تاثیر تعداد باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری بر پروتئولیز و ویژگی های حسی پنیر سفید فرا پالایشی

جواد حصاری[۱]، محمد رضا احسانی[۲]، اصغر خسروشاهی اصل[۳] ، ناصر قائمی[٤]

تاریخ دریافت: ۸۴/۶/۱

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تاثیر تعداد باکتریهای سرماگرا و یاخته های پیکری بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر سفید فراپالایشی بود. برای اینکار شیر حاوی تعداد متفاوت باکتریهای سرماگرا ($۱۰^۶ \times ۱$، $۱۰^۶ \times ۵$ و $۱۰^۶ \times ۱۰$ cfu/ml) و یاخته های پیکری پایین ($۱۰^۵ \times ۲$>) انتخاب گردیده و نمونه پنیر سفید فراپالایشی[۵] از آنها تهیه گردید. در کاری دیگر، از شیر حاوی تعداد متفاوت یاخته پیکری ($۱۰^۵ \times ۲$، $۱۰^۵ \times ۴$ و $۱۰^۵ \times ۶$ /ml) و تعداد باکتری سرماگرای پایین($۱۰^۶ \times ۱$>)نمونه های پنیر سفید تهیه شدند و تاثیر تعداد باکتریهای سرماگرا و یاخته های پیکری شیر خام بر روی پروتئولیز و ویژگی های حسی شامل بافت و طعم پنیر سفید فراپالایشی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش سطح باکتریهای سرماگرای شیر ، ازت محلول در pH=۴/۶ و ازت غیر پروتئینی (نا محلول در ۱۲٪ تری کلرو استیک اسید) پنیر افزایش می یابد. اگرچه ازدیاد تعداد یاخته های پیکری تاثیر ملایمی بر افزایش ازت محلول در pH =۴/۶ داشت ولی بر ازت غیر پروتئینی که مبین پروتئولیز ثانویه است موثر نبود. هیچ کدام از تیمارهای مذکور تاثیر معنی داری بر بافت پنیر نداشتند ولی نمونه های پنیر تهیه شده از شیر با تعداد بالای باکتریهای سرماگرا از امتیاز طعم پایین تری برخوردار بودند ($P<$ ۰/۰۵).

واژه های کلیدی: باکترهای سرماگرا، یاخته های پیکری، پنیر سفید، فراپالایش

مقدمه

از سال ۱۹۵۹ با توسعه تجهیزات سرمایشی ، سرد کردن شیر به عنوان روشی کارآمد برای مهار فعالیت باکتری های مولد اسید و به طور کلی ممانعت از ازدیاد بار میکروبی شیر معرفی گردید و امروزه در سطح وسیعی در مراکز تولید و جمع آوری شیر خام مورد استفاده قرار می گیرد. با وجود این نگهداری شیر خام در دمای پایین عوارض جدیدی را در پی دارد که به فعالیت باکتری های سرماگرا[۶] مربوط می شود. در صنایع شیر اصطلاح باکتری های سرماگرا به تمامی باکتری هایی که در دمای ۷°C-۲ صرف نظر از دمای بهینه رشد، قادر به فعالیت هستند اطلاق می‌گردد (۱۹). این باکتری ها فلور غالب شیرخام نگهداری شده در دماهای پایین را تشکیل می‌دهند و عمدتاً به گونه‌های *سودوموناس، آکروموباکتر، آلکالیژنس* و *فلاوباکتریوم* تعلق دارند (۱۱).

---

۱ - عضو هیأت علمی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، پست الکترونیکی: j_hesari@yahoo.com

۲ - عضو هیأت علمی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

۳ - عضو هیأت علمی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

٤ - عضو هیأت علمی گروه بیو شیمی دانشکده علوم دانشگاه تهران

5- Ultrafiltered (UF)

6- Psychrotrophic Bacteria

باکتری های سرماگرا عموماً مقاوم به حرارت نیستند و در جریان پاستوریزاسیون از بین می‌روند ولی آنزیم‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک آنها به شدت مقاوم به حرارت می‌باشند، بطوری که در حرارت‌های پاستوریزاسیون و حتی شرایط دمای فوق العاده بالا[1] فعالیت خود را حفظ می‌کنند (۱۹) و لذا در پروتئولیز پنیر مؤثر می‌باشند (۱۱).

فاکس[2] و همکاران (۱۹۸۱) گزارش نمودند که به علت دفع باکتری های سرماگرا در آب پنیر، تأثیر آنها در محصول نهایی خفیف می‌باشد (۱۱) با این حال در تهیه پنیر فرا پالایشی (یو اف[3]) به علت باقی ماندن باکتری ها و آنزیم‌ها در پنیر ممکن است که نقش باکتری های سرماگرا قابل توجه باشد.

اسوارت[4] و همکاران (۲۱) گزارش نمودند که تعداد باکتری های سرماگرا هیچ‌گونه تاثیری روی شار فراپالایش ندارد. احسانی و طبیبی آذر (۱) اذعان داشتند که میزان بازیافت ازت در فاز ماندگار[5] به ازای افزایش یک میلیون جمعیت باکتری های سرماگرا و هر روز نگهداری به ترتیب ۰/۰۳ و ۱/۷۴ در صد کاهش پیدا می‌کند و چنین نتیجه‌گیری کردند که افزایش جمعیت این باکتری ها با تشدید پروتئولیز باعث کاهش بازیافت ازت و نیز تشدید گرفتگی غشاء اولترافیلتراسیون می‌گردد. سانتوس[6] و همکاران در سال ۱۹۹۶ با بررسی روی فعالیت آنزیم های باکتری های سرماگرا در پنیر چنین گزارش نمودند که کلیه سوشهای سرماگرا در دمای ۷ °C دارای فعالیت پروتئولیتیک هستند(۱۹).

یاخته‌های پیکری به کلیهٔ سلولهایی که از بدن دام وارد شیر می‌شود اطلاق می‌گردند. بخش عمدهٔ این یاخته‌ها را گلبولهای سفید تشکیل می‌دهد. در حالت طبیعی تعداد یاخته‌های پیکری در شیرخام از ۲۰۰/۰۰۰ در هر میلی‌لیتر کمتر می‌باشد اما در شرایط ویژه مانند بیماری ورم پستان[7] تعداد آنها بالغ بر ۲۰۰/۰۰۰ الی ۴۰۰/۰۰۰ بوده و گاهی به بالای ۵۰۰/۰۰۰ تا ۱۵۰۰/۰۰۰ در هر میلی‌لیتر می‌رسد (۱۴).

مطابق تحقیقات بعمل آمده، افزایش تعداد سلولهای پیکری در شیر باعث تشدید فعالیت پروتئولیتیک آن می‌گردد. پولیتیس و وایهانگ[8] (۱۷) گزارش نمودند که افزایش تعداد یاخته‌های پیکری باعث کاهش بازده پنیرسازی و افزایش ضایعات ترکیبات ازته در آب پنیر می‌گردد. نتایج مشابهی به وسیله باربانو[9] و همکاران (۵) در پنیر چدار و کلی[10] و همکاران (۱۴) در پنیر کاتیج گزارش گردیده است. باربانو و همکاران (۴) گزارش نمودند که با افزایش تعداد یاخته های پیکری از ۲۰۰ هزار در میلی‌لیتر به ۱/۳۰۰/۰۰۰ میزان شار اولترافیلتراسیون به اندازهٔ $lit/m^2.h$ ۱/۳ کاهش می‌یابد. کلی و همکاران در سال ۱۹۹۸ گزارش نمودند که افزایش تعداد سلولهای پیکری موجب تشدید پروتئولیز در طی نگهداری پنیر کاتیج می‌گردد(۱۴). کانی[11] و همکاران در سال ۲۰۰۰ با بررسی اثر یاخته‌های پیکری

1- UHT
2- Fox
3- UF:Ultrafiltered
4 - Swart
5- Retentate
6- Santos
7- Mastitis
8- Politis and Kwai-Hang
9- Barbano
10- Klei
11- Cooney

بر پروتئولیز پنیر سوئیسی طی رسانیدن نتیجه گرفتند که با افزایش تعداد یاخته‌های مذکور، میزان ضایعات پروتئینی در آب پنیر افزایش می‌یابد و نیز این امر باعث افزایش نسبت ازت محلول در آب به ازت کل (شاخص رسیدن) طی رسیدن پنیر می‌گردد. این محققان افزایش فعالیت پلاسمین توسط یاخته‌های پیکری را مسئول اصلی تشدید پروتئولیز طی رسانیدن پنیر اعلام کردند(۸). از سوی دیگر خود یاخته‌های پیکری نیز دارای آنزیم‌های پروتئاز هستند و می‌توانند به طور مستقیم روی پروتئولیز مؤثر باشند (۵،۸،۱۴،۲۰).

در این تحقیق تاثیر سلولهای سوماتیک و باکتری های سرماگرا بر روی پروتئولیز و ویژگیهای حسی پنیر فتای فراپالایشی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

مواد

شیر مورد استفاده جهت انجام پروژه تحقیقاتی شیر فصل زمستان بوده و از شیر مصرفی برای تولید پنیر در کارخانه پگاه منطقه آذربایجان شرقی تهیه گردید. در ابتدا شیرهای مراکز مختلف جمع آوری و دامداری های صنعتی مورد بررسی قرار گرفتند و بعد جهت بررسی تاثیر یاخته های پیکری، شیرهای حاوی شمارش کل میکروبی[1] پایین ($<۱\times۱۰^{۶}$) و تعداد سلول های پیکری در محدوده مورد نظر انتخاب شدند. از سوی دیگر برای بررسی تاثیر باکتری های سرماگرا شیرهای خام با تعداد یاخته های پیکری پایین($<۲\times۱۰^{۵}$) و تعداد باکتری های مورد نظر انتخاب گردید.

مایه پنیر مورد استفاده برای تهیه پنیر از نوع قارچی و با نام تجارتی فورماز[2] بود (قدرت مایه پنیر ۱ g/۱۰۰ l). آغازگر مورد استفاده مخلوط گونه های ترموفیل yoghurt 709 و yoghurt 231 و گونه های مزوفیل G_3 mix 7 و G_3 mix 6 شرکت ویسبی[3] دانمارک بود که به نسبت ۷ به ۱ تهیه گردید. (باکتری های مزوفیل شامل *لاکتوکوکوس کرموریس*، *لاکتوکوکوس لاکتیس* و باکتری های ترموفیل *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* بود).

مواد شیمیایی مورد استفاده در این پروژه شامل اسید سولفوریک، اسید کلریدریک، الکل آمیلیک، نیترات نقره، هیدروکسید سدیم، اسید بوریک، اسید تری کلرو استیک اسید، متیلن بلو، گزیلن، اتانول و غیره از درجه خلوص آزمایشگاهی برخوردار بوده و با مارک مرک مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین چهارچوب طرح آزمایشی

در این پژوهش اثرات یاخته های پیکری در سه سطح:

$۲۰\times۱۰^{۴}<A_۱<۲۵\times۱۰^{۴}$

$۴۰\times۱۰^{۴}<A_۲<۴۵\times۱۰^{۴}$

$۶۰\times۱۰^{۴}<A_۳<۶۵\times۱۰^{۴}$ (یاخته در میلی لیتر)

و تاثیر باکتری های سرماگرا در سه سطح:

$۱۰\times۱۰^{۵}<B_۱<۱۵\times۱۰^{۵}$

$۵۰\times۱۰^{۵}<B_۲<۵۵\times۱۰^{۵}$

$۱۰۰\times۱۰^{۵}<B_۳<۱۰۵\times۱۰^{۵}$ (cfu/mL)

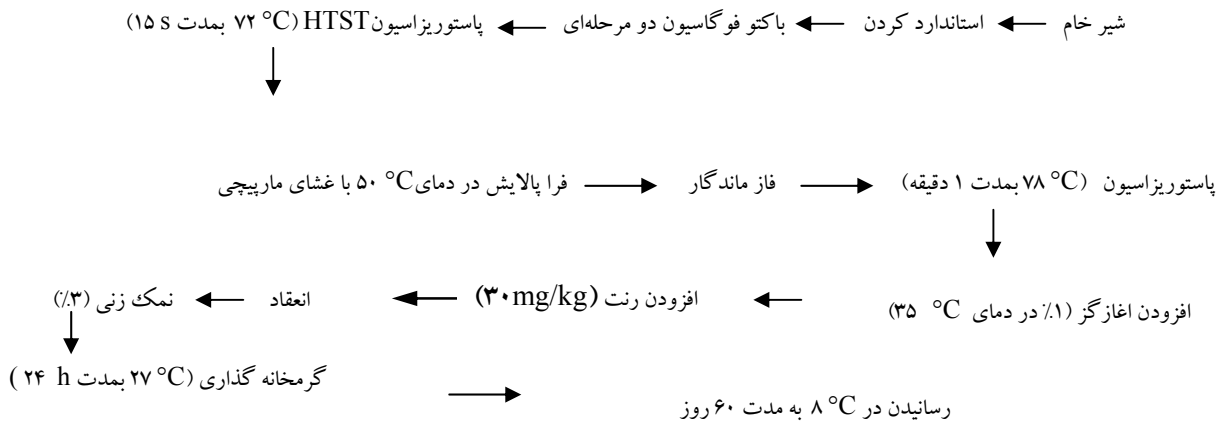
بر روی پروتئولیز از طریق اندازه گیری ازت محلول در pH= ۴/۶ و ازت غیر پروتئینی و ویژگی های حسی شامل بافت و طعم پنیر سفید فراپالایشی مورد بررسی قرار گرفت.

1- Total count
2- Fromase
3- Visby, Tonder Aps, Denmark

روش

تهیه پنیر

تهیه نمونه های پنیر سفید فراپالایشی به روش مرسوم در صنعت و در کارخانه شیر منطقه آذربایجان شرقی مطابق نمودار ذیل انجام گرفت:



آزمایش ها

شمارش جمعیت باکتری های سرماگرا

جمعیت باکتری های سرماگرای شیرخام مطابق استاندارد شماره ۳۴۵۱ ایران تعیین گردید(۲، ۱۸). محیط کشت مورد استفاده پلیت کانت آگار به اضافه پودر شیر بدون چربی بود. روش انجام مراحل مانند شمارش کلی است. بعد از جامد شدن محیط کشت پلیت ها را در دمای ۷ °C به مدت ۱۰ روز نگهداری کرده و بعد شمارش انجام پذیرفت.

تعداد یاخته های پیکری

شمارش تعداد سلول های پیکری با روش مستقیم میکروسکوپی صورت گرفت. در این روش نمونه های شیر کاملا مخلوط گردیده و تا حدود ۴۰ درجه سانتی گراد گرم شدند. سپس مقدار یک صدم میلی لیتر از نمونه بر روی یک لام مدرج تمیز و خشک با ناحیه ترسیمی به مساحت ۱ سانتی متر مربع توسط لوپ پخش گردید و در دمای ۴۵-۴۰ °C نگه داشته شد تا گسترش یافته و کاملا خشک شود. برای زدودن چربی، لام را برای ۲ تا ۵ دقیقه داخل محلول گزیلن[1] گذاشته و بعد به مدت ۵ دقیقه در اتانول ۳۰ ٪ و یک دقیقه در آب قرار داده شد تا تثبیت شود. سپس به مدت ۲ دقیقه داخل محلول رنگی ۱٪ متیلن بلو[2] گذاشته شد تا رنگ آمیزی گردد. بعد از شستشوی رنگ های اضافی و خشک شدن کامل گسترش،

1 -Xylene
2 -Methylen Blue

سلول های پیکری که دارای هسته به رنگ آبی تیره و اندازه حدود ۸ میکرون بودند توسط عدسی روغنی شمارش شدند. برای این منظور تعداد ۲۵ میدان میکروسکوپی شمارش گردید و سپس میانگین حاصل در ضریب میکروسکوپ (۵۰۰/۰۰۰) ضرب گردید و به این وسیله تعداد کل سلول های پیکری برای هر میلی لیتر شیر بدست آمد (۷).

ترکیب شیمیایی پنیر

ترکیب شیمیایی پنیر شامل میزان رطوبت از طریق خشک کردن آونی در دمای ۲ °C ± ۱۰۲ مطابق روش IDF (۱۳)، نمک به روش ولهارد (۱۵)، چربی به روش ژربر (۱۵)، پروتئین کل و ازت محلول به روش ماکرو کجلدال مطابق روش IDF (۱۲) و pH با فرو کردن مستقیم الکترود در پنیر مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ (۳) اندازه گیری شد.

ارزیابی پروتئولیز

جزء ازت محلول در pH ۴/۶ و ازت غیر پروتئینی (NPN[1]) (محلول در تری کلرو استیک اسید ۱۲٪) مطابق روش ارایه شده توسط سوسا و مکسوینی[2] (۲۱) تهیه گردیدند.

ارزیابی بافت

ارزیابی بافت نمونه های پنیر بوسیله دستگاه اینستران مدل ۱۱۴۰ انگلیس انجام شد. برای اینکار از آزمایش فشاری[3] استفاده بعمل آمد. نمونه ها به ابعاد ۲×۲×۲ بریده شدند و با لودسل[4] ۵۰ نیوتن و سرعت حرکت پانچ ۵۰ mm/min ، حداکثر نیروی لازم برای فشردن آن به اندازه ۷۵٪ اندازه اولیه تعیین گردید و از فورمول ذیل سفتی بافت محاسبه گردید:

$$S = \frac{F}{\pi . d . t}$$

که در آن F نیروی فشاری بر حسب نیوتن ، d قطر پانچ بر حسب میلی متر، t ضخامت نمونه بر حسب میلی متر و S مقاومت فشاری بر حسب نیوتن بر میلی متر مربع یا مگاپاسکال است.

ارزیابی طعم

ارزیابی طعم پنیر توسط گروه پانلیست و به روش ازمایش هدونیک پنج نقطه ای انجام گردید. برای این کار یک گروه ارزیاب ۱۶ نفره مرکب از کارکنان و دانشجویان دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انتخاب گردیدند. رتبه های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب به توصیفهای خیلی بد، بد، متوسط، خوب و خیلی خوب تخصیص داده شد.

طرح آماری

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح بلوک های کاملا تصادفی با ۴ تکرار بود. برای این کار از نرم افزار SPSS نسخه ۱۱ تحت ویندوز و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۰۰ استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی نمونه های پنیر سفید تهیه شده از شیر خام دارای مقادیر مختلف باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری در جدول ۱، نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می شود ترکیب نمونه های پنیر کم و بیش مشابه هم بوده و این امر مقایسه نتایج حاصل از آنالیزهای بعدی را میسر می سازد.

1- Non Protein Nitrogen
2- Sousa and McSweeney
3- Compression Test
4- Load Cell

جدول ۱- ترکیب شیمیایی نمونه های پنیر سفید فراپالایشی ، نتایج میانگین دو تکرار هستند

تیمار		ماده خشک (٪)	چربی (٪)	پروتئین (٪)	نمک(٪)	pH
باکتریهای سرماگرا (cfu/ml)	A_1	۳۸/۱۲	۱۸	۱۱/۶۱	۳/۱	۴/۸۵
	A_2	۳۸/۴۵	۱۸/۲	۱۱/۹۵	۳/۰۳	۴/۸۸
	A_3	۳۸/۰۹	۱۸/۲۵	۱۲/۰۸	۳/۱۲	۴/۸۵
یاخته های پیکری	B_1	۳۸/۵۴	۱۷/۵	۱۱/۲۳	۳/۰۵	۴/۷
(یاخته در میلی لیتر)	B_2	۳۷/۹۵	۱۸	۱۱/۴۳	۳/۰۵	۴/۷۵
	B_3	۳۸/۴۲	۱۷/۵	۱۱/۰۴	۳/۱۲	۴/۶۸

ارزیابی پروتئولیز

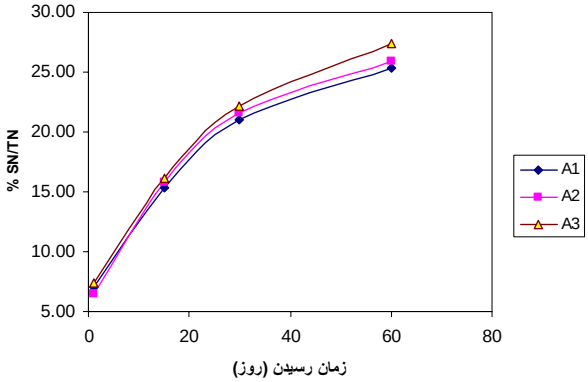
جدول ۲، مقایسه مقادیر نسبت ازت محلول در pH= ۴/ ۶ به ازت کل (SN/TN) و ازت غیر پروتئینی به ازت کل (NPN/TN) نمونه های پنیر سفید تهیه شده از شیر خام حاوی تعداد متفاوت باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری را پس از گذشت ۶۰ روز از دوره رسیدن نشان می دهد.

بر طبق جدول ۲، تاثیر تعداد باکتری های سرماگرا بر روی نسبت ازت محلول در pH = ۴/ ۶ به ازت کل معنی دار بود($P< ۰/۰۱$). به طوریکه با افزایش تعداد باکتری های سرماگرا میزان ازت محلول نیز افزایش یافت. بررسی روند تغیرات این پارامتر در طی رسانیدن موید وجود اختلاف معنی دار بین نمونه های پنیر تهیه شده از شیر خام با تعداد باکتری های سرماگرای متفاوت بود(شکل ۱).

جدول ۲- مقایسه مقادیر نسبتهای ازت محلول در pH ۴/۶ به ازت کل و ازت غیر پروتئینی به ازت کل در نمونه های پنیر سفید ۶۰ روزه

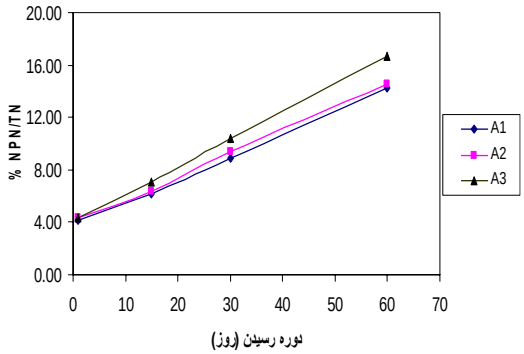
تیمار		ازت محلول/ ازت کل ٪	ازت غیر پروتئینی/ ازت کل(٪)
باکتریهای سرماگرا	A_1	۲۵/۳۹ [a]	۱۴/۲۳ [a]
	A_2	۲۵/۹۱ [b]	۱۴/۳۳ [a]
	A_3	۲۷/۴۲ [c]	۱۶/۶۸ [b]
یاخته های پیکری	B_1	۲۴/۳۵ [a]	۱۴/۱۲ [a]
	B_2	۲۴/۳۱ [a]	۱۴/۴۱ [a]
	B_3	۲۵/۸۷ [b]	۱۴/۲۴ [a]

[a,b,c] : کلمات غیر مشابه در یک ستون مبین وجود اختلاف معنی دار است($P<۰/۰۵$).



شکل ۱- روند تغیرات نسبت ازت محلول در pH=۴/۶ به ازت کل نمونه های پنیر سفید فراپالایشی تهیه شده از شیر خام حاوی مقادیر متفاوت باکتری های سرماگرا طی رسیدن.

از سوی دیگر مقایسه مقادیر نسبت ازت غیر پروتئینی به ازت کل نمونه های پنیر تهیه شده از شیر خام حاوی مقادیر متفاوت باکتری های سرماگرا مطابق جدول ۲، نشان داد که تعداد باکتری های سرماگرا تاثیر معنی داری بر روی NPN/TN دارد ($P<$ ۰/۰۵). به طوریکه با افزایش تعداد باکتری های سرماگرای شیر خام از سطح A_2 به A_3 موجب افزایش نسبت ازت غیر پروتئینی به ازت کل گردید ، ولی از این لحاظ تفاوتی بین نمونه پنیر تهیه شده از شیر خام با A_1 و A_2 وجود نداشت (شکل ۲).

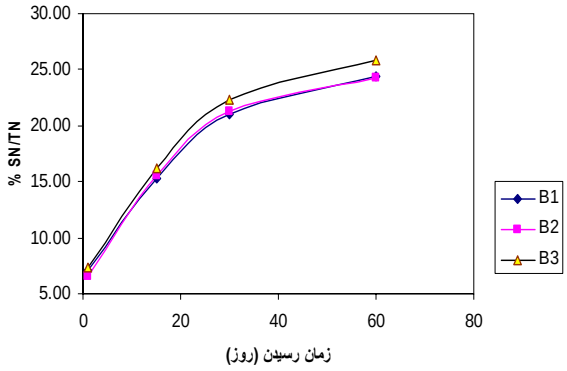


شکل ۲- روند تغیرات نسبت ازت غیر پروتئینی به ازت کل نمونه های پنیر سفید فراپالایشی تهیه شده از شیر خام حاوی مقادیر متفاوت باکتری های سرماگرا در طی رسیدن.

در توجیه مشاهدات مذکور در بالا می توان ابراز داشت که افزایش تعداد باکتری های سرماگرا در شیر خام موجب تشدید پروتئولیز پنیر سفید فراپالایشی طی رسیدن می گردد. اصولا باکتری های سرماگرا به دلیل ماهیت حساس به حرارتشان در طی پاستوریزاسیون از بین می روند ولی آنزیم های پروتئیناز بسیار مقاوم به حرارت تولید می کنند که ممکن است بر روی پروتئولیز پنیر طی رسیدن اثر بگذارند(۲۱). این آنزیم ها اکثرا بر روی کاپا کازئین عمل می کنند و موجب ناپایداری میسل کازئینی می شوند. β کازئین در مقایسه با α_{s1}کازئین حساسیت بیشتری به تجزیه توسط پروتئازهای مترشحه از باکتری های سرماگرا دارد (۱۱). وایت و مارشال نیز تشدید پروتئولیز در پنیر چدار و کاتیج تهیه شده از شیر تلقیح شده با *سودوموناس* را گزارش نمودند (۱۱).

مقایسه مقادیر نسبت ازت محلول در pH= ۴/۶ به ازت کل در نمونه های پنیر ۶۰ روزه تهیه شده از شیر خام با تعداد یاخته های پیکری متفاوت نشان داد که تاثیر تعداد یاخته های پیکری بر روی SN/TN معنی دار بود($P<$ ۰/۰۵). اگرچه بین نمونه های پنیر تهیه شده از شیر خام B_1 با B_2 تفاوت معنی داری مشاهده نگردید با این حال افزایش تعداد این یاخته ها به B_3 به طور معنی داری نسبت ازت محلول به ازت کل را افزایش داد (جدول ۲). بررسی روند تغییر نسبت ازت محلول به ازت کل این نمونه های پنیر طی رسیدن مطابق شکل ۳، نشان داد که در دوره های رسیدن کوتاهتر(۱، ۱۵ و ۳۰ روز) تفاوت معنی داری بین ازت محلول در pH=۴/۶ پنیرهای تهیه شده از شیر خام با تعداد یاخته های پیکری متفاوت وجود نداشت.

همچنین اختلاف معنی داری بین نمونه های پنیر تهیه شده از شیر خام حاوی مقادیر متفاوت یاخته پیکری مشاهده نگردید (جدول ۲).

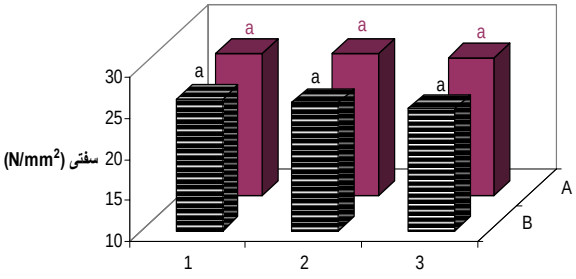


شکل ۳- روند تغیرات نسبت ازت محلول به ازت کل نمونه های پنیر سفید اولترافیلتره تهیه شده از شیر خام حاوی مقادیر متفاوت یاخته های پیکری طی رسیدن.

در توجیه نتایج حاصل از بررسی تاثیر تعدا د یاخته های پیکری شیر بر روی ازت محلول و ازت غیر پروتئینی می توان گفت که اگرچه یاخته های پیکری دارای آنزیم های پروتئولیتیک هستند ولی این آنزیم ها بر عکس آنزیم های مترشحه باکتری های سرماگرا مقاوم به حرارت نیستند و غیر فعال شدن آنها در طی فرایند حرارتی محتمل است. با این حال افزایش فعالیت پلاسمین توسط یاخته پیکری میتواند بر روی پروتئولیز بتا کازئین و α_{s2}کازئین اثر گذاشته و موجب تشدید پروتئولیز اولیه پنیر طی رسیدن بشود(۸). ازت غیر پروتئینی که شاخص پروتئولیز ثانویه محسوب می شود به طور عمده در اثر فعالیت آنزیمی آغازگرها و باکتری های لاکتیک غیر آغازگر ایجاد می شود (۱۶) و لذا تحت تاثیر یاخته های پیکری قرار نمی گیرد.

ارزیابی بافت

آنالیز واریانس نتایج حاصل از ارزیابی بافت نمونه های پنیر تهیه شده از شیر خام حاوی تعداد متفاوت باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری نشان داد که این تیمارها در محدوده های مورد بررسی تاثیر معنی داری بر بافت پنیر سفید فرا پالایشی ندارند. اگرچه این تیمارها اثر ملایمی بر پروتئولیز داشتند . به طور کلی ارتباط بین پروتئولیز و تغییرات بافتی پنیر طی رسیدن بسیار پیچیده است ولی محققان تجزیه α_{s1}کازئین بهα_{s1}-CN (f24-199) را عامل اصلی نرم شدن بافت پنیر عنوان کرده اند (۹،۱۰). در حالی که فعالیت پروتئولیتیک باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری به طور عمده معطوف به β وα_{s2}-کازئین گزارش شده است (۱۱،۱۴).



شکل ۴- تاثیر تعداد باکتری های سرما گرا (در سه سطحA_1، A_2 و A_3) و یاختههای پیکری (در سه سطحB_1، B_2 وB_3) بر روی سفتی بافت پنیر سفید فراپالایشی.

ارزیابی طعم

میانگین امتیازات مربوط به طعم نمونه های مختلف پنیر در جدول ۳، نشان داده شده است.

همانطوری که مشاهده می شود تاثیر باکتری های سرماگرا بر طعم پنیر سفید فراپالایشی معنی دار بود ($P<۰/۰۵$). به طوریکه با افزایش تعداد آنها به سطح $A_۲$ ارزیابها امتیاز کمتری را به نمونه های پنیر قائل شدند. ایجاد طعم کثیفی[1] در فراورده های حاصل از شیرهای آلوده با باکتری های سرماگرا گزارش شده است(۱۱).

جدول ۳- میانگین امتیازهای طعم نمونه های پنیر سفید۶۰ روزه فراپالایشی تهیه شده از شیر حاوی تعداد متفاوت باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری

تیمار		امتیاز طعم
باکتری های سرماگرا	$A_۱$	^{a}۴/۳۸
	$A_۲$	^{b}۳/۲۵
	$A_۳$	^{b}۳/۵۰
یاخته های پیکری	$B_۱$	^{a}۴/۰۰
	$B_۲$	^{a}۴/۱۳
	$B_۳$	^{a}۳/۸۸

^{a,b,c,d} : کلمات غیر مشابه در یک ستون مبین وجود اختلاف معنی دار است($P<۰/۰۵$)

در مقابل اگرچه میانگین امتیاز طعم پنیر حاصل ازشیر خام دارای یاخته پیکری کمتر از دیگر نمونه ها بود ولی مطابق جدول ۳ این تفاوت ها از لحاظ آماری معنی دار نبود. اگر چه ایجاد طعم تلخ در برخی از انواع پنیر تهیه شده از شیر حاوی تعداد بالای یاخته پیکری گزارش گردیده است که ناشی از تجزیه بیشتر بتا کازئین توسط پلاسمین در آنها می باشد. به نظر می رسد که پروتئین های محلول موجود در پنیرهای فراپالایشی از افزایش بیش از حد فعالیت پلاسمین جلوگیری می کند(۶،۱۷) و لذا طعم تلخ در این فراورده ها ایجاد نمی شود.

نتیجه گیری

با توجه به مطالب مذکور به نظر می رسد که کیفیت شیر خام از لحاظ سطح باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری اثرات قابل ملاحظه ای بر روی پروتئولیز پنیر سفید فراپالایشی دارد. تاثیر اساسی این تیمارها بر پروتئولیز اولیه می باشد که با اندازه گیری میزان ازت محلول مشخص گردید و تاثیر باکتری های سرماگرا از این لحاظ بیشتر مشهود بود. پروتئولیز اولیه که طی آن مولکول های کازئینی به پپتیدهای درشت شکسته می شوند مقدمه پروتئولیز ثانویه محسوب می شود و ممکن است بر روی کیفیت پنیر رسیده تاثیر قابل ملاحظه ای داشته باشد. به طوری که نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش آلودگی شیر به باکتری های سرماگرا، کیفیت پنیر حاصل از لحاظ طعم افت پیدا می کند. این نتایج اهمیت باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری در کیفیت پنیر سفید فراپالایشی که امروزه در سطح وسیعی در کشور تولید می شود را بیش از پیش روشن می سازد. لذا توجه به کنترل کیفیت شیر خام و حتی الامکان استفاده از شیر های حاوی مقادیر پایین باکتری های سرماگرا و یاخته های پیکری برای تولید پنیر سفید فراپالایشی توصیه می گردد.

1- Unclean

منابع

۱- احسانی ، م. ر.، و م. طبیبی آذر.۱۳۷۹. بررسی اثر کیفیت میکروبی و شیمیایی شیر بر موازنه طی عملیات اولترافیلتراسیون. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

۲- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. استاندارد ملی ایران شماره ۳۴۵۱.

۳- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲.

4- Barbano, D.M., R. J. Verdi. and R, Rasmussen. 1987. Influence of milk somatic cell count on cheese manufacturing and cheese yield. Marshall Italian and Specialty Seminars. Italy. Vol:pp.

5- Barbano, D.M., R. R, Rasmussen. and J. M, Lynch. 1991. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. Journal of Dairy Science, 74 (2) : 369-388.

6- Bastian, E. D. and R. G, Brown. 1996. Plasmin in milk and dairy products: an update. International Dairy Journal, 6:435-457.

7- Chauhan, R.S. 1995. Veterinary clinical and laboratory diagnosis. Jaypee Brothers Lordson Publishers. pp. 155-158.

8- Cooney, S., D, Tiernan., P, Joyce. and A, Kelly. 2000. Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss - type cheese. Journal of Dairy Research, 67:301-307 .

9- Creamer, L.K. and N. F, Olson. 1982. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. Journal of Food Science, 41: 631-636.

10- De Jong, L. 1976. Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. 1. Proteolysis and consistency of 'Noordhollandse Meshanger' cheese. Netherlands Milk Dairy Journal. 30 :242-253.

11- Fairbairn, D. J. and B. A, Law. 1986. Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. Journal of Dairy Research, 3:139-177.

12- IDF. 1964. Determination of the protein content of processed cheeses products. Standard 25. Brussels: International Dairy Federation.

13- IDF. 1982. Determination of the total solid content (cheese and processed cheese). IDF Standard 4A, Brussels: International Dairy Federation.

14- Klei, L., J, Yun., A, Sapru., J, Lynch., D, Barbano., P, Sears. and D, Galton. 1998. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. Journal of Dairy Science, 81(5) : 1205 - 1213 .

15- Marshal, R. T. 1992. Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association. Washington, DC.

16- McSweeney, P.L.H. and P.F, Fox. 1997. Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. Lait, 77 :41–76.

17- Politis, L. and K. F, Ng - Kwai – Hang. 1988. Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulating properties of milk. Journal of Dairy Science, 71(7) : 1740-1746.

18- Rasario, M. and M, Gramino. 1993. Numerical of psychrotrophic bacteria isolated from raw ewes milk. Journal of Dairy Research, 60:317-383.

19- Santos, J. A. and T. M, Lopez. 1996.Characterization and extracellular activity of psychrotrophic bacteria isolated from Villalon cheese. International Journal of Food Microbiology, 33: 301-306.

20- Sousa, M. J. and P. L. H, McSweeney. 2001. Studies on the ripening of Cooleeney, an Irish farmhouse Camembert-type cheese. Irish Journal of Agricultural and Food Research, 40:83-95

21- Swart, G. J., C. A, Bastiaanse. and T. E, Downes. 1983. Effect of psychrotrophic microorganisms on the manufacture and ripening of Cheddar cheese. South African Journal of Dairy Technology, 15: 91-96.

Effect of psychrotrophic bacteria and somatic cell count on proteolysis and sensory properties of UF white cheese

J. Hesari [1*], M. R. Ehsani [2], A. Khosroshahi [3], N. Ghaemi[4]

Abstract

The objective of this study was to determine the effect of psychrotrophic bacteria and somatic cells on the physicochemical characteristics of Iranian ultrafiltered (UF) white cheese. Milks with different numbers of psychrotrophic bacteria (1×10^6, 5×10^6 and 10×10^6 cfu/ml) and low somatic cell counts (SCC, $<2\times10^5$/ml) were selected and UF white cheese trials were produced. In a separate experiment, milks with different numbers (2×10^5, $4\times10^5$and 6×10^5/ml) of somatic cells and low levels of psychrotrophic bacteria ($<10^6$ cfu/ml) were used for production of UF white cheeses. Results showed that soluble nitrogen at pH 4.6 and non protein nitrogen (NPN) increased in cheese with increasing the number of psychrotrophic bacteria in milk. Although the SCC had slight effect on soluble nitrogen at pH 4.6, but it did not have a significant effect on NPN. These factors did not have significant effect on textural properties of cheeses, although psychrotrophic bacteria had negative effect on the taste of UF white cheeses scored by Panelists.

Key words: Psychrotrophic bacteria, Somatic cells, Ultrafiltered (UF), White cheese

* Corresponding author: E-mail: j-hesari@Yahoo.com
1- Dept. Food Sci. Technology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran.
2- Dept. Food Sci. Technology, Faculty of Biosystem, Tehran University, Tehran, Iran.
3- Dept. Food Sci. Technology, Faculty of Agriculture, Uromia University, Uromia, Iran.
4- Dept. Biochemistry, Tehran University, Tehran, Iran.