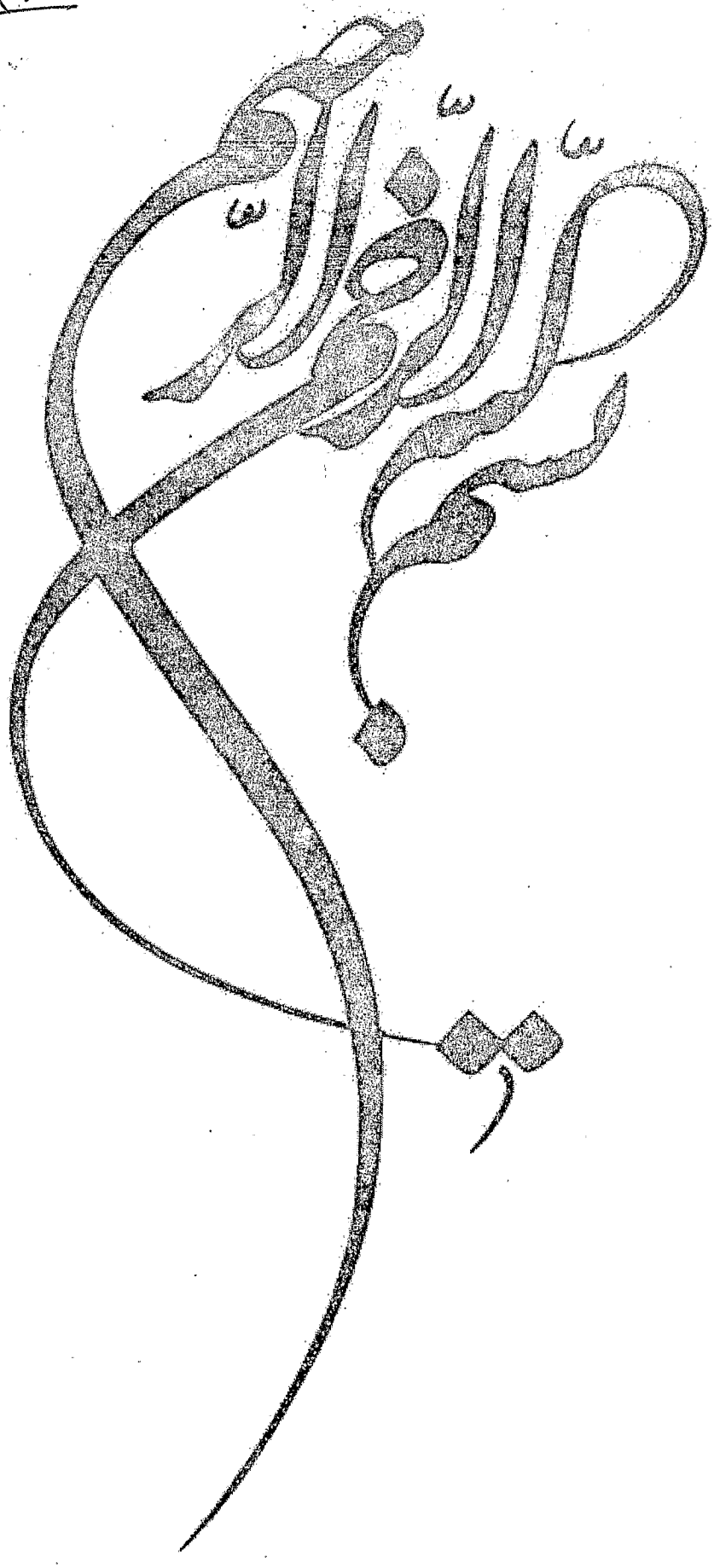
٨٧/١/١٥٦٦٤٧
٨٧/١٢/٢١



١٠٩٠٩١

۸۷/۱/۰۶۹۴۷
۸۷_۱۲_۲۱

دانشکده دامپزشکی

سال تحصیلی : ۱۳۸۸ – ۱۳۸۷

شماره پایان نامه :۴۱-۱

پایان نامه :

جهت اخذ دکتری تخصصی دامپزشکی در رشته بهداشت مواد غذایی

عنوان :

# بهینه سازی فاکتورهای فراوری به منظور کاهش آمینهای بیوژنیک در پنیر سفید ایرانی

نگارنده:

جواد علی‌اکبرلو

اساتید راهنما :

- آقای پروفسور سید مهدی رضوی روحانی، استاد راهنمای اول و رئیس هیئت داوران (استاد)
- آقای دکتر محمد علیزاده، استاد راهنمای دوم ( استادیار )
- آقای دکتر ناصر آق، استاد مشاور ( استادیار )
- آقای دکتر خلیل فرهادی، استاد مشاور ( دانشیار )
- آقای پروفسور محمود امین لاری، داور خارجی ( استاد )
- آقای دکتر محمد حسن انصاری، داور خارجی ( دانشیار)
- آقای دکتر حسین تاجیک، داور داخلی ( دانشیار )
- آقای دکتر علی احسانی، داور داخلی ( استادیار )

۱۳۸۷/۱۲/۱۰

۱۰۹۰۹۱

عنوان موضوع | شماره صفحه


خلاصه فارسی

**فصل اول- مقدمه** ..... ۱

**فصل دوم- کلیات** ..... ٤

۲-۱- پنیر از دیدگاه تغذیه ای ..... ٥

۲-۱-۱- چربی پنیر ..... ٥

۲-۱-۲- پروتئین ..... ٥

۲-۱-۳- لاکتوز و اسید لاکتیک ..... ٦

۲-۱- ٤- مواد معدنی ..... ٦

۲-۱- ٥- ویتامینها ..... ٦

۲-۲-۱- پنیرهای سفید آب نمکی ..... ٦

۲-۲-۲- تعریف پنیر سفید آب نمکی در استاندارد ایران ..... ۷

۲-۳-۱- فرآیند ساخت پنیر ..... ۷

۲-۳-۱-۱- شیر ماده اصلی پنیر سازی ..... ۹

۲-۳-۱-۱-۱- پروتئینهای عمده شیر ..... ۹

۲-۳-۱-۱-۲- لیپیدهای شیر ..... ۱۲

۲-۳-۱-۱-۳- کربوهیدراتهای شیر ..... ۱۳

۲-۳-۱-۲- انعقاد ..... ۱۳

۲-۳-۱-۲-۱- انعقاد آنزیمی ..... ۱٤

۲-۳-۱-۲-۲- انعقاد اسیدی ..... ۱٥

۲-۳-۱-۳- آنزیم های لخته کننده شیر ..... ۱٥

۲-۳-۱-۳-۱- مایه پنیر حیوانی ..... ۱٦

۲-۳-۱-۳-۲- پروتئازهای میکروبی ..... ۱۷

۲-۳-۱-۳-۳- پروتئازهای گیاهی ..... ۱۸

۲-۳-۱-٤- آبگیری ..... ۱۸

۲-۳-۱- ٥- نمک زنی ..... ۱۸

۲-۳-۱- ٥-۱- نقش نمک ..... ۱۹

۲-۳- ۱- ٦- رسیدن پنیر ..... ۱۹

۲-۳-۱- ٦-۱- فاکتورهای موثر در رسیدن پنیر ..... ۲۰

۲-۳-۱- ٦-۲- واکنشهای مهم دوران رسیدن ..... ۲٤
۲-۳-۱- ٦-۳- رسیدن پنیر سفید آب نمکی ..... ۲۷
۲-۲- آمین های بیوژنیک ..... ۲۹
۲-۲-۱- میکروارگانیسم های دخیل ..... ۳۰
۲-۲-۲- فاکتورهای موثر در تولید آمین های بیوژنیک ..... ۳۲
۲-۲-۳- حضور و اهمیت آمین ها در مواد غذایی ..... ۳۲
۲-۲-٤- آمینهای بیوژنیک در پنیر ..... ۳۳
۲-۲- ٤- اثرات توکسیکولوژیکی ..... ۳۵
۲-۲- ٥- روش های تجزیه ای ..... ۳٦
۲-۳- روش سطح پاسخ(RSM) ..... ۳۷
۲-۳-۱- طرحهای CCD ..... ۳۸
۲-۳-۲- طرح Box-Behnken ..... ٤۳
۲-۳-۳- شاخصهای ارزیابی مدلهای سطح پاسخ ..... ٤٤
۲-۳-٤- تعیین شرایط بهینه در طرح های RSM ..... ٤۸
**فصل سوم- مواد و روشها** ..... ٥۰
۳-۱- مواد و محلولهای مورد نیاز ..... ٥۱
۳-۲- طرح آزمایش ..... ٥۱
۳-۳- روش تهیه پنیر ..... ٥۳
۳-٤- آزمایشهای فیزیکی و شیمیایی ..... ٥٤
۳-٤-۱- اندازه گیری ماده خشک ..... ٥٤
۳-٤-۲- اندازه گیری نمک پنیر ..... ٥٥
۳-٤-۳- اندازه گیری ازت کل ..... ٥٥
۳-٤-٤- اندازه گیری ازت محلول در آب ..... ٥٥
۳-٤-٥- اندازه گیری ازت محلول در تری کلرواستیک اسید ..... ٥٥
۳-٤- ٦- ازت محلول در فسفو تنگستیک اسید ..... ٥٥
۳-٤-۷- اندازه گیری مقدار کل اسیدهای چرب آزاد ..... ٥٦
۳- ٥- ارزیابی حسی ..... ٥٦
۳- ٦- اندازه گیری آمین های بیوژنیک با HPLC ..... ٥۸

فصل چهارم- نتایج ..... ٦٠
نتایج مرحله اول ..... ٦١
نتایج مرحله دوم ..... ٦٤
٤-١- آمین های بیوژنیک ..... ٦٤
٤-٢- درصد کل اسیدهای چرب آزاد ..... ٦٨
٤-٣- ازت محلول در تری کلرواستیک اسید ..... ٧١
٤-٤- ازت محلول در فسفوتنگستیک اسید ..... ٧٤
٤- ٥- میزان نمک ..... ٧٦
٤- ٦- ویژگی حسی ..... ٧٨
**فصل پنجم- بحث** ..... ٨١
**فصل ششم- منابع** ..... ٨٩
خلاصه انگلیسی

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

که همواره در طول زندگی حامی و مشوقم بوده اند.

تقدیم به همسر مهربانم

که لحظه لحظه زندگیم با حضور او معنی می یابد.

با تشکر و سپاس از خانواده محترم همسرم،
بواسطه تمامی محبت هائی که نسبت به من ابراز نموده اند.

با تقدیر و تشکر از اساتید گرامی :
جناب آقای پروفسور سید مهدی رضوی روحانی، استاد راهنمای اول (استاد دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه)
جناب آقای دکتر محمد علیزاده، استاد راهنمای دوم (استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه)
جناب آقای دکتر ناصر آق، استاد مشاور ( استادیار پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی، دانشگاه ارومیه)
جناب آقای دکتر خلیل فرهادی، استاد مشاور ( دانشیاردانشکده علوم، دانشگاه ارومیه)
جناب آقای پروفسور محمود امین لاری، داور خارجی ( استاد دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز)
جناب آقای دکتر محمد حسن انصاری، داور خارجی ( دانشیار دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه)
جناب آقای دکتر حسین تاجیک، داور داخلی (دانشیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه)
جناب آقای دکتر علی احسانی، داور داخلی (استادیاردانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه)

و با تشکر از مهندس وهاب زاده و تمام کسانیکه به نحوی در انجام کارهای این پایان نامه مرا یاری نمودند.

چکیده

در مرحله اول این مطالعه، اثرات همزمان فاکتورهای فراوری مثل زمان رسیدن (۶۰-۲۰ روز) ، درجه حرارت رسیدن (۱۰-۵ درجه )، سطح رنت افزوده شده (۲-۱ گرم بر ۱۰۰ کیلوگرم شیر )، سطح استارتر(۳-۱ درصد )، غلظت آب نمک (۱۶- ۱۲ درصد وزنی- حجمی) و نوع نمک(NaCl , % 25 KCl+%75 NaCl ) بر تولید آمینهای بیوژنیک در پنیر سفید ایرانی مورد تحقیق قرار گرفت. چهار آمین بیوژنیک یعنی هیستامین، تیرامین ، کاداورین و پوترسین بوسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا ( HPLC ) اندازه گیری شدند. مقدار کاداورین بالاتر از سایر آمینهای بیوژنیک بود. در بین فاکتورهای مورد مطالعه ، زمان رسیدن ، دمای رسیدن و غلظت آب نمک مهمترین فاکتورها بودند. مقادیر آمینهای بیوژنیک با افزایش زمان و درجه حرارت رسیدن افزایش یافت ، در حالیکه غلظت آب نمک اثر منفی بر مقادیر آمینهای بیوژنیک داشت.

در مرحله دوم ، با کاربرد روش سطح پاسخ (Response surface methodology) اثرات سه فاکتور زمان رسیدن (۲۵ ، ۵۰ و ۷۵ روز) ، درجه حرارت رسیدن (٤ ، ۹ و ١٤ درجه ) و غلظت آب نمک (۱۰ ،۱۳ و ١٦ درصد وزنی- حجمی ) بر تولید آمینهای بیوژنیک ، پروتئولیز(NPN/TN و PTA-SN/TN ) ، مقدار اسیدهای چرب آزاد ، مقدار نمک و امتیاز حسی با هدف بهینه سازی آمینهای بیوژنیک در پنیر سفید ایرانی مورد مطالعه قرارگرفت.

سطح بالای دمای رسیدن نسبت به سطح پایین آن بطور معنی داری مقادیر بیشتری از آمین ها را تولید کرد. در سطح پایین دمای رسیدن، با گذشت زمان مقدار کل آمینها کاهش یافته و در روز ۵۰ رسیدن به حداقل رسید و سپس افزایش قابل توجهی را نشان داد.

بطور کلی مقادیر آمینهای بیوژنیک نسبتا" پایین بود. به نظر میرسد ویژگیهای اختصاصی پنیر سفید ایرانی ( مقدار نمک بالا، رسیدن و نگهداری در آب نمک، پروتئولیز گسترش نیافته ) محیط مساعدی را برای تولید و تجمع آمین های بیوژنیک فراهم نمی آورد.

درسطح پایین دمای رسیدن، با افزایش غلظت آب نمک مقدار اسیدهای چرب آزاد کاهش یافت، در حالیکه درسطح بالای دمای رسیدن، با افزایش غلظت آب نمک مقدار اسیدهای چرب آزاد افزایش یافت.

هم در سطح پایین و هم در سطح بالای دمای رسیدن، با افزایش زمان رسیدن مقدار اسیدهای چرب آزاد افزایش یافت و این افزایش در دماهای بالاتر، بیشتربود.

در سطح پایین دمای رسیدن، با افزایش غلظت آب نمک درصد NPN/TN کاهش یافت، در حالیکه درسطح بالای دمای رسیدن، با افزایش غلظت آب نمک درصد NPN/TN افزایش یافت.

با افزایش غلظت آب نمک درصد PTA-SN/TN کاهش یافت. با گذشت زمان رسیدن درصد PTA-SN/TN افزایش پیدا کرد.

با افزایش غلظت آب نمک درصد نمک پنیر افزایش یافت.

درسطح پایین زمان رسیدن، با افزایش غلظت آب نمک امتیاز حسی کاهش یافت در حالیکه درسطح بالای زمان رسیدن، با افزایش غلظت آب نمک امتیاز حسی افزایش پیدا نمود.

در سطح پایین دمای رسیدن، با گذشت زمان امتیاز حسی تغییر چندانی نکرد ولی در سطح بالای دما، با گذشت زمان امتیاز حسی کاهش پیدا کرد.

بعد از مدل سازی هرکدام از ویژگیهای ذکر شده در قسمت بالا به عنوان تابعی از سه متغیر فرآوری مورد مطالعه، شرایط کاهش میزان آمینهای بیوژنیک در پنیر ایرانی بصورت زیر مشخص گردید:

دمای رساندن : ١٤-٩ درجه سانتیگراد،

زمان رساندن: ٦٥-٤٣ روز،

غلظت آب نمک: ١٣ درصد وزنی- حجمی

**کلید واژه ها :** آمینهای بیوژنیک، پنیر سفید ایرانی، بهینه سازی، کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا ( HPLC ).

# فصل اول

## مقدمه

## Introduction

مقدمه

آمین های بیوژنیک باز های آلی با وزن مولکولی پایین هستند که فعالیت بیولوژیکی دارند و عمدتا از طریق دکربوکسیلاسیون آنزیمی اسیدهای آمینه توسط میکروارگانیسم ها تولید می شوند (Halasz et al., 1994). این آمین ها در مواد غذایی مختلفی یافت می شوند.پنیر یک محیط ایده آل را برای تولید محصولات پروتئولیتیک یعنی اسیدهای آمینه آزاد و آمینهای بیوژنیک فراهم می‌نماید که مستقیما بوسیله فعالیت باکتریائی، اثرات سینرژیستی ما بین میکروارگانیسم ها، pH ، غلظت نمک، و بطور غیر مستقیم توسط در دسترس بودن آب، درجه حرارت نگهداری و زمان رسیدن تحت تاثیر قرار می گیرد(Vale & Gloria,1997).

حضور و تجمع آمین های بیوژنیک به فاکتورهای زیادی مثل حضور باکتریهای اختصاصی (انتروکوکوسی و لاکتوباسیلی) و حضورآنزیمهای اختصاصی، سطح یا مقدار پروتئولیز (در دسترس بودن سوبسترا یعنی اسیدهای آمینه آزاد)، حضور کوفاکتور مناسب، وجود یک محیط مناسب در پنیر (pH بالا، رطوبت بالا، درجه حرارت بالا، نمک پایین)، نوع پنیر، دوره رسیدن ودوره نگهداری بستگی دارد (Petridis & Steinhart,1996).

هیستامین، تیرامین ، پوتریسین، تریپتامین، کاداورین و۲- فنیل اتیل آمین در انواع مختلف پنیر یافت شده اند(Santos,1996). حضور این ترکیبات در پنیر می تواند باعث برخی مشکلات مثل تهوع ، ناراحتی تنفسی، قرمزی صورت، عرق کردن، تپش قلب، سردرد، راش های قرمز روشن ، سوزش دهانی، افزایش یا کاهش فشار خون در مصرف کنندگان حساس گردد. اثرات سمی و فیزیولوژیکی نامطلوب به حساسیت فردی ، مصرف همزمان الکل ، مصرف برخی از داروها (داروهای مهارکننده مونوآمین اکسیداز) و تقویت توسط سایر آمینها بستگی دارد (Stratton et al., 1991).

پس از ماهی، پنیر معمولترین غذای درگیر با مسمومیت هیستامین می باشد و تقویت کننده های احتمالی آن کاداورین و پوتریسین پیشنهاد شده اند(Stratton et al.,1991). علاوه بر اثرات سمی برای اشخاص حساس ، آمین های بیوژنیک با فساد غذا هم مرتبط هستند و به عنوان نشانگرهای درجه تازگی یا فساد غذا به کار می روند (Leuschner et al.,1999). از این گذشته ، برخی از آمین های بیوژنیک جهت تشکیل نیتروزامین های کارسینوژن با نیتریت واکنش میدهند(Shalaby,1996).

در بین فرآورده های شیر، پنیر از جایگاه ویژه ای برخوردار است و تولید جهانی آن روند صعودی دارد. در کشور ما نیز با تاسیس واحدهای صنعتی جدید و تبدیل کارگاههای کوچک و واحدهای نیمه صنعتی قدیمی به واحدهای صنعتی میزان تولید پنیر در سالهای اخیر افزایش یافته است. در ایران، پنیر سفید یکی از اقلام عمده در رژیم غذایی است و مصرف سرانه آن حدود ۵/٤ کیلوگرم می باشد (Azarnia et al., 1997).

در مطالعاتی که در زمینه تاثیر همزمان چندین فاکتور بر ویژگیهای یک سیستم ناشناخته و با هدف بهینه سازی آن سیستم انجام می گیرند، روش سطح پاسخ[1] از قویترین ابزارها می باشد. با بکارگیری این روش میتوان اثرات خطی، متقابل و درجه دوم فاکتورها را ارزیابی کرد و بعد از یافتن یک رابطه ریاضی معتبر بین فاکتورها و ویژگیهای سیستم، شرایط کارکرد بهینه سیستم را پیدا نمود (Khuri & Cornell,1996).

مقادیر آمین های بیوژنیک در پنیرهای مختلفی اندازه گیری شده است، اما هیچگونه اطلاعی درباره حضورومقادیر آمین های بیوژنیک در پنیرسفید ایرانی وجود ندارد. بنابراین هم برای اهداف علمی وهم برای بهداشت عمومی بررسی وتحقیق در مورد تولید آمین های بیوژنیک در پنیر سفید ایرانی جالب توجه است. همچنین هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر احتمالی فاکتورهای دمای رساندن ، زمان رساندن، میزان استارتر، غلظت آب نمک، نوع نمک و میزان رنت بر روی تولید آمین های بیوژنیک می باشد، بطوریکه با شناخت نحوه تاثیر گذاری این فاکتورها بر تولید آمین های بیوژنیک، بتوان فرآیند را در جهت حداقل سازی تولید این ترکیبات هدایت کرد.

[1]Response Surface Methodology

# فصل دوم

## کلیات

## Review of Literature

# کلیات

## ۲-۱- پنیر از دیدگاه تغذیه ای

پنیر را می توان یک کنسانتره شیر به حساب آورد چون اکثر ترکیبات اساسی شیر در آن با غلظتی بالاتر از خود شیر یافت می شوند، اگرچه تعدادی از ترکیبات مثل پروتئینهای آب پنیر و ویتامینهای محلول در آب تا حدی در طی فرآوری تلف می شوند. البته با توسعه روش فراپالایش میتوان پروتئینهای آب پنیر را که دارای ارزش غذایی بالایی هستند در پنیر حفظ کرد.

پنیر منبع غنی از پروتئین، چربی، کلسیم، فسفر، ریبوفلاوین و دیگر ویتامینها می باشد. در رژیم های غذایی با پروتئین بالا، پنیر بیش از شیر می تواند مفید واقع شود ضمن آنکه پروتئینهای آن از قابلیت هضم بالایی نیز برخوردار هستند(Renner,1993).

مواد مغذی تشکیل دهنده پنیر عبارتند از:

### ۲-۱-۱- چربی پنیر

با تنظیم مقدار چربی شیری که پنیر از آن ساخته می شود، پنیرهایی با درصد چربی مختلف تولید می شوند. درصد چربی پنیرهای تازه حدود ۱۲ درصد می باشد در حالیکه پنیرهای رسیده عموما حاوی ۳۰-۲۰ درصد چربی می باشند. مصرف کنندگان اغلب پنیرهایی با چربی بالا را ترجیح می دهند، چون چربی بالا بطور معنی داری طعم محصول را بهبود می بخشد. اسیدهای چرب ضروری مثل لینولئیک، لینولنیک و آراشیدونیک نیز به مقدار قابل توجهی در چربی پنیر وجود دارند.

لیپولیز در طول رسیدن پنیر در درجه اول توسط لیپازهای میکروبی انجام می شود چون لیپازهای طبیعی شیر اکثرا در اثر پاستوریزاسیون غیرفعال می شوند. در نتیجه لیپولیز غلظت اسیدهای چرب آزاد در پنیر معمولا به یک تا پنج گرم در کیلوگرم می رسد. در تعدادی از پنیرها ارتباط نزدیکی بین میزان اسیدهای چرب و طعم پنیر وجود دارد(McGugan et al.,1979)

### ۲-۱-۲- پروتئین

اهمیت تغذیه ای پنیر از میزان بالای پروتئینهایی با ارزش بیولوژیکی قابل توجه منشا می گیرد و میزان پروتئین انواع مختلف پنیر بین ۲۰ تا ۳۵ درصد متغیر است.۱۰۰ گرم پنیر نرم ۴۰-۳۰ درصد نیازروزانه پروتئینی یک فرد بالغ را تامین می کند در حالیکه ۱۰۰ گرم پنیر سخت ۵۰-۴۰ درصد نیاز روزانه را برآورده می کند. در ساخت پنیر، کازئین شیر در پنیر باقی می ماند در حالیکه اکثر پروتئینهای با ارزش محلول در آب وارد آب پنیر می شوند. حدود ۸۰-۷۵ درصد کل پروتئین و حدود ۹۵ درصد

کازئین شیر وارد پنیر می شوند؛ البته در پنیرهای تولید شده از شیر پاستوریزه میزان پروتئینهای آب پنیر که در پنیر باقی می مانندحدود ٦-٤ درصد می شود(Renner,1993).

از آنجا که پروتئینهای آب پنیر از نظر تغذیه ای بهتر از کازئین هستند(کازئین از نظر آمینواسیدهای گوگردی فقیر است) ارزش بیولوژیکی پروتئینهای پنیر تا حدی پایین تر از پروتئینهای شیراست. وقتی از اولترافیلتراسیون در ساخت پنیر استفاده می شود پروتئینهای آب پنیر نیز در پنیر باقی می مانند در نتیجه ارزش تغذیه ای آن بالا می رود. در چنین پنیرهایی پروتئینهای آب پنیر ۱۵ درصد کل پروتئینها را تشکیل می دهند(Renner,1993).

### ۲-۱-۳- لاکتوز و اسید لاکتیک

در اکثر پنیرها لاکتوز وجود ندارد یا در صورت وجود غلظت آن بسیار پایین می باشد(۳-۱ گرم در صد گرم). بخش عمده لاکتوز موجود در شیر وارد آب پنیر می شود و لاکتوز باقیمانده در طول رسیدن بطور نسبی یا کامل به اسید لاکتیک تبدیل می شود بنابراین پنیر در رژیم غذایی افرادی که در جذب لاکتوز مشکل دارند و همچنین افراد دیابتی جایگاه ویژه ای دارد (Fox et al.,2000).

### ۲-۱-٤- مواد معدنی

۱۰۰ گرم پنیر سخت کل نیاز روزانه به کلسیم و ۵۰-٤۰ درصد نیاز به فسفر را تامین می کند در حالیکه ۱۰۰ گرم پنیر نرم ٤۰-۳۰ درصد نیاز روزانه به کلسیم و ۲۰-۱۲ درصد نیاز روزانه به فسفر را تامین می کند(Okeefe et al.,1978).

### ۲-۱-۵- ویتامینها

غلظت ویتامینهای محلول در چربی پنیر بسته به میزان چربی آن متغیر است. قسمت عمده(۸۵-۸۰ درصد) ویتامین A موجود در شیر وارد پنیر می شود در حالیکه در مورد ویتامین های محلول در آب این اعداد بسیار پایین می باشند. با این وجود به علت بالا بودن ویتامینهای گروه B در شیر، پنیر هنوز منبع عالی این ویتامینها محسوب می شود(Barry & Donnelly,1980).

### ۲-۲-۱- پنیرهای سفید آب نمکی

پنیر سفید آب نمکی در کشورهایی که دارای آب و هوای گرم می باشند بطور گسترده ای تولید می شود. با توجه به اینکه پنیر سفید آب نمکی در آب نمک با غلظت ٤ تا ١٦ درصد نگهداری می شود، مناسب مناطق گرمسیر می باشد. در دماهای پایین تر از هشت درجه سانتیگراد می توان این پنیرها را تا سه ماه نگهداری کرد( Caric,1993 ).

فتا یک لغت یونانی به معنای برش و قطعه[1] می باشد و احتمالا این نامگذاری ناشی از شکل این پنیر یا قابل برش بودن آن نشات می گیرد. امروزه پنیر فتا بعنوان پر تولید ترین نوع پنیرهای آب نمکی شناخته شده است. در یونان پنیر فتا تولید شده از شیر گوسفند، بیشترین مصرف را دارد. این پنیر در مقایسه با سایر پنیرهای آب نمکی دارای بافت نرمتری بوده و مزه آن نمکی و تند می باشد. خصوصیات عمومی پنیرهای آب نمکی در این است که مرحله رسیدن آنها در آب نمک انجام می شود و بین چند هفته تا چند ماه در آن نگهداری می شوند(Caric,1993).

ویژگیها و استاندارد هایی برای پنیرهای آب نمکی در سال ۱۹۸۱ توسط فدراسیون بین المللی شیر و فرآورده های آن(IDF)[2] منتشر شد که کلیه این نوع پنیرها تحت عنوان پنیرهای نرم طبقه بندی شدند. اغلب این نوع پنیرها در ظروف در بسته و تحت شرایط بیهوازی نگهداری می شوند.

## ۲-۲-۲- تعریف پنیر سفید آب نمکی در استاندارد ایران

در استاندارد ایران پنیر رسیده در آب نمک به صورت زیر تعریف شده است:

" فرآورده ای نرم تا نیمه سخت[3] که دارای رنگی سفید تا سفید خامه ای، با بافتی منسجم و مناسب قطعه کردن می باشد. این فرآورده مرحله رسیدن را در آب نمک طی کرده و تا زمان عرضه در آب نمک نگهداری میشود."

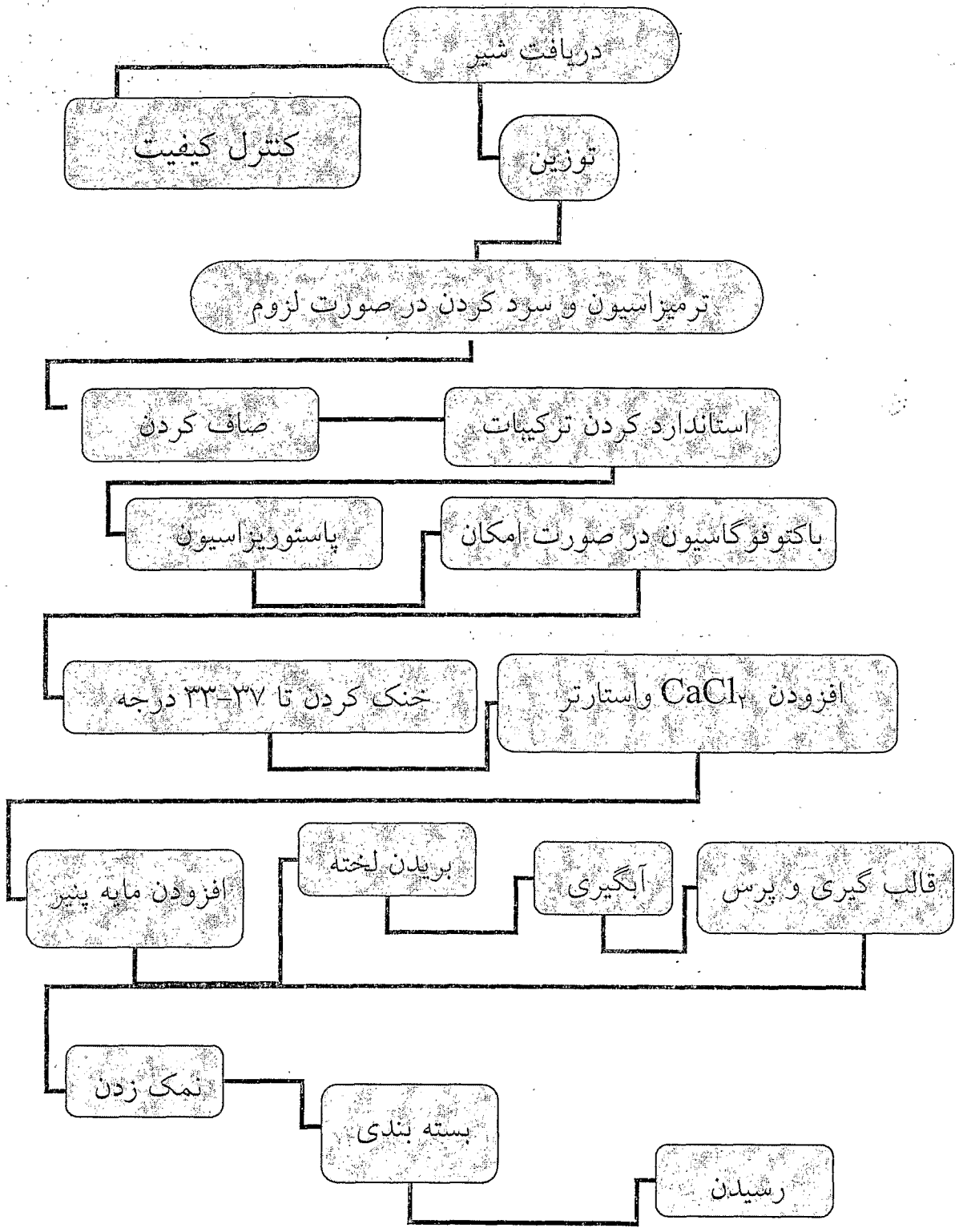
در این تعریف تاکید شده است که فرآیند رسیدن بدلیل انجام واکنشهای لیپولیز، پروتئولیز و گلیکولیز موجب ایجاد عطر و طعم و بافت مناسب در پنیر می گردد و همچنین عنوان شده است که منظور از مرحله رسیدن، نگهداری پنیر در آب نمک پاستوریزه با غلظت مطلوب و در دمای مشخص و در مدت زمانی (حداقل ۳ هفته) می باشد که بتواند ویژگی های خاص و مورد نظر پنیر رسیده در آب نمک را ایجاد کند(استاندارد ملی ایران شماره ۲۳٤٤).

## ۲-۳-۱- فرآیند ساخت پنیر

شمای کلی ساخت پنیر بصورت زیر می باشد:

---

[1] Slice
[2] International Dairy Federation(IDF)
[3] Semi-Hard




شکل ۲-۱- شمای کلی ساخت پنیر

### ۲-۳-۱-۱- شیر ماده اصلی پنیر سازی

ساخت پنیر با انتخاب شیری که از لحاظ میکروبی و شیمیایی دارای کیفیت بالایی است آغاز میشود. شیر مصرفی در پنیرسازی باید بالاترین کیفیت را داشته باشد و عاری از آنتی بیوتیکها باشد. در روشهای مدرن ساخت پنیر، شیرمصرفی بلافاصله بعد از دوشش تا چهار درجه سانتیگراد سرد می شود و ممکن است به مدت چند روز در مزرعه یا کارخانه در این دما نگهداری شود. جدا از تکثیر نامطلوب فلور میکروبی سایکروتروف، ذخیره سازی شیر در دمای پایین باعث یکسری تغییرات فیزیکوشیمیایی مثل تغییر تعادل فسفات کلسیم و گسسته شدن ساختار میسلهای کازئینی نیز میگردد که در خواص پنیرسازی شیر اثرات نامطلوب دارند(آذرنیا،۱۳۷۳ ).

اگرچه در ساخت تعدادی از پنیرها هنوز از شیر خام استفاده می شود ولی امروزه اکثر شیرهای مورد مصرف در پنیر سازی پاستوریزه می شوند. پاستوریزاسیون میکروفلور ذاتی شیر را تغییر میدهد و تولید پنیری با کیفیت یکنواخت را تسهیل می کند و برای تولید محصولی بهداشتی و سالم ضروری است ولی در صورت عدم دقت کافی ممکن است قابلیت انعقاد شیر توسط رنت و خاصیت تشکیل لخته شیر آسیب ببیند(آذر نیا،۱۳۷۳ ).

از جمله تغییرات ناشی از حرارت عبارتند از:

غیرفعال شدن آنزیمهای ذاتی شیر، نابود شدن میکروارگانیسمهای طبیعی شیر، دناتوره شدن پروتئینهای آب پنیر و بر هم کنش آنها با کاپاکازئین، تغییر تعادل نمک و تخریب ویتامینها.

با میکروفیلتراسیون می توان ۹۹/۹ درصد میکروبهای ذاتی شیر را حذف کرد بدون اینکه تغییرات فوق در شیر اتفاق بیفتند. حرارت ملایم[1] (۶۵°C به مدت ۱۵ ثانیه) شیر به محض رسیدن به کارخانه در تعدادی از کشورها متداول است که هدف از آن کنترل سایکروتروفهاست و شیر قبل از ساخت پنیر پاستوریزه می شود(Fox et al.,2000).

در پنیرهای رنتی حداکثر ۷۵ درصد پروتئینهای شیر بازیافت می شوند. واضح است که وارد کردن مقدار بیشتری از پروتئینهای آب پنیر در لخته از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت است و این همان کاری است که تکنیک فراپالایش[2] انجام می دهد(آذرنیا،۱۳۷۳ ).

### ۲-۳-۱-۱-۱- پروتئینهای عمده شیر

پروتئینهای شیر را میتوان به دو دسته عمده تقسیم کرد:

۱) کازئین ها که عمدتا در فاز کلوئیدی شیر وجود دارند

۲) پروتئینهای آب پنیر

---

[1] Thermization
[2] Ultrafilteration

پنیرسازی بیشتر با کازئینها مرتبط می باشد و کازئین ماده اصلی یا پایه پنیر را تشکیل می دهد. کازئینها بسته به ترکیب و توالی اسیدهای آمینه و ژنوتیپها به چهار دسته مختلف تقسیم می شوند: $\alpha_{s1}$ -کازئین، $\alpha_{s2}$-کازئین، β-کازئین، κ-کازئین(deMan, 1999).

- ***$\alpha_{s1}$-کازئین:***

گروه $\alpha_{s1}$ با ۱۹۹ آمینو اسید مخلوطی از $\alpha_{s1}$ و$\alpha_{s0}$ می باشد.$\alpha_{s1}$ از نظر کمی غالب است ودارای وزن ملکولی ۲۳۶۰۰ می باشد.در این کازئین ۸ باقیمانده فسفوسرین در بین باقیمانده های ۷۹-۴۳ توزیع شده اند. همچنین در این قسمت ۱۲ باقیمانده کربوکسیل جای گرفته اند. گروه فسفات با یون کلسیم پیوند یافته و $\alpha_{s1}$ کازئین در مجاورت یون کلسیم رسوب می کند. بقیه زنجیره پپتیدی آبگریز می باشد و در ساختمان میسلها پیوستگی قوی نشان می دهد.$\alpha_{s0}$-کازئین به استثنای داشتن یک گروه فسفوسریل در باقیمانده ۴۱ ، در سایر قسمتها شبیه $\alpha_{s1}$ کازئین می باشد(wong, 1989).

- ***$\alpha_{s2}$ کازئین:***

گروه $\alpha_{s2}$ با ۲۰۷ آمینو اسید مرکب از پنج کازئین $\alpha_{s2}$ ، $\alpha_{s3}$، $\alpha_{s4}$، $\alpha_{s5}$ و $\alpha_{s6}$ می باشد که $\alpha_{s5}$ دیمر $\alpha_{s3}$ و$\alpha_{s4}$ می باشد. مقدار فسفات در گروه $\alpha_{s2}$، ۱۰ تا ۱۳ گروه فسفات به ازای یک مول می باشد(deMan, 1999).

- ***β- کازئین:***

گروه β کازئین با ۲۰۹ آمینو اسید ، ۳۵-۳۰ درصد کل کازئینها را تشکیل می دهد. ساختمان آن شامل یک زنجیره پلی پپتیدی ساده با وزن ملکولی ۲۴۰۰۰ می باشد. پنج باقیمانده فسفوسرین در نزدیک بخش N-انتهایی(۴۳-۱) قرار گرفته اند درحالیکه نیمه C-انتهایی(۲۰۹-۱۳۶) بسیار آبگریز می باشد. این تمرکز مناطق هیدروفیل و هیدروفوب در پایانه های انتهایی منجر به زیاد شدن خاصیت شبه سورفاکتانت β- کازئین نسبت به $\alpha_{s1}$-کازئین می گردد. β-کازئینها نسبت به α-کازئینها با سرعت کمتری با همدیگر پیوند می یابند و در مقایسه با $\alpha_{s1}$ کازئینها به آسانی توسط کلسیم رسوب نمی کنند(Wong, 1989).

β-کازئینها تحت تاثیر پروتئازها به خصوص پلاسمین به سه جزء γ-کازئینها که به عنوان اجزای انتهای کربنی β-کازئین شناخته می شوند تجزیه می گردند که آن سه جز عبارتند از:

$\gamma_1$ (۲۰۹-۲۹) ، $\gamma_2$ (۲۰۹-۱۰۶) و $\gamma_3$ (۲۰۸- ۱۰۸). و قطعات مربوط به N- انتهایی این پروتئینها گروهی از پروتئین های شیر به نام پروتئوز— پپتونها را بوجود می آورند.

محلولیت β -کازئین در درجه حرارتهای مختلف، متفاوت بوده و این مسئله نقش مهمی را در انعقاد شیر ایفا می کند. در شیر ذخیره شده در ٤ درجه سانتیگراد β-کازئین از کمپلکس کازئین خارج می شود که البته پدیده جدا شدن تدریجی β-کازئین برگشت پذیر است ولی چون استقرار مجدد در ساختمان

اولیه نیاز به زمان دارد، این شیر در برابر مایه-پنیر مقاوم تر شده و در واقع مدت زمان انعقاد افزایش می یابد(آذرنیا،۱۳۷۳ ).

* κ-کازئین:

κ-کازئین بیشترین نقش را در پنیرسازی ایفاء می نماید و با وجود اینکه از نظر کمی ، چندان اهمیت ندارد ولی یک کازئین محافظ است و سبب میشود که کازئین $\alpha_{s1}$ و $\beta$ در برابر یونهای کلسیم موجود در شیر پایدار باقی بمانند. κ-کازئین تنها کازئینی است که در برابر یونهای کلسیم محلول باقی می ماند، که این ویژگی در حفظ ساختمان و ثبات کمپلکس میسل های کازئین در شیر بیشترین اهمیت را دارد.
κ-کازئین ۱۵ درصد کل کازئینها را تشکیل می دهد و تنها کازئین عمده است که دارای سیستئین است. مونومرهای κ-کازئین دارای وزن ملکولی ۱۹ هزار هستند و از طریق پیوندهای دی سولفیدی پلیمرهایی با وزن ملکولی ٦۰ تا ٦۰۰ هزار را تشکیل می دهند. κ-کازئینها با ۱٦۹ آمینو اسید تنها یک گروه فسفات دارند و بسته به مقدار گلیکوزید در هفت شکل مختلف($\kappa_1$ تا $\kappa_7$ ) وجود دارند. پلی مورفیسم مربوط به کاپا کازئین به دلیل وجود ۳ تا ٤ مونوساکارید در ساختار کربوهیدراتی این پروتئین است. زنجیره κ-کازئین دارای یک قطعه N- انتهایی آبگریز(۱۰۵-۱) و یک قطعه C-انتهایی آبدوست(۱٦۹- ۱۰٦) می باشد که به ترتیب با نام پارا کاپاکازئین و ماکروپپتید شناخته می شوند. تمام کربوهیدراتها و یک گروه فسفات در ماکروپپتید جای گرفته اند. این توزیع ناهمگون به همرا محتوای بالای اسید آسپارتیک و گلوتامیک اسید منجر به اسیدیته بالا و حلالیت بالای قطعه C-انتهایی مونومرκ-کازئین می شود(Wong,1989).

بعد از فعالیت مقدماتی مایه پنیر تنها جزء آبگریز(۱۰۵-۱) که پارا κ-کازئین نامیده می شود در لخته پنیر باقی می ماند. در اثر عمل آنزیم رنین زنجیره پلی پپتیدی در محل های فنیل آلانین۱۰۵ و متیونین ۱۰٦ شکسته می شود و زنجیره به دو قسمت تجزیه می گردد که یک قسمت آن غیرمحلول بوده و در حضور یونهای کلسیم رسوب می کند و بدین ترتیب اثر حفاظتی κ-کازئین از بین می رود و باعث انعقاد میسلهای کازئین می گردد و قسمت دیگر محلول بوده و وارد آب پنیر می شود(آذرنیا،۱۳۷۳).
در شکل زیر نحوه عمل کیموزین یا رنین که آنزیم اصلی مایه پنیر است نشان داده شده است: