

## اثر تغییرات درجه حرارت بر پروتئولیز پنیر لیقوان در طول دوره‌ی رسیدن

• راحله نژاد رزمجوی اخگر (نویسنده مسئول)

بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران.

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۶      تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۴۴۵۷۵۵۰

Email: razmjooi@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/aasrj.2017.115405.1127

چکیده:

اثر تغییرات درجه حرارت بر روی ترکیبات شیمیایی، pH، ازت محلول در  $4/6$  pH به عنوان شاخص رسیدن و ویژگی‌های حسی پنیر لیقوان در طول ۱۲۰ روز ذخیره‌سازی در ۴ دمای  $9^{\circ}\text{C}$ ،  $13^{\circ}\text{C}$ ،  $15^{\circ}\text{C}$  و  $19^{\circ}\text{C}$  مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر pH همه‌ی نمونه‌های پنیر تا روز ۶۰ ام روندی کاهشی داشت. از روز ۶۰ ام به بعد pH نمونه‌های پنیر نگهداری شده در دماهای  $15$  و  $19^{\circ}\text{C}$  افزایش پیدا کرد. درصد ماده‌ی خشک در همه تیمارهای دمایی در طول رسیدن افزایش یافت و در نمونه‌های پنیر نگهداری شده در دمای  $19^{\circ}\text{C}$  در تمام طول رسیدن به طور معنی‌داری بالاتر بود. درصد نمک در همه تیمارها در طول رسیدن افزایش یافت و از نظر درصد نمک اختلاف معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد. از نظر درصد پروتئین بین نمونه‌های پنیر اختلاف معنی‌داری در طول رسیدن وجود نداشت. مقدار ازت محلول در  $4/6$  pH در نمونه‌های پنیر نگهداری شده در دمای  $19^{\circ}\text{C}$  به طور معنی‌داری بالاتر بود. در طی دوره‌ی رسیدن بیشترین و کمترین مقدار ازت محلول به ترتیب متعلق به پنیرهای نگهداری شده در دماهای  $19$  و  $9^{\circ}\text{C}$  بود. نتایج ارزیابی حسی در پایان دوره رسیدن اختلاف معنی‌داری را بین نمونه‌های پنیر نشان داد. بیشترین و کمترین امتیازات داده شده توسط داوران برای ویژگی‌های حسی به ترتیب به نمونه‌های پنیر نگهداری شده در دماهای  $15$  و  $19^{\circ}\text{C}$  تعلق گرفت.

واژه‌های کلیدی: پنیر لیقوان، پروتئولیز، دوره‌ی رسیدن، درجه حرارت

Applied Animal Science Research Journal No 27 pp: 3-14

**Effect of Temperature Changes on Proteolysis of Lighvan Cheese During Ripening**

By: Rahele Nezhad Razmjou Akhgar

Department of Animal Science Research, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Urmia, Iran.

Effect of temperature changes on chemical composition, pH, soluble nitrogen in pH=4.6 as ripening indicator and sensory properties of Lighnan cheese during storage at 4 temperatures of 9°C, 13°C, 15°C and 19°C was investigated. Values of pH had decreasing trend in all cheese samples until 60 days. From the 60th day, the pH of cheese samples stored at 15°C and 19°C increased. Percentage of dry matter increased in all treatments during ripening and was significantly higher in cheese samples stored at 19°C during whole ripening period. The percentage of salt in all treatments increased during ripening and no significant difference was observed. There was no significant difference in protein content between cheese samples during ripening. Soluble nitrogen in pH=4.6 values was significantly higher in cheese samples stored at 19°C. During ripening period the highest and lowest values of soluble nitrogen belonged to cheeses stored at 9°C and 19°C respectively. The result of sensory evaluation at the end of the ripening period showed significant difference between cheese samples. The highest and lowest scores given to cheeses by panelists belonged to cheeses stored at 15°C and 19°C respectively.

**Key words:** Lighvan cheese, proteolysis, ripening period, temperature

**مقدمه**

بزرگ و متوسط می‌گردد (McSweeney, 2004). این پیتیدها نیز به وسیله‌ی ماده‌ی منعقد کننده باقی‌مانده در دلمه و آنزیم‌های باکتری‌های آغازگر و غیر آغازگر به پیتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد تبدیل می‌شوند. این واکنش‌ها منجر به تولید ترکیباتی از قبیل آمونیاک، آمین‌ها، آلدئیدها، فنول‌ها، اندول‌ها و الکل‌ها می‌گردد (Sihufe *et al.*, 2006). در اثر پروتولیز، بافت لاستیکی پنیر تازه به بافتی صاف در پنیر رسیده، تبدیل می‌شود. رسیدن فرایندی کند و تدریجی بوده و بخش مهمی از هزینه‌های تولید را در بر می‌گیرد. روش‌های اصلی که جهت تسريع رسیدن پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارتند از: بالا بردن درجه حرارت نگهداری، توسعه کشت‌های آغازگر، استفاده از کشت‌های الحقیقی، افزودن دوغاب یا اسیدهای آمینه، استفاده از آنزیم‌های خارجی و فراوری با فشار بالا (Fox *et al.*, 1996). افزایش درجه حرارت نگهداری طی دوره‌ی

رسیدن پنیر عبارت است از نگهداری آن به مدت معین حداقل ۳ تا ۶ ماه و یا بیشتر در درجه‌ی حرارت پایین (۰-۱۶°C)، که در این شرایط خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و باکتریولوژیکی پنیر تغییر پیدا کرده و باعث ایجاد طعم، مزه و بافت مشخص می‌گردد. مهمترین تغییرات بیوشیمیایی که در حین رسیدن اتفاق می‌افتد، شامل گلیکولیز، لیپولیز و پروتولیز می‌باشد که تغییرات مزبور با تعدادی از تغییرات کاتابولیک ثانوی شامل دزآمیناسیون، دکربوکسیلاسیون، دسولفوراسیون و بعضی تغییرات سنتیکی نظیر استریفیکاسیون همراه است. پروتولیز اصلی‌ترین و پیچیده‌ترین رویداد بیوشیمیایی است که در طول رسیدن انواع پنیر اتفاق افتاده (McSweeney, 2004) و بر روی خواص حسی پنیر رسیده بسیار تأثیرگذار است (Grappin, 1985). هیدرولیز اولیه‌ی کازئین به وسیله‌ی کیموزین و با درجه‌ی کمتر به وسیله‌ی پلاسمین انجام می‌گیرد که منجر به تشکیل پیتیدهای با اندازه‌ی

شدیدتر  $\alpha_{\text{S1}}$  و  $\beta$  – کازئین در پنیر تولیدی از شیر پاستوریزه بود. Hannon و همکاران (۲۰۰۵) اثرات بالا بردن درجه حرارت در طی دوره‌ی رسیدن و طول مدت رسیدن را در طول مراحل اولیه‌ی رسیدن پنیر چدار ارزیابی کردند. استفاده از درجه حرارت های بالاتر (۱۲، ۲۰ و  $30^{\circ}\text{C}$ ) طول مدت رسیدن را حدود دو ماه تسربیع کرد. طعم مطلوب در پنیرهای رسیده در دماهای  $20^{\circ}\text{C}$  و  $12^{\circ}\text{C}$  به ترتیب در مدت ۱ و ۶ هفته به دست آمد. تغییرات فیزیکی شیمیایی، پروتئولیز، ریز ساختار، بافت و خصوصیات حسی پنیر لیقوان در طول رسیدن توسط میرزایی و علیقلی نژاد (۱۳۹۰)، Shahab و همکاران (۲۰۱۴) و Aminifar و همکاران (۲۰۱۱) مورد مطالعه قرار گرفته است. اما در مورد اثر تغییرات درجه حرارت بر روی رسیدن و پروتئولیز پنیر لیقوان مطالعه‌ای انجام نگرفته است. هدف از اجرای این تحقیق، ارزیابی اثر دماهای بالاتر نگهداری، بر روی ترکیب شیمیایی، پروتئولیز و خواص حسی پنیر لیقوان در طول دوره رسیدن ۱۲ روزه بود.

### مواد و روش ها

**مواد مورد استفاده جهت تهیه نمونه های پنیر**  
شیر خام گوسفندی با ویژگی های ذکر شده در جدول ۱، از دامداری های منطقه لیقوان تبریز، مایه پنیر قارچی مشتق از *Mucor pusillus* از شرکت میتو ژاپن و مواد شیمیایی (با درجه آنالیزی) از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

رسیدن، هیچ گونه افزایش هزینه ای در بر ندارد، در نتیجه این روش، ارزانترین شیوه برای تسربیع رسیدن پنیر و کوتاه کردن این دوره می‌باشد (McSweeney, 2004).

پنیر لیقوان یکی از معروفترین پنیرهای آب نمکی سنتی است که به علت خواص حسی مطلوب آن، از بازار پسندی بالایی در سراسر ایران برخوردار است. این پنیر از انواع پنیر نیمه سخت بوده و از شیر خام گوسفند یا مخلوط شیر گوسفندی و بزی و بدون افزودن مایه کشت آغازگر تولید می‌شود. طول مدت رسیدن در پنیر لیقوان طولانی و حدود ۳-۶ ماه می‌باشد و طعم ویژه‌ی آن قبل از ۱۲۰ روز رسیدن ایجاد نمی‌شود. بنابراین تسربیع رسیدن در مورد این پنیر می‌تواند مفید باشد. چندین مطالعه در مورد استفاده از افزایش درجه حرارت جهت تسربیع رسیدن انواع پنیر صورت گرفته است. Pachlova و همکاران (۲۰۱۱) اثر افزایش درجه حرارت ( $16^{\circ}\text{C}$ ) را بر روی رسیدن پنیر هلندی مورد بررسی قرار دادند. افزایش درجه حرارت طی دوره‌ی رسیدن، فعالیت پروتولیتیک میکرو فلور پنیر را حدود دو برابر افزایش داد و محتویات اسیدهای آمینه‌ی آزاد در پنیرهای آزمایشی دو برابر بیشتر از پنیرهای کنترل بود. نتیجه گیری شد که  $6^{\circ}\text{C}$  افزایش دما می‌تواند زمان رسیدن را در محل نگهداری پنیر یا سرداب به حدود نصف کاهش دهد. Gaya و همکاران (۱۹۹۰) اثرات بالا بردن درجه حرارت هنین زمان رسیدن را بر روی خصوصیات شیمیایی، رئولوژیکی و حسی پنیر Manchego تهیه شده از شیر خام و پاستوریزه مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از هیدرولیز

جدول ۱- خصوصیات شیر مورد استفاده

	pH
۶/۶	اسیدیته
%۰/۱۶	ماده خشک
%۸/۵	چربی
%۲/۹	دانسیته
۱/۰۳۱ g/cm <sup>۳</sup>	نقطه انجماد
۰/۰۵۴°C	تست الکل
منفی	

## روش تهیه پنیر لیقوان

نمونه‌های پنیر در دمای  $2^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}$  تا رسیدن به دمای ثابت (IDF, 1982)، نمک به روش ولهارد (Marshal, 2005) و پروتئین کل به روش کجلدا (IDF, 1993) اندازه‌گیری شدند. ارزیابی پروتئولیز در نمونه‌های پنیر با اندازه‌گیری ازت محلول در  $\text{pH} = 4/6$  با استفاده از روش Fox و Kuchroo (۱۹۸۲)، اصلاح شده توسط Sousa و McSweeney (۲۰۰۱) انجام گرفت.

### ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌های پنیر لیقوان رسیده در دماهای  $9^{\circ}\text{C}$ ،  $13^{\circ}\text{C}$  و  $15^{\circ}\text{C}$  شامل طعم، بو، بافت و پذیرش کلی، بر اساس آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای، در روز  $120^{\circ}$  ام دوره رسیدن انجام گرفت. برای این منظور تعداد  $20^{\circ}$  نفر ارزیاب متشکل از  $10^{\circ}$  زن و  $10^{\circ}$  مرد با میانگین سنی  $23^{\circ}$  تا  $45^{\circ}$  سال بر اساس میزان علاقه مندی و دقت و همچنین آشنایی نسبت به ویژگی‌های پنیر لیقوان از بین کارشناسان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی انتخاب شدند. نمونه‌های پنیر به شکل مکعب‌های  $20^{\circ}$  گرمی آماده شده و در داخل ظروف پلاستیکی که با کدهای  $3^{\circ}$  رقمی کدگذاری شده بودند، قرار گرفته و در دمای  $20^{\circ}\text{C} - 18^{\circ}$  به همراه آب و بیسکویت بدون نمک، به ارزیابان عرضه گردیدند. همچنین توضیه حاتی در زمینه نحوه امتیازدهی به ویژگی‌های نمونه‌های پنیر به ارزیابان داده شد. نمونه‌های پنیر از  $0^{\circ}$  تا  $5^{\circ}$  برای خواص طعم، بو، بافت و پذیرش کلی امتیازدهی شدند. الگوی امتیازدهی برای طعم ( $= 0$  نارس،  $= 5$  رسیده)، بو ( $= 0$  نارس،  $= 5$  رسیده)، بافت ( $= 0$  بسیار بد،  $= 5$  بسیار خوب) در نظر گرفته شده بود ( مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۸).

### تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS-18 بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد آزمون آماری قرار گرفت. برای تحلیل نتایج داده‌ها از آنالیز واریانس و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و برای ترسیم نمودارها از اکسل ۲۰۰۷ استفاده شد.

این تحقیق در یکی از کارگاه‌های پنیرسازی دهکده‌ی کوهستانی لیقوان اجرا گردید. شیر خام گوسفنداران دهکده‌ی لیقوان خریداری شد. شیر دریافتی پس از عبور از صافی وارد بیدون‌های استیل شده و دمای آن با قرار دادن در داخل بشکه‌های آب سرد تا  $28^{\circ}\text{C}$  کاهش داده شد. سپس طبق عرف محل، مایه پنیر قارچی ( $1^{\circ}$  گرم به ازای هر  $80^{\circ}$  لیتر شیر) اضافه شد.  $2^{\circ}$  ساعت پس از افزودن مایه پنیر، عمل انعقاد تکمیل شد. دلمه‌ی حاصله بر روی پارچه‌ی کرباسی که در داخل کاناال پهنه شده بود، ریخته و پس از یک ساعت با چاقو برش داده شد. آب پنیر از طریق کاناال ها به فاضلاب هدایت شد. دلمه دو بار دیگر با فواصل نیم ساعتی برش داده شد. پس از برش دلمه، کناره‌های کرباس روی سطح بالایی دلمه جمع شده و به مدت  $2^{\circ}$  ساعت وزنه‌هایی روی دلمه قرار گرفت ( $5^{\circ}$  کیلوگرم وزنه به ازای هر  $15^{\circ}$  کیلوگرم دلمه). دلمه‌ها به وسیله‌ی تخته‌ی برش به شکل مکعب‌هایی با ابعاد  $8/5 \times 8/5 \times 8/5$  سانتی متر برش داده شدند. سپس قالب‌های پنیر به مدت  $8^{\circ}$  ساعت وارد حوضچه‌ی محتوى آب نمک اشباع ( $22\%$ ) شده و پس از خروج از آب نمک به مدت  $3^{\circ}$  روز در تشتک‌های فلزی قرار داده شدند. جهت تسریع آبگیری به قسمت زیرین و روی پنیرها نمک دانه درشت پاشیده شد. هر  $12^{\circ}$  ساعت یکبار قالب‌های پنیر برگردانده و عملیات نمک پاشی تکرار می‌شد. مقدار نمک مصرفی  $200^{\circ}$  گرم به ازای هر  $30^{\circ}$  کیلوگرم قالب پنیر بود. قالب‌های پنیر با وزن تقریبی  $300^{\circ}$  گرم در ظروف پلی‌اتیلنی حاوی آب نمک  $12\%$  پاستوریزه قرار داده شده و در بندی شدند. نمونه‌های پنیر به  $4^{\circ}$  تیمار تقسیم شده و تیمارها دوره‌ی  $120^{\circ}$  روزه‌ی رسیدن را در دماهای  $13 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ،  $9 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ،  $15 \pm 1^{\circ}\text{C}$  و  $19 \pm 1^{\circ}\text{C}$  سپری کردند. آزمون‌های مربوطه در روزهای  $30^{\circ}$ ،  $60^{\circ}$  و  $90^{\circ}$  دوره‌ی نگهداری بر روی تیمارها انجام گرفت.

### آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

pH نمونه‌های پنیر طبق روش استاندارد ( مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۶۶)، از طریق فروبردن مستقیم الکترود دستگاه pH متر کالیبره‌ی دیجیتال به داخل بافت پنیر تعیین گردید. رطوبت به وسیله‌ی آون از طریق خشک کردن

## نتایج و بحث ترکیب شیمیایی و pH

جدول ۲، درصد ترکیبات شیمیایی و pH نمونه‌های پنیر لیقوان را در روز اول (قبل از نمکزنی) نشان می‌دهد.

جدول ۲- درصد ترکیبات شیمیایی نمونه‌های پنیر لیقوان در روز اول (قبل از نمکزنی)

ماده خشک (%)	رطوبت (%)	نمک (%)	pH	چربی (%)	پروتئین (%)
۳۶/۸	۶۳/۲	۳/۳۰	۵/۲	۱۲/۹	۱۲/۸۳

میانگین مقادیر pH، ماده خشک، نمک و پروتئین نمونه‌های پنیر نگهداری شده در ۴ دمای مختلف طی ۱۲۰ روز دوره‌ی رسیدن در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳- ترکیب شیمیایی نمونه‌های پنیر لیقوان نگهداری شده در ۴ دمای مختلف در طول ۱۲۰ روز دوره‌ی رسیدن

درجه حرارت ذخیره‌سازی (C°)					زمان
رسیدن	(روز)	۹±1°C	۱۳±1°C	۱۵±1°C	۱۹±1°C
رسیدن	۳۰	۴/۷۰±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۴/۶۵±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۴/۷۲±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۶۰±۰/۰۴ <sup>a</sup>
	۶۰	۴/۵۵±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۴/۶۰±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۶۰±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۵۵±۰/۰۴ <sup>a</sup>
	۹۰	۴/۸۵±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۹۰±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۴/۵۳±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۴/۵۳±۰/۰۴ <sup>b</sup>
	۱۲۰	۴/۹۶±۰/۱۸ <sup>a</sup>	۴/۹۴±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۴/۵۰±۰/۰۰ <sup>b</sup>	۴/۵۰±۰/۰۰ <sup>b</sup>
pH					
خشک	۳۰	۳۶/۹۲±۰/۱۰ <sup>b</sup>	۳۶/۹۲±۰/۱۰ <sup>b</sup>	۳۷/۲۵±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۴۲/۶۰±۰/۳۳ <sup>a</sup>
	۶۰	۳۶/۹۸±۰/۱۰ <sup>b</sup>	۳۶/۹۸±۰/۱۰ <sup>b</sup>	۳۷/۸۰±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۴۲/۸۰±۰/۳۲ <sup>a</sup>
	۹۰	۳۷/۲۵±۰/۱۲ <sup>b</sup>	۳۷/۴۵±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۳۸/۵۶±۰/۳۴ <sup>b</sup>	۴۳/۷۲±۰/۱۵ <sup>a</sup>
	۱۲۰	۳۷/۵۵±۰/۱۶ <sup>b</sup>	۳۷/۵۵±۰/۱۶ <sup>b</sup>	۴۱/۲۶±۰/۶۸ <sup>b</sup>	۵۵/۶۰±۰/۱۲ <sup>a</sup>
ماده خشک					
نمک	۳۰	۳/۵۰±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۳/۴۵±۰/۴۰ <sup>a</sup>	۳/۴۸±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۳/۵۲±۰/۴۴ <sup>a</sup>
	۶۰	۳/۸۱±۰/۲۲ <sup>a</sup>	۳/۷۸±۰/۲۸ <sup>a</sup>	۳/۸۰±۰/۳۴ <sup>a</sup>	۳/۸۲±۰/۳۰ <sup>a</sup>
	۹۰	۴/۸۰±۰/۴۲ <sup>a</sup>	۴/۳۰±۰/۴۰ <sup>a</sup>	۴/۲۸±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۴/۳۲±۰/۳۸ <sup>a</sup>
	۱۲۰	۴/۸۰±۰/۳۰ <sup>a</sup>	۴/۷۸±۰/۳۴ <sup>a</sup>	۴/۸۰±۰/۴۵ <sup>a</sup>	۴/۸۱±۰/۳۸ <sup>a</sup>
پروتئین					
پروتئین	۳۰	۱۳/۲۳±۰/۱۶ <sup>a</sup>	۱۳/۳۳±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۱۳/۱۰±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۱۳/۴۰±۰/۱۰ <sup>a</sup>
	۶۰	۱۳/۲۷±۰/۲۸ <sup>a</sup>	۱۳/۳۱±۰/۳۱ <sup>a</sup>	۱۳/۲۰±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۱۳/۲۵±۰/۱۸ <sup>a</sup>
	۹۰	۱۳/۱۷±۰/۲۲ <sup>a</sup>	۱۳/۱۲±۰/۳۶ <sup>a</sup>	۱۳/۳۰±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۱۳/۱۶±۰/۲۷ <sup>a</sup>
	۱۲۰	۱۳/۳۳±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۱۳/۲۹±۰/۲۵ <sup>a</sup>	۱۳/۲۰±۰/۲۹ <sup>a</sup>	۱۳/۱۵±۰/۳۷ <sup>a</sup>

حروف غیر مشابه در هر ردیف (مربوط به یک ویژگی شیمیایی) و مربوط به یک روز رسیدن بیانگر وجود اختلاف معنی دار می باشد ( $P < 0.05$ ).

$10^{\circ}$  نسبت دادند. با گذشت دوره‌ی رسیدن در صد ماده خشک در همه تیمارهای دمایی افزایش یافت. ماده‌ی خشک در نمونه‌های پنیر نگهداری شده در دمای  $19^{\circ}\text{C}$  در تمام طول رسیدن به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بالاتر از نمونه‌های پنیر نگهداری شده در  $3^{\circ}\text{C}$  دمای داری دیگر بود. در مورد پنیرهای رسیده در دمای  $19^{\circ}\text{C}$  به علت بالا بودن دمای رسیدن، از دست دادن رطوبت، از ۳ تیمار دیگر بیشتر بوده و از این رو افزایش ماده‌ی خشک در اثر از دست دادن رطوبت در این دما از شدت بیشتری برخوردار بوده است. در مورد ۳ تیمار دمایی  $9^{\circ}, 13^{\circ}$  و  $15^{\circ}\text{C}$  به علت پایین تر بودن دما در طول دوره‌ی رسیدن، از دست دادن رطوبت کمتر بوده و روند افزایش در صد ماده‌ی خشک ملایم تر از تیمار دمایی  $19^{\circ}\text{C}$  بوده است. یکی از عوامل مؤثر در تغییرات ماده‌ی خشک پنیر در طی دوره‌ی رسیدن، تغییرات رطوبتی می‌باشد. تغییرات رطوبتی در اثر انتقال رطوبت از مرکز قالب پنیر به سطح و سپس به داخل آب نمک می‌باشد. پس از اینکه قالب‌های پنیر در داخل آب نمک قرار گرفتند، یک فرایند انتشار متقابل دینامیکی آغاز می‌شود.  $\text{NaCl}$  فشار اسمزی بالایی ایجاد می‌کند به طوری که نمک از محیط به داخل بافت پنیر حرکت می‌نماید، در حالی که آب به بیرون از ماتریکس کازئینی و به داخل آب انتشار پیدا می‌کند (Guinee and Fox, 2004). نتایج به دست آمده در این تحقیق در ارتباط با افزایش ماده‌ی خشک با گذشت دوره‌ی رسیدن، با نتایج تحقیق میرزایی و علیقلی نژاد (۱۳۹۰) که تغییرات ویژگی‌های شیمیایی پنیر لیقوان را در طول  $90$  روز رسیدن بررسی کردند، مطابقت دارد. Aminifar و همکاران (۲۰۱۴) نیز در بررسی پروتولیز و تشکیل ترکیبات فرار پنیر لیقوان نگهداری شده در دمای  $10^{\circ}\text{C}$  به مدت  $90$  روز گزارش کردند که ماده خشک پنیر تا روز  $90$  ام افزایش پیدا کرده است.

تأثیر دما بر مقدار جذب نمک معنی دار نبود و از نظر در صد نمک در نمونه‌های نگهداری شده در  $4^{\circ}\text{C}$  مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. در صد نمک در همه‌ی تیمارها در طول رسیدن افزایش یافت و در انتهای دوره رسیدن در همه‌ی تیمارها نسبت به روزهای ابتدایی به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ )

pH نمونه‌های پنیر نگهداری شده در هر چهار دما، تا روز  $60$  ام روند کاهشی داشت و تا روز  $60$  ام رسیدن اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید. روند کاهشی pH در نمونه‌های پنیر نگهداری شده در دو دمای  $9^{\circ}$  و  $13^{\circ}\text{C}$  تا روز  $120$  ام ادامه داشت، ولی از روز  $60$  ام به بعد pH در نمونه‌های پنیر نگهداری شده در دو دمای  $15^{\circ}$  و  $19^{\circ}\text{C}$  افزایش پیدا کرد. در روزهای  $90$  و  $120$  ام pH نمونه‌های پنیر نگهداری شده در این دو طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بالاتر از نمونه‌های دیگر بود.

در پایان دوره‌ی رسیدن بیشترین و کمترین pH به ترتیب مربوط به تیمارهای ذخیره شده در دمای  $19^{\circ}\text{C}$  یا  $9^{\circ}\text{C}$  بود. کاهش pH یا افزایش اسیدیته‌ی نمونه‌های پنیر در طی ماههای اول دوره‌ی رسیدن، ناشی از تکمیل نسبی تخمیر لاکتوز، تولید اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب می‌باشد. تولید اسیدهای چرب حتی تا  $90$  روزگی ادامه می‌پیدا می‌کند. اما با این حال نقش غالب در کاهش pH یا افزایش اسیدیته، مربوط به تولید اسید لاکتیک می‌باشد (Guinee and Fox, 2004).

میرزایی و علیقلی نژاد (۱۳۹۰) نیز ضمن مطالعه تغییرات ویژگی‌های شیمیایی پنیر لیقوان در طول مراحل تولید و رسیدن، کاهش pH را در طول  $90$  روز دوره رسیدن پنیر لیقوان گزارش کردند. Psoni و همکاران (۲۰۰۳) نیز خصوصیات میکروبی پنیر سنتی باتزس<sup>۱</sup> تولید شده از شیر خام بز را بررسی کرده و کاهش pH را در طول  $180$  روز دوره‌ی ذخیره سازی گزارش کردند.

روند افزایشی pH در پنیرهای رسیده در دمای  $15^{\circ}$  و  $19^{\circ}\text{C}$  می‌توان به پروتولیز شدیدتر در این دمایا نسبت داد. تشکیل ترکیبات قلیایی مانند آمونیاک در اثر پروتولیز شدیدتر، بیشتر بوده که این ترکیبات باعث افزایش pH می‌گردد (Guinee and Fox, 1993).

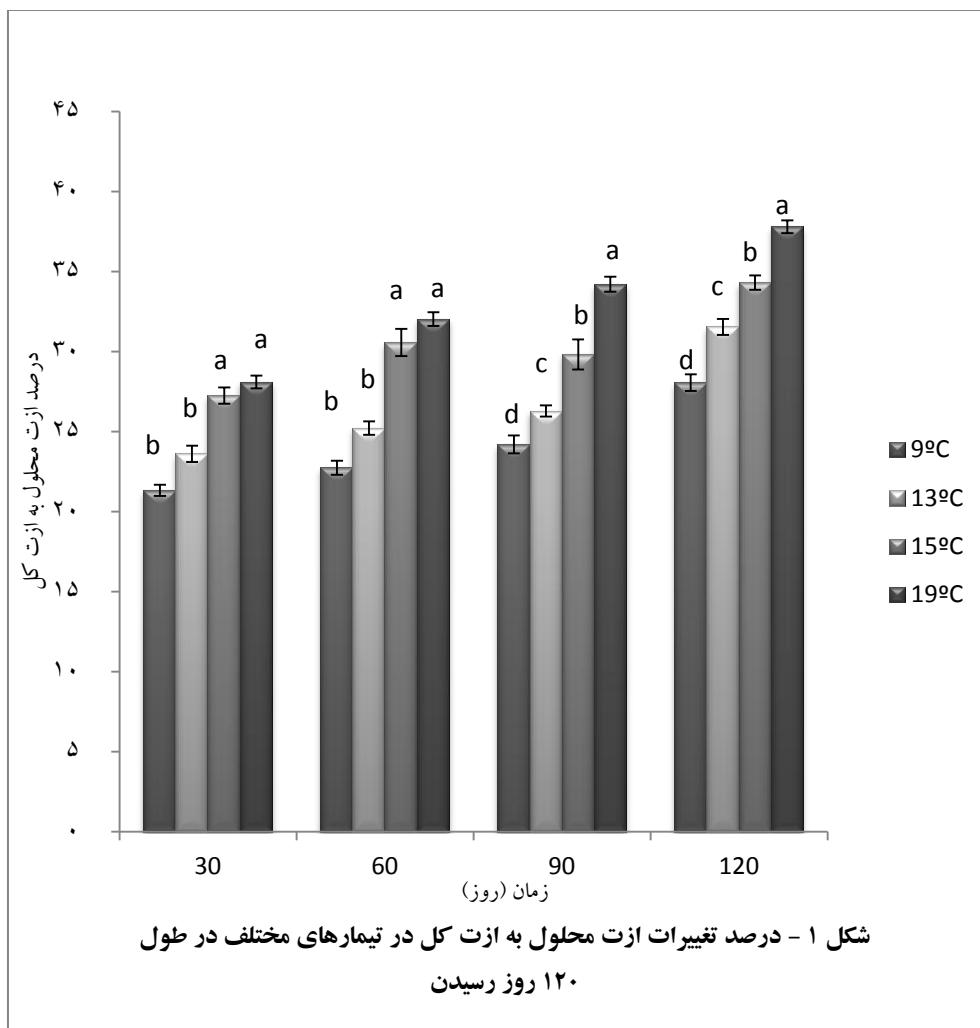
Nuñez و همکاران (۱۹۸۵) نیز علت روند صعودی pH در پنیرهای Manchego رسیده در دمای  $15^{\circ}$  و  $20^{\circ}\text{C}$  را به پروتولیز بالاتر نسبت به نمونه پنیرهای رسیده در دمای  $5^{\circ}\text{C}$

تأثیر دما بر مقدار پروتئین معنی دار نبود و نمونه های پنیر نگهداری شده در ۴ دمای، ۹، ۱۳، ۱۵ و ۱۹°C اختلاف معنی داری را از نظر درصد پروتئین در طول ۱۲۰ روز دوره‌ی رسیدن نشان ندادند.

### تغییرات ازت محلول در طی دوره‌ی رسیدن

سطوح ازت محلول در  $pH = 4/6$  به صورت درصدی از ازت کل در طول ۱۲۰ روز دوره‌ی رسیدن در شکل ۱ نشان داده شده است. درصد ازت محلول در  $pH = 4/6$  به ازت کل یکی از شاخص‌های رسیدن پنیر است و عمدتاً توسط رنت و پلاسمین تولید می‌گردد (Molina et al., 1999).

افزایش پیدا کرد. وقتی پنیر در آب نمک قرار می‌گیرد، به دلیل اختلاف فشار اسمزی بین رطوبت پنیر و آب نمک، مولکول‌های  $NaCl$  به صورت یون‌های  $Na^+$  و  $Cl^-$  وارد بافت پنیر شده و در نتیجه میزان نمک تا پایان دوره رسیدن افزایش می‌یابد. میرزایی و علیقلی نژاد (۱۳۹۰)، Aminifar و همکاران (۲۰۱۴)، Shahab Lavasani و همکاران (۲۰۱۱) نیز افزایش درصد نمک را با گذشت زمان در طول ۹۰ روز دوره رسیدن پنیر لیقوان گزارش کردند.



محلول در  $pH = 4/6$  در پنیرهای Manchego تولید شده از شیر خام، پس از ۴ ماه رسیدن در دمای  $16^{\circ}C$ ، به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از مقدار این شاخص در نمونه پنیر کنترل نگهداری شده در دمای  $8^{\circ}C$  بود. Folkertsma و همکاران (۱۹۹۶) نیز ضمن بررسی تسریع رسیدن پنیر چدار در درجه حرارت های بالاتر، نتیجه گیری کردند که ازت محلول در  $pH = 4/6$  با افزایش درجه حرارت رسیدن به  $12^{\circ}C$  یا  $16^{\circ}C$  نسبت به نمونه های رسیده در دمای  $8^{\circ}C$  به طور قابل ملاحظه ای افزایش پیدا کرد.

### ارزیابی حسی نمونه های پنیر

نتایج ارزیابی حسی شامل طعم، عطر، بافت و پذیرش کلی تیمارهای پنیر لیقوان در روز  $120$  ام رسیدن در جدول  $2$  نشان داده شده است. نمودار مربوطه نیز در شکل  $2$  قابل رویت است. اثر دما بر خواص حسی نمونه های پنیر معنی دار بود و بین تیمارهای مختلف پنیر از نظر ویژگی های حسی تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) مشاهده گردید. از نظر طعم، بو، بافت و پذیرش کلی، نمونه های پنیر نگهداری شده در دمای  $15^{\circ}C$  اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) با سایر نمونه های پنیر داشتند و بیشترین امتیازات ویژگی های حسی را به خود اختصاص دادند. از نظر ویژگی بافت بین تیمارهای نگهداری شده در دماهای  $13$  و  $15^{\circ}C$  اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در نمونه های پنیر نگهداری شده در دمای  $19^{\circ}C$  به علت ایجاد طعم تلخ ناشی از تولید پیتیدهای تلخ و بافتی نرم در اثر پروتئولیز بالا، امتیازات مربوط به طعم، عطر، بافت و پذیرش کلی به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) پایین تر از سایر تیمارهای دمایی بود. امتیازات پذیرش کلی در نمونه های نگهداری شده در دماهای  $9$ ،  $13$ ،  $15$  و  $19^{\circ}C$  به ترتیب  $3/10$ ،  $3/60$ ،  $4/80$  و  $2/50$  بودند. بعد از تیمار دمایی  $15^{\circ}C$ ، بیشترین امتیازات ویژگی های حسی به تیمار  $13^{\circ}C$  تعلق گرفت و بین این تیمار و تیمارهای دیگر از نظر امتیازات حسی اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). پنیرهای رسیده در دمای  $9^{\circ}C$  به علت پروتئولیز پایین تر دارای شدت عطر و طعم پایین تر بودند.

همان طور که در شکل  $1$  مشاهده می گردد، نسبت ازت محلول به ازت کل (شاخص پروتئولیز و فاکتور رسیدن) در همه نمونه های پنیر نگهداری شده در دماهای مختلف در طول  $120$  روز دوره ای رسیدن افزایش یافت، ولی سرعت افزایش آن در نمونه های پنیر نگهداری شده در دمای  $19^{\circ}C$  بیشتر از  $3$  تیمار دیگر بود. در تمام طول دوره ای رسیدن، مقادیر ازت محلول در  $pH = 4/6$  در نمونه های پنیر نگهداری شده در دماهای  $19^{\circ}C$  و  $9^{\circ}C$  به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. در روزهای  $30$  و  $60$  ام دوره ای رسیدن مقدار این شاخص در تیمارهای دمایی  $15$  و  $19^{\circ}C$  به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) بالاتر از دو تیمار دیگر بود. در روزهای  $60$  و  $120$  ام دوره ای رسیدن، بین هر  $4$  تیمار از نظر این شاخص اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) مشاهده گردید و نمونه های پنیر ذخیره شده در دمای  $19^{\circ}C$  به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) دارای ازت محلول بیشتری نسبت به  $3$  تیمار دیگر بودند.

عواملی که باعث رسیدن پنیرمی شوند عبارتند از: مایه پنیر باقی مانده در پنیر، آنزیم های مایه کشت میکروبی، میکروفلورثانوی و آنزیم های طبیعی شیر به ویژه پروتئازها و لیپازها. با توجه به اینکه فعالیت آنزیمی و فعالیت میکرووارگانیسم ها با بالا رفتن دما، افزایش می یابد، لذا شدت پروتئولیز نیز با افزایش دمای رسیدن، سرعت بیشتری می یابد. بنابراین در تمام طول رسیدن، شدت پروتئولیز در تیمارهای رسیده در دو دمای  $15$  و  $19^{\circ}C$  نسبت به دماهای  $9$  و  $13^{\circ}C$  بیشتر بود. Shahab و Aminifar (۲۰۱۰) و Lavasani و همکاران (۲۰۱۲) طی مطالعه ای تغییرات فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیکی پنیر لیقوان، افزایش درصد ازت محلول در  $pH = 4/6$  را در طول  $90$  روز رسیدن گزارش کردند. Tarakci و Kucukoner (۲۰۰۶) در بررسی پروتئولیز پنیر ترکی Kashar افزایش این شاخص را در طول  $90$  روز رسیدن گزارش کردند. نتایج به دست آمده از اندازه گیری ازت محلول در  $pH = 4/6$  در تحقیق حاضر، با گزارش Gaya و همکاران (۱۹۹۰) و Folkertsma و همکاران (۱۹۹۶) مطابقت دارد. Gaya و همکاران (۱۹۹۰) گزارش نمودند که مقادیر ازت

#### جدول ۴- ویژگی‌های حسی تیمارهای مختلف پنیر لیقوان در روز ۱۲۰ ام دوره رسیدن

ویژگی‌های حسی				
پذیرش کلی	بافت	بو	طعم	دما نگهداری (C°)
۳/۱۰±۰/۵۷ <sup>c</sup>	۳/۸۰±۰/۵۷ <sup>b</sup>	۳/۳۳±۰/۵۷ <sup>c</sup>	۳/۱۰±۰/۵۷ <sup>c</sup>	۹
۳/۶۰±۰/۵۷ <sup>b</sup>	۴/۳۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۳/۹۰±۰/۵۷ <sup>b</sup>	۳/۸۰±۰/۵۷ <sup>b</sup>	۱۳
۴/۸۰±۰/۵۷ <sup>a</sup>	۴/۷۵±۰/۵۷ <sup>a</sup>	۴/۵۰±۰/۵۷ <sup>a</sup>	۴/۶۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۵
۲/۵۰±۰/۵۰ <sup>d</sup>	۳/۰۰±۰/۵۰ <sup>c</sup>	۳/۲۵±۰/۵۷ <sup>c</sup>	۳/۰۰ ±۰/۵۷ <sup>c</sup>	۱۹

حروف غیر مشابه در هرستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار ( $P < 0.05$ ) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

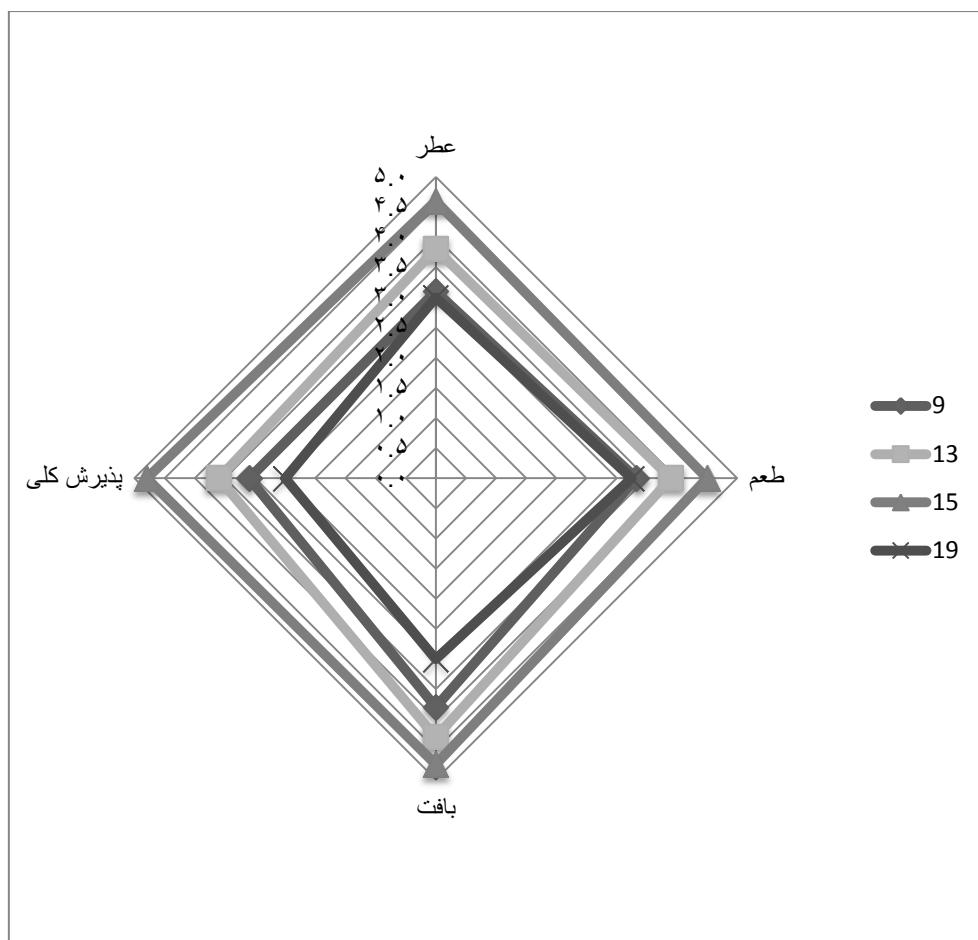
#### توصیه‌ی ترویجی

افزایش درجه‌ی حرارت رسیدن، روش مناسبی جهت کاهش طول مدت رسیدن و کاهش هزینه‌های تولید و انبارداری پنیر می‌باشد. در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق دمای مناسب جهت تسريع در رسیدن بدون ایجاد معایب بافتی و حسی و کاهش راندمان، استفاده از درجه حرارت  $15 \pm 1^\circ\text{C}$  می‌باشد. استفاده از دماهای بالاتر به علت ایجاد معایب بافتی و حسی در تسريع رسیدن این پنیر توصیه نمی‌شود.

#### سپاسگزاری

از مؤسسه‌ی تحقیقات علوم دامی کشور به جهت تأمین بودجه اجرای این طرح پژوهشی تشکر و قدردانی می‌شود.

با پیشرفت پروتئولیز، ترکیباتی با وزن مولکولی پایین شامل پیتید‌ها و اسید‌های آمینه آزاد ایجاد می‌گردند، که این ترکیبات نقش مهمی را در بو و مزه‌ی پنیر ایفا می‌کنند (Sihufe et al., 2006). در دماهای پایین‌تر، شدت پروتئولیز و در نتیجه تولید ترکیبات مولد بو و مزه، کمتر می‌باشد. بنابراین طبیعی است که در پنیرهای رسیده در دماهای  $9^\circ\text{C}$ ، تولید مواد مولد بو و مزه که باعث طعم مخصوص پنیر می‌گردد، کمتر بوده و امتیاز کمتری را کسب کردن. از طرفی در تیمار  $19^\circ\text{C}$  به علت شدت پروتئولیز بالاتر، تولید پیتیدهای تلخ و نرم شدن بافت بیش از حد بود و بنابراین کمترین امتیازات ویژگی‌های حسی به این تیمار تعلق گرفت.



شکل ۲ - ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف پنیر لیقوان در روز ۱۲۰ م دوره رسیدن

## منابع

Aminifar, M., Hamedi, M., Emam-Djomeh, Z. and Mehdinia, A. (2014). Investigation on proteolysis and formation of volatile compounds of Lighvan cheese during ripening. Jurnal of Food Science and Technology, 51(10):2454–2462.

Aminifar, M., Hamedi, M., Emam-Djomeh, , Z. and Mehdinia, A. (2010). Microstructural, Compositional and textural properties during ripening of Lighvan Cheese, a traditional raw sheep cheese. Journal of Texture Studies, 41: 579–593.

میرزایی، ح. و علیقلی نژاد، ع. (۱۳۹۰). مطالعه تغییرات ویژگی های شیمیایی پنیر لیقوان در طول مراحل تولید و دوره رسیدن. مجله دامپژوهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۲، شماره ۵، پیاپی ۱۸. صفحات ۱۱۶۸ - ۱۱۶۱.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۶۶). روش تعیین اسیدیته کل و pH در پنیر، استاندارد ملی ایران، شماره ۲۸۵۲.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۸). روش ارزیابی حسی پنیر، استاندارد ملی ایران، شماره ۴۹۳۸.

- Folkertsma, B., Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H. (1996). Accelerated Ripening of Cheddar Cheese at Elevated Temperatures. International Dairy Journal, 6: 1117-1134.
- Fox, P.F., Wallace, J.M., Morgan, S., Lynch, C.M., Nil, E.J. and Tobin, J. (1996). Acceleration of cheese ripening. Antonie van Leeuwenhoek, 70:271-297.
- Gaya, P., Medina, M., Rodriguez-Marin, M.A. and Nunez, M. (1990). Accelerated Ripening of Ewes' Milk-Manchego Cheese: The Effect of Elevated Ripening Temperatures. Journal of Dairy Science, 73: 26-32.
- Grappin R., Rank T.C. and Olson N.F. (1985). Primary proteolysis of cheese proteins during ripening: a review, Journal of Dairy Science, 68: 531– 540.
- Guinee, T.P., and Fox, P.F. (2004). Salt in cheese: Physical, Chemical and biological aspects, In PF. Fox (Ed.), Cheese: chemistry, physics and microbiology, Third edition, general aspects(Vol. 1, pp. 207–259). London: Chapman and Hall.
- Guinee, T.P., and Fox, P.F. (1993). In PF. Fox (Ed.), Cheese: chemistry, physics and microbiology, general aspects (Vol. 1,pp. 257–302). London: Chapman and Hall.
- Hannon, J. A., Wilkinson, M. G., Delahunty, C. M., Wallace, J. M., Morrissey, P. A. and Beresford, T. P. (2005). Application of descriptive sensory analysis and key chemical indices to assess the impact of elevated ripening temperatures on the acceleration of Cheddar cheese ripening. International Dairy Journal, 15: 263–273.
- IDF. (1993). Determination of nitrogen content, standard 20B. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF. (1982). Determination of the total solid content (cheese and processed cheese). IDF Standard 4a, Int Dairy Fed., Brussels, Belgium.
- Kuchroo, C.N. and Fox. P.F. (1982). Soluble nitrogen in cheddar cheese: Comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 37:331–335.
- Marshall, T.R. (2005). Standard methods for the examination of dairy products(450 pp.). Washington, DC: American Public Health Association.
- McSweeney, P.L.H. ( 2004). Biochemistry of cheese ripening: Introduction and overview, In P.F. Fox (Ed.), Cheese: chemistry, physics and microbiology, Third edition, general aspects (Vol. 1, pp. 347–360). London: Chapman and Hall.
- Molina, E., Ramos, M., Alonso, L., and Lopez-Fandino, R. (1999). Contribution of low molecular weight water soluble compounds to the taste of cheeses made of cows, ewe's and goat's milk International Dairy Journal, 9: 613-621.
- Nuñez, M., Gaya, P. and Medina, M. (1985). Influence of Manufacturing and Ripening Conditions on the Survival of Enterobacteriaceae in Manchego Cheese. Journal of Dairy Science, 68:794-800.
- Pachlova, V., Bun'ka, F., Bun'kova, L., Weiserova, E., Budinsky', P. and Z'aludek, M. ( 2011). The effect of three different ripening/storage conditions on the distribution of selected parameters in individual parts of Dutch-type cheese. International Journal of Food Science and Technology, 46: 101–108.
- Psoni, L., Tzanetakis, N. and Litopoulou-Tzanetaki, E. (2003). Microbiological characteristics of batzos, a traditional Greek cheese from raw goat's milk. Food Microbiology, 20: 575-582.
- Shahab Lavasani, A., Ehsani, M.R., Mirdamadi, S. and Ebrahimzadeh Mousavi, M.A. (2011). Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. International Journal of Dairy Technology, 65: 64-70.
- Sihufe, G.A., Zorrilla, S.E. and Rubiolo, A.C. (2006). Secondary proteolysis of Fynbos cheese salted with NaCl/KCl brine and ripened at various temperatures. Food Chemistry, 96: 297-303.



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

Tarakci, Z., and Kucukoner, E. (2006). Changes in physicochemical, lipolysis and proteolysis of vacuum-packed Turkish Kashar cheese during ripening. Journal of Central European Agriculture, 7: 459–469.