴^{bB}	۵/۴۱±۰/۰۵^{bB}
نسبت رطوبت به پروتئین	(W+TG)	۴/۱۱±۰/۱۱^{aA}	۳/۵۷±۰/۰۸^{bA}	۳/۵۰±۰/۰۸^{bA}	۳/۴۵±۰/۰۹^{bA}
	FF	۳/۶۶±۰/ ۰۷^{aB}	۳/۲۱±۰/ ۰۷^{bB}	۳/۱۴±۰/ ۰۸^{bB}	۳/۰۹±۰/ ۰۶^{bB}
	LF	۲/۹۷±۰/۰۴^{aC}	۲/۴۳±۰/۰۳^{bC}	۲/۱۵±۰/ ۰۵^{cC}	۲/۱۲±۰/ ۰۶^{cC}
چربی (وزنی/وزنی)	(W+TG)	۶/۲۵±۰/ ۱۶^{aC}	۷/۱۸±۰/ ۱۲^{bC}	۷/۲۵±۰/ ۱۳^{bC}	۷/۳۱±۰/ ۱۴^{bC}
	FF	۲۰/۱۳±۰/۹۶^{aA}	۲۲/۵۶±۰/۹۲^{bA}	۲۲/۶۴±۰/۸۲^{bA}	۲۲/۷۷±۰/۷۸^{bA}
	LF	۸/۶۳±۰/۱۶^{aB}	۹/۶۱±۰/ ۲۲^{bB}	۱۰/۷۲±۰/ ۱۲^{cB}	۱۰/۹۰±۰/۱۱^{cB}
pH	(W+TG)	۵/۲۲±۰/۰۱^{aA}	۵/۱۱±۰/۰۴^{bA}	۴/۹۶±۰/ ۰۱^{cA}	۴/۷۳±۰/۰۲^{dA}
	FF	۵/۳۲±۰/ ۰۱^{aA}	۵/۱۳±۰/۰۴^{bA}	۵/۰۱±۰/ ۰۱^{cA}	۴/۷۷±۰/۰۱^{dA}
	LF	۵/۳۳±۰/ ۰۱^{aA}	۵/۱۳±۰/ ۰۲^{bA}	۵/۰۴±۰/۰۱^{cA}	۴/۷۳±۰/ ۰۱^{dA}

W+TG نمونه کم‌چرب تیمارشده با ترانس‌گلوتامیناز و تلفیق‌شده با پروتئین‌های آب‌پنیر، FF نمونه شاهد پرچرب و LF نمونه شاهد کم‌چرب می‌باشند.

حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ می‌باشد

حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ می‌باشد

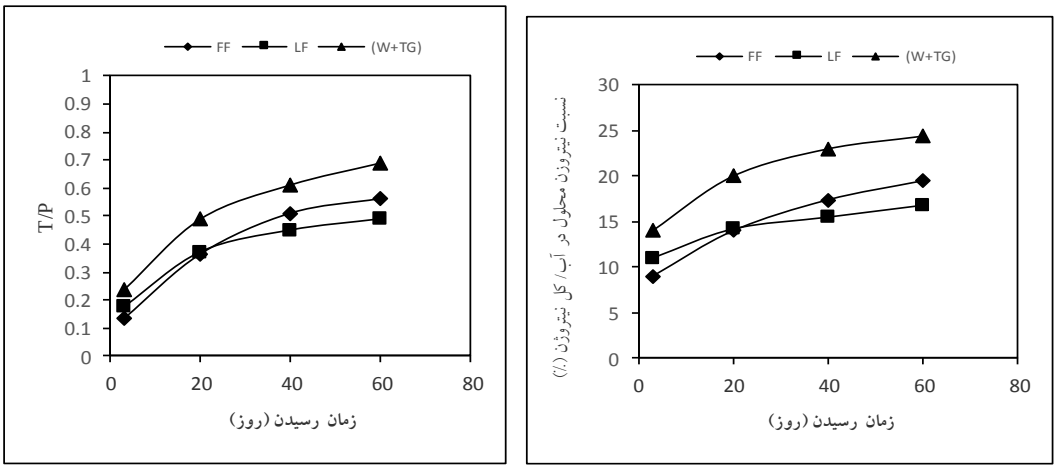
-ارزیابی پروتئولیز

تغییرات شاخص‌های پروتئولیز تیمارهای مختلف پنیر سفید ایرانی طی یک دوره رسیدن ۶۰ روزه در شکل ۱ به تصویر کشیده شده است. نگاهی به نمودار تغییرات این شاخص‌ها نشان می‌دهد که با افزایش زمان رسیدن، شدت پروتئولیز نمونه‌های مختلف پنیر سفید ایرانی افزایش یافته است (p<۰/۰۵). با این حال، از روز بیستم به بعد، نرخ افزایش پروتئولیز در تمامی نمونه‌ها کاهش پیدا کرد که در این بین، بیشترین سرعت کاهش مربوط به نمونه شاهد کم‌چرب بود. کاهش شدید نرخ پروتئولیز برای نمونه شاهد کم‌چرب باعث از دست رفتن برتری اولیه این نمونه از لحاظ میزان پروتئولیز بر نمونه شاهد پرچرب شد.

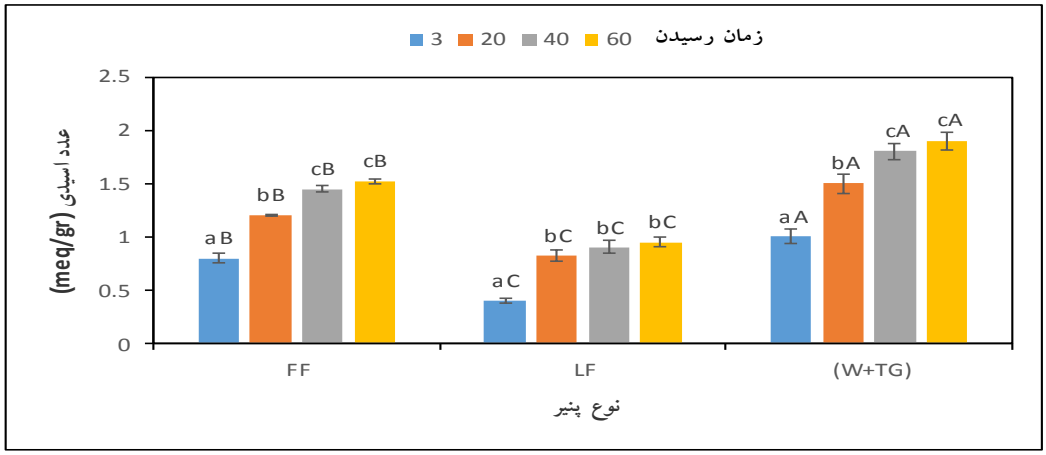
-ارزیابی لیپولیز

-اندیس اسیدی

تغییرات اندیس لیپولیز تیمارهای مختلف پنیر طی دوره رسیدن، در شکل ۲ قابل مشاهده می‌باشد. بر پایه این نتایج، به موازت افزایش زمان رسیدن اندیس لیپولیز تمامی نمونه‌ها افزایش پیدا کرده است که البته نرخ این افزایش با گذشت زمان در تمامی نمونه‌ها کاهش پیدا کرد به گونه‌ای که کاهش اندیس لیپولیز در نمونه شاهد کم‌چرب تنها در ۲۰ روز نخست دوره رسیدن معنی‌دار بود (p<۰/۰۵)، اما در نمونه شاهد پرچرب و نمونه کم‌چرب بهینه تا روز ۴۰ام رسیدن معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). همچنین نتایج نشان داد که اندیس لیپولیز نمونه کم‌چرب بهینه در تمامی مقاطع دوره رسیدن به گونه‌ای معنی‌داری (p<۰/۰۵). بیشتر از نمونه شاهد پرچرب و شاهد کم‌چرب می‌باشد و در بین این دو نمونه نیز برتری از آن نمونه شاهد پرچرب بود.



شکل ۱- تغییرات شاخص‌های پروتئولیز نمونه‌های مختلف پنیر سفید آب‌نمکی طی دوره رسیدن.



شکل ۲- تغییرات شاخص لیپولیز نمونه‌های مختلف پنیر سفید آب‌نمکی طی دوره رسیدن.

حروف بزرگ انگلیسی متفاوت، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در مقطع یکسانی از دوره رسیدن در سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ می‌باشد. حروف کوچک انگلیسی متفاوت، نشان‌دهنده تغییرات معنی‌دار هر تیمار طی دوره رسیدن در سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ می‌باشد.

- پروفایل اسیدهای چرب

یافته‌های حاصل از بررسی تغییرات پروفایل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (C4-C10) و اسیدهای چرب متوسط و بلند زنجیر (C12-C18) در شکل ۳ نشان داده شده است. یافته‌های این بررسی حکایت از آن داشتند که با افزایش زمان رسیدن میزان تولید هر دو گروه اسیدهای چرب افزایش می‌یابد که از نقطه نظر آماری افزایش ایجاد شده در اسیدهای چرب متوسط و بلند زنجیر در تمام مقاطع رسیدن معنی‌دار بود (p<۰/۰۵) اما افزایش اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تنها در ۲۰ روز اول دوره رسیدن معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). به مانند سایر پارامترهای پیشین، نرخ افزایش هر دو گروه اسیدهای چرب به مرور زمان کاهش یافت. البته همانطور که در شکل ۳ می‌توان دید، میزان کاهش سرعت تولید اسیدهای چرب متوسط و بلند زنجیر به مراتب کمتر از میزان کاهش سرعت تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بوده است. نتایج همچنین نشان داد که در تمامی مقاطع دوره رسیدن، کمترین میزان تولید اسیدهای چرب در نمونه شاهد کم‌چرب و بیشترین میزان تولید آنها در نمونه بهینه کم‌چرب بود (p<۰/۰۵).

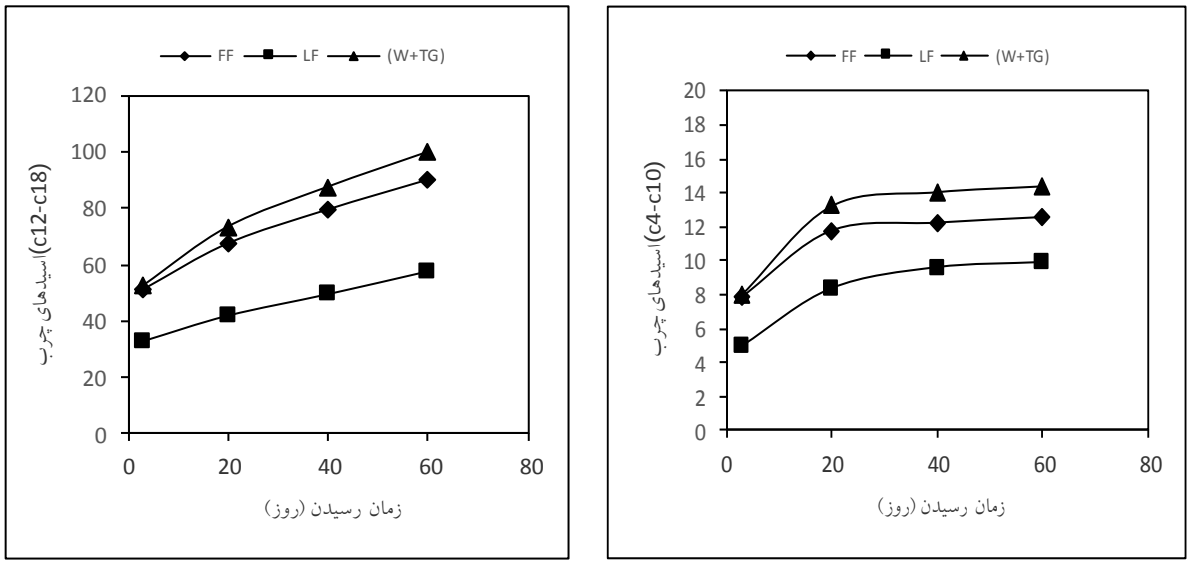
- ویژگی‌های ارگانولپتیکی

بر اساس نتایج بدست آمده از ارزیابی حسی تیمارهای مختلف پنیر در طی یک دوره رسیدن ۶۰ روزه (جدول ۲)، زمان رسیدن از تاثیر معنی‌داری (p<۰/۰۵) بر مقبولیت رنگ و ظاهر پنیر سفید ایرانی برخوردار نبود، این در حالی بود که بافت پنیرهای رسیده کمتر و طعم آنها بیشتر مورد پسند مصرف‌کنندگان واقع شد. البته کاهش مطلوبیت بافت و بهبود مطلوبیت طعم در نمونه شاهد کم‌چرب با شدت بیشتری نسبت به دو نمونه دیگر رخ داد. نمونه بهینه کم-چرب علی‌رغم عدم تفاوت محسوس با نمونه شاهد پرچرب از نقطه نظر مطلوبیت بافت، به دلیل کسب امتیاز عطر و طعم و رنگ و ظاهر کمتر، در نهایت نمره پذیرش کلی به مراتب کمتری نسبت به این نمونه دریافت کرد.

بحث

- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

یافته‌های این پژوهش حکایت از کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۵) رطوبت نمونه‌های مختلف پنیر سفید ایرانی طی دوره رسیدن داشت. گفته می‌شود که در پنیرهای آب‌نمکی،



الف ب

شکل ۳- تغییرات میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (الف) و اسیدهای چرب متوسط و بلند زنجیر(ب) نمونه‌های مختلف پنیر سفید آب‌نمکی در طی دوره رسیدن.

جدول ۲- تغییرات ویژگی‌های ارگانولپتیکی انواع نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدن

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی	نوع پنیر	زمان رسیدن (روز)			
		۳	۲۰	٤۰	٦۰
رنگ و ظاهر (۱-۱۰)	(W+TG)	۵/۹±۰/۵^{aB}	۵/۷±۰/۵^{aB}	۵/۶±۰/ ۶^{aB}	۵/۷±۰/۵^{aB}
	FF	۷/۶±۰/۶^{aA}	۷/۵±۰/۵^{aA}	۷/۳±۰/ ۵^{aA}	۷/۲±۰/۶^{aA}
	LF	۴/۵±۰/ ۵^{aC}	۴/۴±۰/۴^{aC}	۴/۲±۰/۴^{aC}	۴/۱±۰/۵^{aC}
عطر و طعم (۱-۱۰)	(W+TG)	۵/۲±۰/۵^{aB}	۶/۵±۰/۴^{bB}	۷/۵±۰/۵^{cB}	۷/۶±۰/ ۴^{cB}
	FF	۶/۹±۰/ ۶^{aA}	۷/۵±۰/ ۵^{bA}	۸/۸±۰/ ۶^{cA}	۸/۹±۰/ ۶^{cA}
	LF	۴/۹±۰/ ۵^{aB}	۵/۶±۰/۵^{bC}	۵/۷±۰/ ۴^{bC}	۵/۶±۰/ ۴^{bC}
بافت و قوام (۱-۱۰)	(W+TG)	۶/۸±۰/۶^{aA}	۶/۱±۰/ ۵^{bA}	۵/۸±۰/۴^{bB}	۵/۸±۰/ ۶^{bB}
	FF	۷/۱±۰/۶^{aA}	۶/۴±۰/ ۵^{bA}	۶/۴±۰/۶^{bA}	۶/۶±۰/ ۷^{bA}
	LF	۴/۳±۰/۵^{aB}	۳/۸±۰/ ۴^{bB}	۳/۲±۰/ ۴^{cC}	۳/۰±۰/ ۴^{bC}
امتیاز کلی (۱-۱۰۰)	(W+TG)	۵۹/۱±۵^{aB}	۶۱/۶±۴^{aB}	۶۶/۳±۴^{bB}	۶۶/۹± ۵^{bB}
	FF	۷۰/۵±۴^{aA}	۷۱/۶±۵^{aA}	۷۶/۹±۶^{bA}	۷۸/۱±۷^{bA}
	LF	۴۶/۲±۳^{aC}	۴۷/۶±۳^{aC}	۴۵/۵±۴^{aC}	۴۴/۱±۴^{aC}

W+TG نمونه کم‌چرب تیمارشده با ترانس‌گلوتامیناز و تلفیق‌شده با پروتئین‌های آب‌پنیر، FF نمونه شاهد پرچرب و LF نمونه شاهد کم‌چرب می‌باشند.
حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ می‌باشد
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ می‌باشد

فشار اسمزی ایجادشده در اثر قرارگرفتن لخته پنیر در محلول آب‌نمک، سبب انتشار نمک به ماتریس پنیر و خروج آب آن به محلول آب‌نمک می‌شود (Zerfiridis, 2001). در تطابق با یافته‌های این پژوهش، Aminifar و همکاران (۲۰۱۴) طی بررسی تغییرات ویژگی‌های مختلف پنیر لیقوان طی یک دوره زمانی سه ماهه مشاهده کردند که میزان آب‌اندازی این پنیر تنها در ماه نخست دوره رسیدن معنی‌دار بود. این پژوهشگران، تعادل میان خروج آب –ناشی از فشار اسمزی– و جذب آب به وسیله گروه‌های آمین حاصل از پروتئولیز پروتئین‌های پنیر را به عنوان فرضیه‌ای برای توضیح عدم تغییر معنی‌دار میزان آب‌اندازی در دو ماه آخر دوره رسیدن ارائه کردند. در پژوهش جاری، به نظر می‌رسد که تعادل یاد شده، در نمونه شاهد کم‌چرب نسبت به دو نمونه دیگر دیرتر حاصل شده است. بر اساس فرضیه ارائه شده بوسیله Aminifar و همکاران (۲۰۱۴)، شاید بتوان علت این پدیده را به پروتئولیز کندتر این نمونه نسبت داد. چربی و آب هر دو نقش پر کننده یا فیلر را در ماتریس پنیر بازی می‌کنند؛ از آنجائیکه در پنیرهای کم‌چرب، چربی کاهش یافته با حجم برابری از آب جایگزین نمی‌شود حجم کلی پرکننده کاهش یافته و بدین‌ترتیب ساختار پنیر فشرده‌تر می‌شود. پیوندهای بیشتر و یا مستحکم‌تر بین‌پروتئینی در ماتریس پنیرهای کم‌چرب و همچنین نسبت رطوبت به پروتئین پایین‌تر این نمونه‌ها، فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک را با دشواری‌هایی روبرو کرده و در نتیجه باعث کاهش سرعت پروتئولیز در این پنیرها می‌شوند (Rudan *et al.*, 1992). این در حالیست که در نمونه شاهد پرچرب، به دلیل ساختار بازتر و همچنین نسبت رطوبت به پروتئین بالاتر، دسترسی آنزیم‌های پروتئولیتیک به سوبسترای پروتئینی تسهیل شده و بدین‌ترتیب، تولید اسیدآمینه‌های جاذب رطوبت تقویت شده و به دنبال آن سینرزیس کمتری در این نمونه‌ها رخ داده است. اما در ارتباط با نمونه بهینه کم‌چرب، گمان می‌رود که تیمار آنزیمی شیر کم‌چرب همراه با تلفیق پروتئین‌های آب‌پنیر به فرمولاسیون آن، علاوه بر اینکه بطور مستقیم و از طریق ایجاد شبکه‌ای پروتئینی با قابلیت حفظ رطوبت بیشتر، باعث کاهش آب‌اندازی پنیر طی

مرحله برش‌زنی و دوره رسیدن می‌شود (Sayadi *et al.*, 2013)، به گونه‌ای غیر مستقیم و از طریق تسهیل فعالیت‌های پروتئولیتیک –به دنبال افزایش نسبت رطوبت به پروتئین– نیز باعث کاهش سینرزیس و حفظ رطوبت بیشتر در پنیر می‌شود. در ارتباط با تغییرات پارامتر نسبت ازت کل به ماده خشک، Rahimi و همکاران (۲۰۰۷) نیز در یافته‌هایی مشابه، کاهش ازت کل پنیر سفید ایرانی طی مرحله رسیدن را گزارش کردند و آن را به عنوان پیامدی از خروج اجزای حاصل از پروتئولیز پروتئینهای شیر به محلول آب‌نمک قلمداد کردند. بر اساس این فرضیه، کاهش معنی-دار میزان ازت کل به ماده خشک نمونه شاهد پرچرب و نمونه بهینه کم‌چرب در مقطع زمانی طولانی‌تری نسبت به نمونه شاهد کم‌چرب را می‌توان به پروتئولیز بیشتر این نمونه‌ها نسبت داد. به علاوه، باید توجه داشت که کاهش نیتروژن پنیر لزوما به معنای ورود آنها به محلول آب‌نمک نمی‌باشد؛ تبدیل ترکیبات نیتروژنی حاصل از پرتئولیز به ترکیبات فرار عطر و طعم و خروج آنها از ماتریس پینر هم از فرضیه‌های محتمل در این ارتباط است. بخش دیگری از یافته‌های این پژوهش حاکی از افزایش میزان چربی نمونه-های مختلف پنیر به موازات افزایش زمان رسیدن بود. چنین روندی در سایر پژوهش‌های مشابه نیز گزارش شده است (Aminifar *et al.*, 2014; Madadlou *et al.*, 2007). اگرچه به دلیل فرآیند لیپولیز و تبدیل بخشی از چربی به ترکیبات فرّار، باید انتظار کاهش چربی را طی دوره رسیدن داشت ولی کاهش رطوبت و افزایش ماده خشک طی دوره رسیدن، میزان چربی –به عنوان یک از اجزای اصلی تشکیل‌دهنده ماده خشک پنیر– را به گونه‌ای افزایش می‌دهد که کاهش چربی حاصل از لیپولیز به چشم نمی‌آید. همبستگی منفی رطوبت و چربی تیمارهای مختلف را می‌توان شاهدی بر این مدعا گرفت. عدم افزایش معنی‌دار چربی پس از روز چهلم برای نمونه کم‌چرب شاهد و پس از روز بیستم برای دو نمونه دیگر را نیز می‌توان به تعادل ایجاد شده بین کاهش چربی در اثر لیپولیز و افزایش آن در اثر سینرزیس مرتبط دانست. برخلاف این پارامترها، تفسیر روند کاهشی مشاهده شده برای pH نمونه‌های مختلف پنیر سفید ایرانی کمی دشوار است چرا که ترکیبات مختلفی که در نتیجه فرآیند لیپولیز و پروتئولیز تولید می‌شوند می‌توانند در افزایش یا کاهش این پارامتر نقش‌آفرین باشند. به علاوه، تخمیر لاکتوز پنیر و تولید اسید لاکتیک نیز می‌تواند در کاهش pH تاثیرگذار باشد. پژوهشگران دیگری نیز کاهش pH پنیر سفید ایرانی طی دوره رسیدن را گزارش کرده‌اند (Rahimi *et al.*, 2007; Khosroshahi *et al.*, 2006).

– پروتئولیز

همانطور که در بخش یافته‌های این پژوهش گزارش شد، با افزایش زمان رسیدن، نرخ افزایش شاخص‌های پروتئولیز نمونه‌های مختلف پنیر سفید ایرانی، به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش پیدا کرد. احتمالا علت این پدیده را باید در پیامدهای حاصل از انتقال جرم صورت گرفته طی دوره رسیدن که عبارت از خروج آبِ پنیر به محلول آب‌نمک و ورود نمک به ماتریس پنیر می‌باشد، جستجو کرد. کاهش نسبت رطوبت به پروتئین در نتیجه سینرزیس پنیر و همچنین افزایش غلظت نمک پنیر، هر دو از عواملی هستند که می‌توانند دایره فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک را محدود کرده و از این رو باعث کاهش پروتئولیز شوند. یکی از یافته‌های پژوهش، نرخ پایین‌تر پروتئولیز نمونه شاهد کم‌چرب نسبت به دو نمونه دیگر بود. در تضاد با این یافته‌ها، Romieh و همکاران (۲۰۰۲) نرخ بالاتر پروتئولیز نمونه شاهد کم‌چرب نسبت به نمونه شاهد پرچرب را گزارش کردند و در توضیح مشاهدات خود اینگونه عنوان داشتند که در پنیرهای کم‌چرب به دلیل رطوبت بالاتر، میزان کیموزین باقیمانده در ماتریس پنیر نیز بیشتر و به دنبال آن، نرخ پروتئولیز بالاتر خواهد بود. در این پژوهش نیز مشاهده شد که در روزهای نخستین دوره رسیدن میزان پروتئولیز نمونه شاهد کم‌چرب بیشتر از شاهد پرچرب بود ولی در ادامه دوره رسیدن، نمونه شاهد پرچرب گوی سبقت را در میزان پروتئولیز از همتای کم‌چرب خود ربود. در این ارتباط، Rudan و همکاران (۱۹۹۹) عنوان داشتند که اگرچه کیموزین موجود در ماتریس پنیر مسئول اصلی پروتئولیز اولیه پنیر طی دوره رسیدن می‌باشد ولی تاثیرگذارترین عامل در میزان پروتئولیز پنیرهای رسیده نسبت رطوبت به پروتئین می‌باشد. نمونه‌های کم‌چرب با وجود میزان رطوبت بالاتر، میزان رطوبت به ازای واحد پروتئینی کمتری دارند این درحالی است که نمونه پرچرب با وجود میزان رطوبت پایین‌تر، نسبت رطوبت به پروتئین

(مقدار رطوبت به ازای واحد پروتئین) بالاتری دارد که در نتیجه آن میزان دسترسی آنزیم به سوبسترای پروتئینی بیشتر شده و پروتئولیز تسهیل می‌شود. بر اساس فرضیه نسبت رطوبت به پروتئین و با توجه با برتری بی چون و چرای نمونه بهینه کم‌چرب بر دو نمونه دیگر از این نقطه نظر، بالاتر بودن سرعت پروتئولیز آن نیز کاملا بدیهی به نظر می‌رسد. اما فرضیه دیگری در ارتباط با پنیرهای تیمارشده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز وجود دارد که ممکن است در صحت این بخش از یافته‌های پژوهش تردید ایجاد کند. بر اساس این فرضیه، آنزیم ترانس‌گلوتامنیاز ممکن است در طول دوره رسیدن نیز به فعالیت خود در ارتباط با تسهیل زمینه برقراری پیوندهای بین پروتئینی در ماتریس پنیر ادامه داده و بدین‌ترتیب با ایجاد یک ماتریس پروتئینی فشرده‌تر، فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک را با دشواری‌های مواجه کرده و باعث کاهش پروتئولیز شود (Özer *et al.*, 2013). در اینجا ذکر این نکته ضروری است که در پنیرهای تولیدی به شیوه سنتی، طی مرحله برش‌زنی، بخش عمده‌ای از ترانس‌گلوتامیناز به آب‌پنیر راه می‌یابد و میزان باقیمانده در ماتریس پنیر نیز احتمالا در حدی نیست که باعث تاثیر چشمگیری بر فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک شود.

- لیپولیز

لیپولیز به عنوان فرآیندی که طی آن چربی‌ها به اسیدهای چرب و گلیسرول تجزیه می‌شوند نقش مهمی در توسعه عطر و طعم پنیر ایفا می‌کند. آنزیم لیپاز طبیعی شیر، لیپاز تولیدی بوسیله فلور میکروبی (میکروب‌های آغازگر و یا سرمادوست) پنیر و همچنین برخی از انواع رنت، همگی از عوامل نقش‌آفرین در فرآیند لیپولیز پنیر می‌باشند (Georgala *et al.*, 2005). در پنیرهای تهیه شده از شیر پاستوریزه، به دلیل نابودی حرارتی بخش اعظمی از لیپاز طبیعی شیر، فلور میکروبی پنیر به عنوان عامل اصلی فرآیند لیپولیز به شمار می‌آید (کرمی و همکاران، ۱۳۸۸). افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) میزان لیپولیز به موازات افزایش زمان رسیدن- که در این پژوهش مشاهده شد- توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (Sabbagh *et al.*, 2010; Park, 2001). اما در ارتباط با تفسیر کاهش سرعت لیپولیز طی دوره رسیدن، همانطور که در مورد پروتئولیز نیز اشاره شد، کاهش میزان رطوبت در بافت پنیر از یک سو و افزایش غلظت نمک پنیر از سوی دیگر، می‌توانند به عنوان موانع اصلی موجود در مسیر سرعت گرفتن لیپولیز قلمداد شوند. بر اساس این عوامل، لیپولیز کمتر نمونه شاهد کم-چرب نسبت به همتای پرچرب آن کاملا بدیهی به نظر می‌رسد. این مشاهدات پیشتر در مورد پنیرهای چدار (Dulley & Grieve, 1974)، سفید آب‌نمکی (Romeih *et al.*, 2002) و فتا (Katsiari & Voutsinas., 1994; Katsiari *et al.*, 2002) نیز گزارش شده است. اما در ارتباط با افزایش چشمگیر میزان لیپولیز پنیر کم‌چرب در نتیجه تلفیق پروتئین‌های آب‌پنیر به همراه تیمار آنزیمی شیر آن (نمونه بهینه)، می‌توان علت آن را به ارتقای میزان رطوبت در بافت این نمونه و در پی آن، تسهیل فعالیت لیپازهای میکروبی آن نسبت داد علاوه بر این، اصلاح ساختار پنیر در نتیجه افزایش نسبت رطوبت به پروتئین را می‌توان دلیل دیگری برای افزایش لیپولیز در این نمونه دانست (Romeih *et al.*, 2002). به طور مشابه، Romeih و همکاران (۲۰۰۲) مشاهده کردند که شاخص لیپولیز در پنیر کم‌چرب حاوی جایگزین چربی که میزان رطوبت به ماده خشک آن به مراتب بیشتر از سایر نمونه‌ها بود، حتی از نمونه شاهد پرچرب هم بالاتر بود.

تغییرات میزان اسیدهای چرب نمونه‌های مختلف پنیر سفید ایرانی تقریبا از الگویی مشابه با تغییرات عدد اسیدی آنها پیروی کرد. علت تغییرات اسیدهای چرب را نیز می‌توان با همان تفسیرهای ارائه شده برای عدد اسیدی توضیح داد. تنها نکته قابل توجه در این زمینه، نرخ بالاتر کاهش سرعت تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نسبت به انواع متوسط و بلندزنجیر بود به گونه‌ای که از روز بیستم به بعد، تغییر چشمگیری در میزان تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر دیده نشد. پژوهشگران بر این باورند که اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تمایل بیشتری به شرکت در واکنش‌های تولید ترکیبات عطر و طعم دارند (Collins *et al.*, 2003). در تطابق با این یافته‌ها، پیشتر کرمی و همکاران (۱۳۸۸) نیز کاهش معنی‌دار میزان تولید این دسته از اسیدهای چرب در پنیر فتای ایرانی را مشاهده کردند و علت آن را به مشارکت آنها در واکنش‌های تولید ترکیبات فرار عامل عطر و طعم نسبت دادند.

-ویژگی‌های ارگانولپتیک

همانطور که انتظار می‌رفت کاهش میزان چربی به طور قابل توجهی، بافت، ظاهر، طعم و پذیرش کلی پنیر سفید ایرانی را تحت تاثیر قرار داد (p<۰/۰۵). در این میان، پنیر کم‌چرب کمترین امتیازها را در تمامی مقاطع رسیدن و از دید تمامی صفت‌ها کسب کرد که در تطابق با نتایج سایر پژوهش‌ها در زمینه تولید پنیر کم‌چرب بود (Zalazar *et al.*, 2002; Romeih *et al.*, 2002). تیمار ترانس‌گلوتامیناز پنیر کم‌چرب همراه با تلفیق پروتئین آب‌پنیر به فرمولاسیون آن (نمونه بهینه) باعث افزایش میزان پذیرش ویژگی‌های حسی این پنیر در بین پانلیست‌ها شد. همانطور که مشاهده شد، طعم نمونه کم‌چرب بهینه در ابتدای دوره رسیدن تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد کم-چرب نداشت ولی به موازات افزایش زمان رسیدن، میزان مقبولیت طعم آن به میزان چشمگیری بهبود یافت که احتمالا به دلیل ارتقای میزان تولید ترکیبات عامل عطر و طعم در نتیجه تشدید فرآیند لیپولیز می‌باشد (Romeih *et al.*, 2002). برعکس طعم، مقبولیت بافت نمونه‌های مختلف طی دوره رسیدن کاهش یافت که علت آن را می-توان به سفت‌شدن بافت پنیر در نتیجه سینرزیس آن طی دوره رسیدن نسبت داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار آنزیمی ترانس-گلوتامیناز به همراه افزودن پروتئین‌های آب‌پنیر، با کاهش آب‌اندازی پنیر کم‌چرب طی مرحله برش‌زنی و دوره رسیدن، سبب ارتقای شاخص‌های پروتئولیز و لیپولیز در این پنیر می‌شود. در نتیجه تشدید واکنش‌های لیپولیز و پروتئولیز، ویژگی‌های ارگانولپتیکی پنیر کم‌چرب به گونه محسوسی بهبود پیدا کرد ولی با این حال، همچنان نسبت به همتای پرچرب خود با استقبال کمتری از طرف مصرف‌کنندگان واقع شد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به شماره ۹۴۱/۵۹ است و نویسندگان مقاله بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بابت حمایت مالی و معنوی تشکر می‌نمایند. همچنین نویسندگان این مقاله برخود لازم می‌دانند از شرکت شیر پاستوریزه پگاه خوزستان به‌ویژه جناب آقای دکتر منصور شاکریان و جناب آقای مهندس پیمان فرهنگ به دلیل حمایت‌های بی‌دریغ و انجام هماهنگی‌های لازم جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

دانش، ع.، جوینده، ح. و گودرزی، م. (۱۳۹۵). تأثیر تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز و ایزوله پروتئین آب‌پنیر برویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و ارگانولپتیکی پنیر سفید آب‌نمکی کم‌چرب. فصلنامه علمی پژوهشی علوم و صنایع غذایی ایران، [در دست چاپ].

کرمی، م.، احسانی، م.ر.، موسوی، م. ع.، رضایی، ک. ا. و صفری، م. (۱۳۸۸). تاثیر مدت زمان رسیدن بر پروفیل اسیدهای چرب، ریزساختار و خواص حسی پنیر UF فتا. مجله مهندسی بیوسیستم ایران، سال یکم، شماره ۴۰، صفحات ۱۱۰-۱۰۱.

Aminifar, M. & Emam-Djomeh, Z. (2014). Changes of texture, microstructure and free fatty acid contents of Lighvan cheese during accelerated ripening with lipase. Journal of Agricultural Science and Technology, 16(1), 113-123.

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, USA.

Banks, J. M. (2004). The technology of low-fat cheese manufacture. International Journal of Dairy Technology, 57(4), 199-207.

Broadbent, J. R., McMahon, D. J., Oberg, C. J. & Welker, D. L. (2001). Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. International Dairy Journal, 11(4), 433-439.

Collins, Y. F., McSweeney, P. L. & Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. International Dairy Journal, 13(11), 841-866.

Costa, N. E., Hannon, J. A., Guinee, T. P., Auty, M. A. E., McSweeney, P. L. H. & Beresford, T. P. (2010). Effect of exopolysaccharide produced by isogenic strains of Lactococcus lactis on half-fat

Cheddar cheese. Journal of Dairy Science, 93(8), 3469-3486.

Dulley, J. R. & Grieve, P. A. (1974). Volatile fatty acid production in Cheddar cheese. Australian Journal of Dairy Technology, 29(3), 120.

Garcia-Lopez, S., Echeverria, E., Tsui, I. & Balch, B. (1994). Changes in the content of conjugated linoleic acid (CLA) in processed cheese during processing. Food Research International, 27(1), 61-64.

Georgala, A., Moschopoulou, E., Aktypis, A., Massouras, T., Zoidou, E., Kandarakis, I. & Anifantakis, E. (2005). Evolution of lipolysis during the ripening of traditional Feta cheese. Food Chemistry, 93(1), 73-80.

Katsiari, M. C. & Voutsinas, L. P. (1994). Manufacture of low-fat Feta cheese. Food Chemistry, 49(1), 53-60.

Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P., Kondyli, E. & Alichanidis, E. (2002). Flavour enhancement of low-fat Feta-type cheese using a commercial adjunct culture. Food Chemistry, 79(2), 193-198.

Khosrowshahi, A., Madadlou, A., zadeh Mousavi, M. E. & Emam-Djomeh, Z. (2006). Monitoring the chemical and textural changes during ripening of Iranian White cheese made with different concentrations of starter. Journal of Dairy Science, 89(9), 3318-3325.

Kondyli, E., Massouras, T., Katsiari, M. C. & Voutsinas, L. P. (2003a). Lipolysis and volatile compounds in low-fat Kefalograviera-type cheese made with commercial special starter cultures. Food Chemistry, 82(2), 203-209.

Kondyli, E., Massouras, T., Katsiari, M. C. & Voutsinas, L. P. (2003b). Free fatty acids and volatile compounds in low-fat Kefalograviera-type cheese made with commercial adjunct cultures. International Dairy Journal, 13(1), 47-54.

Kuchroo, C. N. & Fox, P. F. (1982). Soluble nitrogen in cheddar cheese: comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 37, 331-335.

Madadlou, A., Mousavi, M. E. & Farmani, J. (2007). The influence of brine concentration on chemical composition and texture of Iranian white cheese. Journal of Food Engineering, 81(2), 330-335.

Marshal, R.T. (1992). Standard methods for the examination of dairy products. pp: 271-272.

Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A. & Pelka, J. R. (1966). Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry, 38(3), 514-515.

Mleko, S., Gustaw, W., Glibowski, P. & Pielecki, J. (2004). Stress relaxation study of UF-milk cheese with transglutaminase. Egyptian Journal of Dairy Science, 32, 237-244.

Özer, B., Hayaloglu, A. A., Yaman, H., Gürsoy, A. & Şener, L. (2013). Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production. International Dairy Journal, 33(2), 129-134.

Park, Y. W. (2001). Proteolysis and lipolysis of goat milk cheese. Journal of Dairy Science, 84, E84-E92.

Rahimi, J., Khosrowshahi, A., Madadlou, A. & Aziznia, S. (2007). Texture of low-fat Iranian white cheese as influenced by gum tragacanth as a fat replacer. Journal of dairy science, 90(9), 4058-4070.

Ritvanen, T., Lampolahti, S., Lilleberg, L., Tupasela, T., Isoniemi, M., Appelbye, U. & Uusi-Rauva, E. (2005). Sensory evaluation, chemical composition and consumer acceptance of full fat and reduced fat cheeses in the Finnish market. Food Quality and Preference, 16(6), 479-492.

Romeih, E. A., Michaelidou, A., Biliaderis, C. G. & Zerfiridis, G. K. (2002). Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes. International Dairy Journal, 12(6), 525-540.

Rudan, M. A., Barbano, D. M., Yun, J. J. & Kindstedt, P. S. (1999). Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality, and yield of Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, 82(4), 661-672.

Sabbagh, N., Gheisari, H. R. & Aminlari, M. (2010). Monitoring the chemical and microbiological changes during ripening of Iranian probiotic low-fat white cheese. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 5(4), 249-257.

Sahan, N., Yasar, K., Hayaloglu, A. A., Karaca, O. B. & Kaya, A. (2008). Influence of fat replacers on chemical composition, proteolysis, texture profiles, meltability and sensory properties of low-fat Kashar cheese. Journal of Dairy Research, 75(01), 1-7.

Sayadi, A., Madadlou, A. & Khosrowshahi, A. (2013). Enzymatic cross-linking of whey

proteins in low fat Iranian white cheese. International Dairy Journal, 29(2), 88-92.

Sousa, M. J., Ardö, Y. & McSweeney, P. L. H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. International Dairy Journal, 11(4), 327-345.

Urbach, G. (1997). The flavour of milk and dairy products: II. Cheese: contribution of volatile compounds. International Journal of Dairy Technology, 50(3), 79-89.

Zalazar, C. A., Zalazar, C. S., Bernal, S., Bertola, N., Bevilacqua, A. & Zaritzky, N. (2002). Effect of moisture level and fat replacer on physicochemical, rheological and sensory properties of low fat soft cheeses. International Dairy Journal, 12 (1), 45-50.

Zerfiridis, G. K. (2001) Soft cheeses. In: G. K. Zerfiridis (Ed.), Technology of dairy products, I: Cheese-making. Thessaloniki, Greece: Giaxoudi-Giapouli. (pp. 155–198).