مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال دوازدهم، شماره 2، تابستان 1396، صفحات 95-87

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017

بررسی سینتیک تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی با پیشرفت پروتئولیز در پنیر سنتی کوزه‌ای حاوی عصاره هَوِن در مرحله آب نمک و داخل کوزه

بشیر بهرامی[1]، محمد علیزاده[2]، حامد حسن زاده اوچتپه[3]

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ایران

2- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه ایران. پست الکترونیکی: m.alizadeh@gmail.com

3- دانشجوی دوره دکتری تخصصی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: 94/12/21 تاریخ پذیرش: 95/4/4

چکیده

سابقه و هدف: سینتیک واکنش‌های شیمیایی، ارتباط بین سرعت از بین رفتن واکنش دهنده یا سرعت تولید محصول در واکنش و غلظت مواد را در هر زمان تعیین می‌نماید. در تحقیق حاضر، سینتیک تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر سنتی کوزه‌ای حاوی عصاره هَوِن (B) با پنیر سنتی کوزه‌ای شاهد بدون عصاره هَوِن (A) در مرحله آب نمک و طی رسیدن پنیر در داخل کوزه، مورد ارزیابی قرار گرفته است و هدف این مطالعه بررسی تغییرات خاصیت آنتی‌اکسیدانی پنیر سنتی کوزه‌ای در طی رسیدن می‌باشد که این موضوع سلامتی مصرف کننده را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها: برای این منظور، هر دو نوع پنیر به مدت 56 روز داخل آب نمک 12 درصد و دمای 10 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس به مدت 70 روز در کوزه‌های سفالی و زیر خاک در سه دمای 5، 10 و 15 درجه نگهداری شدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در هر دو نوع پنیر 14 روز یک‌بار اندازه‌گیری شده و داده‌های به دست آمده برای بررسی تغییرات سنتیکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بکار گرفته شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در طول نگهداری پنیرها در داخل آب نمک در هر دو نوع پنیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرده است. همچنین با برازش داده‌های آزمایشی با مدل‌های سینتیکی درجه صفر، یک و دو مشخص شد که تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر طی نگهداری در آب پنیر برای پنیر A از واکنش درجه دو پیروی می‌کند اما در پنیر B درجه واکنش مشخصی حاصل نشد. همچنین تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پنیر A در داخل کوزه از درجه صفر تبعیت می‌کند و بیشترین ثابت سرعت برای دمای 10 درجه برابر با 0/62 به دست آمد اما برای پنیرهای B در داخل کوزه به دلیل پروتئولیز شدید و احتمالاً عمل‌کنندگی غیر اختصاصی زیاد آنزیم‌های داخل هَوِن درجه واکنش مشخصی حاصل نشد (ضریب تبیین پایین‌تر از 0/8).

نتیجه گیری: به‌طور کلی در نمونه‌های پنیر حاوی عصاره هَوِن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با شدت بیشتری افزایش پیدا کرده است. همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی تمامی نمونه‌های پنیر سنتی کوزه‌ای در طی رسیدن افزایش پیدا کرده است.

واژگان کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پنیر سنتی کوزه‌ای، عصاره هون، مدل‌های سینتیکی

• مقدمه

با وجود پیشرفت‌های زیاد در تکنولوژی تهیه پنیر به روش صنعتی و تولید پنیر از شیر پاستوریزه، تولید و مصرف پنیر سنتی همچنان در بعضی از مناطق ادامه دارد. پنیرهای سنتی بسته به نوع فراوری دارای ویژگی‌های حسی، فیزیکو شیمیایی و میکروبی متفاوت می‌باشند که در مناطق مختلف تا حدودی متفاوت است. در تولید این پنیرها از ترکیب شیر گوسفند، بز و گاو یا فقط یکی از این موارد استفاده می‌شود و به طور سنتی از شیر خام و بدون مایه کشت پنیر تولید می‌شوند (1) و پس از تولید معمولاً برای از بین بردن عامل بروسلوز احتمالی در شیر، پنیرهای تولید شده تقریباً به مدت 45 روز در آب نمک بوده و سپس مستقیماً مصرف شده یا اینکه به روش‌های متفاوتی نگهداری می‌شود. در مقایسه پنیرهای

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017

تولیدی از شیر خام و شیر پاستوریزه، پنیرهای حاصل از شیر خام به وسیله میکرو فلور متنوع و غنی‌تر مشخص می‌شوند (2).

در بعضی از مناطق آذربایجان و کردستان مخصوصاً مناطق روستایی به شیوه سنتی معده گوساله‌ها را به قطعاتی بریده و پس از پاشیدن نمک بر روی آن خشک می‌کنند. در هنگام مصرف ابتدا این قطعات شیردان گوساله را شسته و سپس در مقداری آب قرار می‌دهند تا عصاره‌ای تشکیل شود سپس به طور تجربی چندین نوع بذر از جمله دانه‌های هِل، رازیانه، سیاه دانه، میخک، چند تکه دارچین و زنجبیل به همراه مقداری زاج یا جوهر لیمو در این مایع که تکه معده گوساله را در آن قرار داده‌اند می‌ریزند یا مقدار مشخص بذرهای گفته شده را در مقداری آب قرار داده و تقریباً بعد از دو هفته بوی مطلوبی می‌گیرد. در هنگام تولید پنیر، مقدار توصیه شده مایه پنیر قارچی یا میکروبی را با مقداری از این مایع حاوی عصاره بذرهای گیاهی مخلوط و به شیر اضافه می‌کنند که این عصاره را در مناطق محلی کردنشین هَوِن می‌نامند.

علاوه بر اینکه پنیر خود یک فراورده لبنی با ارزش تغذیه‌ای بالاست اخیراً مطالعاتی که بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی پنیر صورت گرفته و به تأیید این موضوع پرداخته است اما خاصیت آنتی‌اکسیدانی در پنیر ناشی از روند پروتئولیز در آن می‌باشد یعنی در طول فرایند رسیدن، تغییراتی بر روی پروتئین‌ها و مخصوصاً کازئین‌های پنیر روی می‌دهد که این امر منجر به تولید پپتیدهایی مشخص می‌شود که این پپتیدها خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. این پپتیدهای آنتی‌اکسیدانی موجود در سیستم‌های غذایی نقش حیاتی در دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن ایفا می‌کنند که این کار از طریق جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد یا مهار این رادیکال‌ها و همچنین گونه‌های اکسیژن فعال صورت می‌گیرد که باعث آسیب‌های اکسیداتیو به مولکول‌های زیستی شده و همچنین باعث پیری، سرطان بیماری‌های قلبی، تصلب شرائین و سکته‌های مغزی می‌شوند (3).

رسیدن پنیرها منجر به شکل‌گیری پپتیدهای زیادی می‌شود که عمدتاً از کازئین و در نتیجه پروتئولیز آن نشأت می‌گیرند. علاوه بر این، یافته‌های اخیر نشان داده است که اضافه کردن کشت‌های الحاقی باعث تغییر روند و الگوی پروتئولیز و در نتیجه آزاد شدن پپتیدهای بیشتر می‌شود (4). این پپتیدها از لحاظ اندازه از 20 – 2 اسید آمینه تشکیل شده و بسیاری از آنها خواص چند منظوره ای دارند. همچنین مشخص شده است که این پپتیدها جدا از فعالیت زیستی قابل توجه در توسعه عطر و طعم پنیر نیز نقش دارند (5).

پپتیدهای فعال زیستی از بسیاری از محصولات لبنی از جمله پنیر، کفیر، شیر و ماست جدا شده‌اند. این پپتیدها وقتی درون پروتئین‌ها هستند غیر فعالند اما با سه روش آنزیمی می‌توانند از پروتئین‌ها جدا شوند که عبارتند از هیدرولیز آنزیمی از آنزیم‌های گوارشی، تخمیر شیر با کشت‌های آغازگر پروتئولیتیک و یا پروتئولیز به وسیله آنزیم‌های مشتق شده از میکروارگانیسم‌ها یا گیاهان (6). Silva و همکاران (2012) در مطالعه‌ای که بروی پپتیدهای فعال زیستی در نوعی پنیر برزیلی انجام دادند وزن مولکولی پپتیدهای فعال زیستی مسئول خاصیت آنتی‌اکسیدانی پنیر مذکور را (800 تا 3500 دالتون) مشخص کردند (7). بنابراین انتظار می‌رود با پیشرفت پروتئولیز در طول دوره رسیدن پنیر بخصوص پروتئولیز ثانویه پپتیدهای با خاصیت فعال زیستی و آنتی‌اکسیدانی از هیدرولیز کازئین در پنیر ایجاد شود. اگرچه رسیدن پنیر فرایندی کند و تا حدودی پر هزینه و گاهی غیر قابل کنترل است اما توجه و تمایل زیادی به تسریع روند پروتئولیز و رسیدن پنیر وجود دارد و راه‌های مختلفی برای این کار پیشنهاد و مورد بررسی قرار گرفته است که شامل افزایش دمای رسیدن (مخصوصاً برای پنیرهای گونه چدار در 8 – 6 درجه سانتی‌گراد رسانیده می‌شوند)، استفاده از پروتئینازها و پپتیدازهای خارجی، استارترهای اصلاح شده و استارترهای تولید شده به روش مهندسی ژنتیک می‌باشد (2).

بررسی‌های اخیر به نقش آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای مشتق شده از پروتئین‌های پنیر در اثر پروتئولیز اشاره دارند. Kumar و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر چدار را در مراحل مختلف رسیدن مورد بررسی قرار دادند که در این تحقیق فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره محلول پنیر چدار وابسته به دوره رسیدن بود و تغییرات در فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به میزان تشکیل پپتیدهای محلول در اثر پروتئولیز در طول 6 ماه بود (3). در تحقیقی که Rashidinejad و Evert (2013) در خصوص اثر کاتچین بر روی محتوای فنولیک و آنتی‌اکسیدان خواص پنیر کم چرب در طول 90 روز انجام دادند دریافتند که محتوای فنولیک و آنتی‌اکسیدان کل پنیرها با گذشت زمان افزایش نشان می‌دهند (8). Songisepp و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را در پنیرهای پروبیوتیک گزارش کردند و دریافتند که افزایش طول دوره رسیدن منجر به افزایش فعالیت کل آنتی‌اکسیدانی پنیر می‌شود اما نتیجه تحقیق آنها بر روی کشت‌های پروبیوتیک ایزوله شده از پنیر بود (9). سینتیک واکنش‌های شیمیایی، ارتباط بین سرعت از بین رفتن واکنش دهنده یا سرعت تولید محصول در واکنش و غلظت مواد را در هر زمان تعیین می‌نماید. جهت طبقه‌بندی

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017

معادلات سرعت واکنش از کلمه مرتبه یا مفهوم ریاضی آن استفاده می‌شود. مرتبه واکنش عبارت است از مجموع توان-هایی که در جملات غلظت در شکل دیفرانسیلی معادله سرعت واکنش دیده می‌شوند. بیشتر واکنش‌های صورت گرفته در مواد غذایی از مرتبه‌ی صفر یا اول برخوردارند (10). در این مطالعه سعی شده است که سینتیک فعالیت گیرندگی رادیکال توسط نمونه‌های پنیر بعد از افزودن عصاره هون به آنها بررسی گردد.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌های شیر و نحوه تهیه پنیر: شیر مورد استفاده در اواخر پاییز از یک دامداری محلی در شهرستان بوکان خریداری شد و اسیدیته و چربی آن اندازه‌گیری شد (اسیدیته 14 دورنیک و چربی 3/8 درصد). شیر پس از انتقال به محل تولید تا 35 در جه سانتی گراد حرارت داده شد و سپس مقدار لازم مایه پنیر قارچی میتو (یک گرم در صد لیتر شیر) ابتدا در یک لیوان آب ولرم کاملاً حل و به شیر اضافه شد. پس از حدود دو دقیقه مخلوط کردن ملایم شیر، درب آن گذاشته شده و پس از 80 دقیقه که زمان انعقاد تشخیص داده شد با استفاده از یک تیغه ابتدا به‌صورت طولی و سپس عرضی دلمه‌های به مکعب‌های کوچکی تبدیل شدند. پس از گذشت 15 دقیقه هم زدن آرام و پس دادن قسمت اعظم آب، دلمه‌ها داخل پارچه متقال گذاشته شده و وزنه‌ای معادل 2 کیلو به ازای سه کیلو دلمه بر روی آن گذاشته شد و پس از یک و نیم ساعت که از پرس پنیر گذشت دلمه‌ها به قطعات مکعبی مشخص بریده شدند و با دست بر روی آنها نمک پاشیده شد. سپس دلمه‌ها را بر روی هم گذاشته و حدود 12 ساعت به همین حالت نگه داشته شدند که در این حالت مقداری دیگر از آب خود را پس دادند. با احتساب میزان نمک مصرف شده و همچنین میزان آب پس داده شده پس از نمک پاشی با استفاده از آب جوشیده سرد شده غلظت آب نمک نهایی در 12 درصد تنظیم شده و در دمای 10 درجه داخل یخچال به مدت 56 روز نگهداری شد.

تهیه عصاره هَوِن (Haven): مقدار10 گرم زنجبیل، 5 گرم میخک، 10 گرم هِل، 10 گرم سیاه دانه، 5 گرم رازیانه، 10 گرم نبات و 3 گرم دارچین را دریک لیتر آب جوشیده سرد شده ریخته پس از یک هفته که بوی مطلوبی به خود گرفت 150 سی سی از آن صاف گردیده و به همراه مقدار لازم مایه پنیر میتو به شیر جهت تولید پنیر نوع B اضافه گردید.

آماده‌سازی نمونه‌های پنیر برای گذاشتن داخل کوزه و زیر خاک: در روز 56 قطعات مکعبی پنیر از آب نمک بیرون آورده شدند. طبق روش سنتی پنیرها حدود 5 دقیقه در آبی که قبلاً جوشیده و سرد شده بودند قرار داده و شسته شدند و سپس کاملاً خرد شده و در کوزه‌هایی از جنس سفال با ظرفیت حدود 150 گرم ریخته شدند طوری که هوا داخل کوزه باقی نماند و مقداری نمک بروی قسمت بالایی پنیر داخل کوزه‌ها پاشیده و با تکه‌ای پارچه از جنس متقال سر کوزه‌ها بسته شدند و مقداری گل بر روی پارچه قرار داده و به صورت وارونه داخل خاکی که در مناطق محلی، مخصوص قرار دادن کوزه است و بدون مواد آلی و هرگونه بو می‌باشد قرار داده شدند و در نهایت کوزه‌ها همراه خاکی که در آن قرار داده شدند در جعبه‌های مخصوصی در داخل یخچال و انکوباتور در سه دمای 5، 10 و 15 درجه قرار گرفتند.

روش تعیین آنتی‌اکسیدان پنیر: مطابق روش آپوستولیدیس و شتی با کمی اصلاح، به 20 گرم از نمونه پنیر 20 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده و به مدت 2 دقیقه با میکسر به خوبی مخلوط کرده و نمونه همگن شده را به مدت 20 دقیقه در سانتریفوژ با دور 6000 قرار داده و 250 میکرولیتر از محلول صاف شده عصاره را به 3 میلی‌لیتر محلول 60 میکرومولار DPPH در اتانول اضافه کرده و پس از نیم ساعت آنکوبه کردن در تاریکی، دوباره مخلوط را به مدت 5 دقیقه در سانتریفوژ با دور 6000 قرار داده سپس کاهش جذب در 517 نانومتر تا قرائت ثابت توسط دستگاه خوانده شد. قرائت‌ها با کنترل که شامل 250 میکرو لیتر آب مقطر به جای عصاره است مقایسه شد (11).

مدل‌سازی سینتیکی و روش‌های آماری مورد استفاده: در این مطالعه از مدل‌سازی تجربی و آنالیز رگرسیون با استفاده از برنامه Excel جهت بررسی روند تغییرات داده‌ها و سنتیک تغییرات فاکتورهای مورد مطالعه در طی زمان رسیدن و نگهداری پنیر در آب نمک استفاده شده است. داده‌های آزمایش با مدل‌های سینتیکی درجه صفر، یک و دو که به‌صورت معادله‌های زیر نمایش داده شده‌اند (به ترتیب معادله‌های (1)، (2) و (3) برای درجه واکنش صفر، یک و دو)، برازش داده شدند و بدین ترتیب ثابت سرعت واکنش تعیین گردید و در نهایت با مقایسه ضریب تبیین مدل‌های مذکور، مدل با ضریب تبیین بالاتر و مجموع مربعات خطای کمتر به عنوان مدل مناسب جهت پیش‌بینی تغییرات فاکتور مورد نظر در طی فرایند رسیدن پنیر، انتخاب گردید. لازم به ذکر است که کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام شده و میانگین سه تکرار در محاسبات لحاظ شده است.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017

معادله (1) $c=c_0+kt$

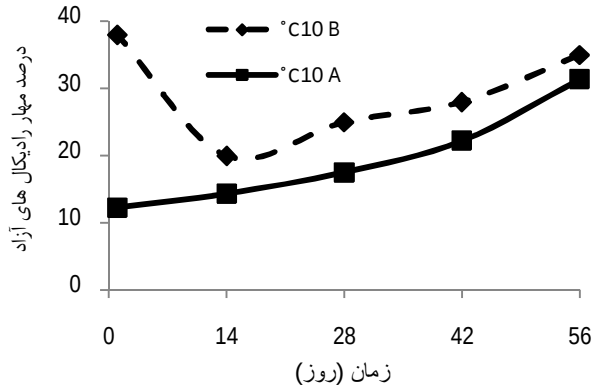
معادله (2) $\ln c=\ln c_0+kt$

معادله (3) $1/c=1/c_0-kt$

در معادلات فوق، c_0 مقادیر یا غلظت اولیه ماده، c مقادیر یا غلظت ماده در زمان t، k ثابت سرعت واکنش و t زمان هستند. سرعت واکنش مرتبه صفر را می‌توان با تعیین سرعت از بین رفتن واکنش دهنده‌ها و یا سرعت تولید محصول در واکنش مشخص کرد که البته میزان آن مستقل از غلظت واکنش دهنده‌هاست و در واکنش مرتبه یک، سرعت واکنش تابع غلظت مواد واکنش‌دهنده در واکنش است (10).

• یافته‌ها

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو نوع پنیر در مرحله نگهداری داخل آب نمک: چنانچه از شکل 1 پیداست ما شاهد افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی با پیشرفت پروتئولیز هستیم و خاصیت آنتی‌اکسیدانی به شدت به پروتئولیز وابستگی نشان می‌دهد. همچنین تغییرات سینتیکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله نگهداری داخل آب نمک برای پنیر نوع A از درجه دوم پیروی نموده اما برای پنیر نوع B درجه سینتیکی مشخصی با توجه به داده‌های موجود حاصل نشده است (جدول 1).



شکل 1. تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو نوع پنیر در مرحله آب نمک و دمای 10 درجه سانتی‌گراد

جدول 1. فاکتورهای سنتیکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو نوع پنیر در مرحله آب نمک و دمای 10 درجه سانتی‌گراد

نوع پنیر	درجه واکنش	ضریب تبیین	ثابت سرعت*
پنیر A	C=c0+kt	0/924	0/335
	lnC=lnC0+kt	0/979	0/016
	1/C=1/C0-kt	0/999	0/0009
پنیر B	C=c0+kt	0/003	0/019
	lnC=lnC0+kt	0/014	0/0014
	1/C=1/C0-kt	0/031	7.7 E-5

*عددهای گزارش شده برای ثابت سرعت بر حسب در روز می‌باشند.

تأثیر شستن بر کاهش میزان اسیدیته و نمک پنیرها: پنیرهای سنتی که با این روش تهیه می‌شوند پس از پایان نگهداری در داخل آب نمک که معمولاً 45 تا 60 روز طول می‌کشد بسته به میزان نمک جذب شده و سفتی بافت، چند دقیقه‌ای (5 تا 20 دقیقه) داخل آب قرار داده و شسته می‌شوند. در این تحقیق هم دو نوع پنیر در روز 56 ام به مدت 5 دقیقه در آب قرار داده شدند و سپس شسته شده و بعد از آبکشی کاملاً خرد شدند و در کوزه‌های 150 تا 200 گرمی ریخته شدند و میزان نمک و اسیدیته ی پنیرها قبل و بعد از شستن اندازه‌گیری شدند که شاهد کاهش قابل توجه میزان نمک و اسیدیته در پنیرها بودیم به صورتی که میزان نمک در پنیر A از 6/1 به 4/4 درصد می‌رسد و در پنیر B از 6/9 به 5/3 درصد می‌رسد. همچنین میزان اسیدیته در پنیر A از 0/59 به 0/47 می‌رسد و در پنیر B از 0/7 به 0/57 می‌رسد.

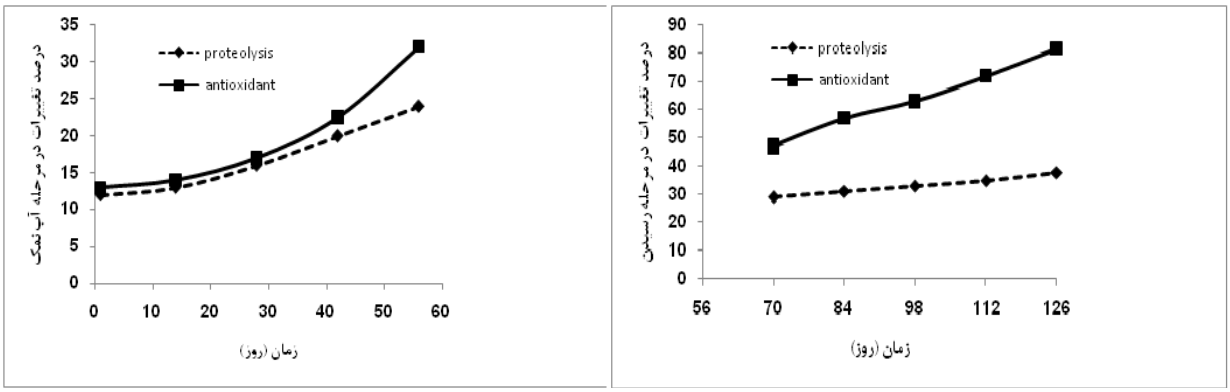
مقایسه تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پروتئولیز پنیر A در مرحله نگهداری داخل آب نمک و داخل کوزه در دمای 10 درجه: طبق جدول 2 تغییرات سنتیکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر در دمای 10 درجه در داخل آب نمک از درجه دو و در داخل کوزه و زیر خاک از درجه صفر پیروی می‌کند یعنی در داخل کوزه‌ها به دلیل کاهش رطوبت و افزایش پروتئولیز تجمع پپتیدهایی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند افزایش یافته است. چنانچه در شکل 2 مشاهده می‌شود، در پنیر A هم در مرحله داخل آب نمک و هم در داخل کوزه‌ها و زیر خاک با افزایش پروتئولیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی هم افزایش یافته است اما افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به میزان پروتئولیز در پنیرهای داخل کوزه و زیر خاک در مقایسه با پنیر داخل آب نمک افزایش بیشتری دارد.

جدول 2. فاکتورهای سنتیکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر A در مرحله آب نمک و داخل و زیر خاک در دمای 10 درجه ی سانتی‌گراد

نوع پنیر	درجه ی واکنش	ضریب تبیین	ثابت سرعت*
پنیر A (داخل آب نمک)	C=c0+kt	0/924	0/335
	lnC=lnC0+kt	0/979	0/016
	1/C=1/C0-kt	0/999	0/0009
پنیر A (داخل کوزه و زیر خاک)	C=c0+kt	0/988	0/628
	lnC=lnC0+kt	0/939	0/012
	1/C=1/C0-kt	0/855	0/0002

*عددهای گزارش شده برای ثابت سرعت بر حسب در روز می‌باشند.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017



شکل 2. مقایسه ی تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پروتئولیز پنیر A در مرحله ی آب نمک و داخل کوزه و زیر خاک در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر A در مرحله نگهداری در داخل کوزه و زیر خاک: با بیشترین ضریب تبیین (R^2=0/99) سرعت واکنش برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پنیر نوع A از قانون درجه صفر پیروی می‌کند و ثابت سرعت برای دمای 10 درجه برابر با 0/62 در روز بیشتر از سایر دما هاست در واقع در اینجا وابستگی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به میزان پروتئولیز بیشتر نمایان است زیرا در دمای 10 درجه که میزان پروتئولیز بیشتر از دو دمای دیگر است به تبع آن میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی هم در دمای 10 درجه بیشتر از دو دمای 15 و 5 درجه است که می‌تواند به دلیل رشد بیشتر بعضی باکتری‌های سایکروتروف موجود در پنیر در این دما باشد (جدول 3).

جدول 3. فاکتورهای سنتیکی درصد مهار رادیکال‌های آزاد در داخل کوزه و زیر خاک در سه دمای 5، 10 و 15 درجه سانتی‌گراد برای پنیر A

نوع واکنش	دما (C^0)	ضریب تبیین (R^2)	میانگین هندسی	ثابت سرعت*
C=c0+kt	5	0/995	0/993	0/366
	10	0/988		0/628
	15	0/996		0/551
lnC=lnC0+kt	5	0/977	0/964	0/008
	10	0/939		0/178
	15	0/977		0/157
1/C=1/C0-kt	5	0/945	0/908	0/0001
	10	0/855		0/0002
	15	0/929		0/0002

*عددهای گزارش شده برای ثابت سرعت بر حسب در روز می‌باشند.

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر B در مرحله نگهداری در داخل کوزه و زیر خاک: چنانچه از داده‌های جدول 4 مشخص می‌شود به دلیل ضریب تبیین پایین‌تر از 0/8 نمی‌توان قانون مشخصی برای سنتیک روند پیشرفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پنیر نوع B مشخص کرد در واقع طبق تحقیقات قبلی فعالیت آنتی اکسیدانی پنیر وابسته به میزان پروتئولیز است و با افزایش پروتئولیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر افزایش پیدا می‌کند (7، 3).

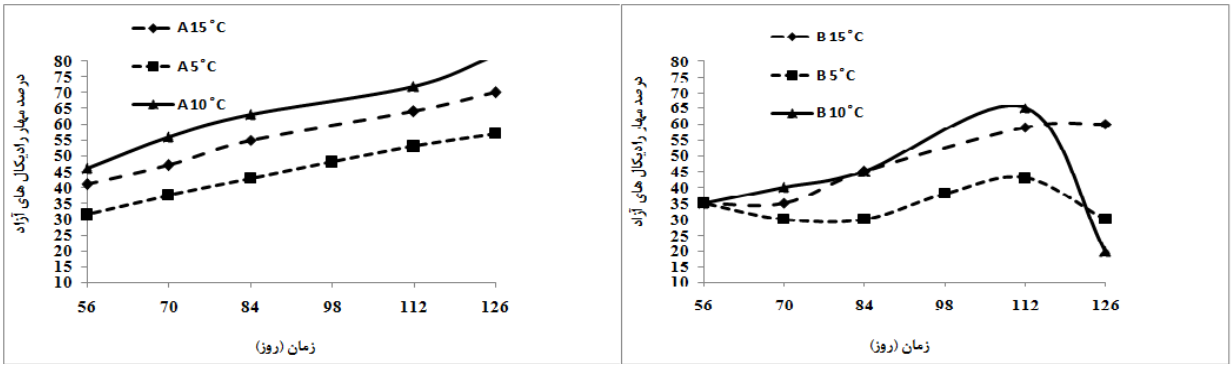
در پنیر نوع B با توجه به شکل 3 افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی متناسب با پیشرفت پروتئولیز نیست. طبق تحقیقات قبلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر تا میزان مشخصی وابسته به میزان پروتئولیز است، همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند تحت تأثیر نوع استارتر کالچر و فعالیت پروتئولیتیکی آنزیم‌های به کار رفته قرار گیرد (4، 3).

جدول4. فاکتورهای سنتیکی درصد مهار رادیکال‌های آزاد در داخل کوزه و زیر خاک در سه دمای ۵، ۱۰ و 15 درجه سانتی‌گراد برای پنیرB

نوع واکنش	دما (C^0)	ضریب تبیین (R^2)	میانگین هندسی	ثابت سرعت*
C=c0+kt	5	0/469	0/755	0/171
	10	0/966		0/54
	15	0/949		0/412
lnC=lnC0+kt	5	0/434	0/739	0/004
	10	0/989		0/011
	15	0/941		0/008
1/C=1/C0-kt	5	0/399	0/717	0/0001
	10	0/998		0/0002
	15	0/926		0/0001

*عددهای گزارش شده برای ثابت سرعت بر حسب در روز می‌باشند.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017



شکل 3. تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر A و B در داخل کوزه و زیر خاک در سه دمای 5، 10 و 15 درجه سانتی‌گراد

• بحث

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو نوع پنیر در مرحله نگهداری داخل آب نمک: نتایج نشان داد که افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی با پیشرفت پروتئولیز مرتبط بوده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی به شدت به پروتئولیز وابستگی نشان می‌دهد. اما زیاد بودن میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر حاوی عصاره (B) در ابتدای تولید احتمالاً به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی باقیمانده عصاره حاصل از بذرهای گیاهی داخل پنیر بوده است نه فعالیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از پپتیدهای پنیر که این عصاره تا روز 14 به تدریج به داخل آب پنیر تراوش کرده و از این تاریخ به بعد فعالیت آنتی‌اکسیدانی که به دست می‌آید مربوط به میزان تشکیل پپتیدهای ناشی از پروتئولیز است. همچنین تغییرات سینتیکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله نگهداری داخل آب نمک برای پنیر نوع A از درجه دوم پیروی نموده اما برای پنیر نوع B درجه سینتیکی مشخصی با توجه به داده‌های موجود حاصل نشده است. Kumar و همکاران (2009) در تحقیقی که بر روی پنیر چدار انجام دادند مشخص شد که تغییرات در فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به میزان تشکیل پپتیدهای محلول در اثر پروتئولیز در طول 6 ماه بود (3). همچنین در تحقیقی که Rashidinejad و Evert (2013) در مورد اثر کاتچین روی محتوای فنولیک و آنتی‌اکسیدان خواص پنیر کم چرب در طول 90 روز انجام دادند مشخص شد که محتوای فنولیک و آنتی‌اکسیدان کل پنیرها با گذشت زمان افزایش نشان دادند (8).

مقایسه تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پروتئولیز پنیر A در مرحله نگهداری داخل آب نمک و داخل کوزه در دمای 10 درجه: تغییرات سنتیکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر در دمای 10 درجه در داخل آب نمک از درجه دو و در داخل کوزه و زیر خاک از درجه صفر پیروی می‌کند یعنی در داخل کوزه‌ها به دلیل کاهش رطوبت و افزایش پروتئولیز تجمع پپتیدهایی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند افزایش یافته است. در پنیر A هم در مرحله داخل آب نمک و هم در داخل کوزه‌ها و زیر خاک با افزایش پروتئولیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی هم افزایش یافته است اما افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به میزان پروتئولیز در پنیرهای داخل کوزه و زیر خاک در مقایسه با پنیر داخل آب نمک افزایش بیشتری دارد که می‌توان برای آن دو دلیل در نظر گرفت یکی اینکه با انتقال پنیرها از داخل آب نمک و شستن آن که خود باعث کاهش مقداری از نمک آن شده است و همچنین خرد کردن پنیرها میزان پروتئولیز پنیر در داخل کوزه‌ها بیشتر بوده است و دیگری اینکه در داخل کوزه‌ها با خروج تدریجی رطوبت و سفت شدن بافت باعث تجمع پپتیدهای بیشتر و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری به دست آمده است.

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر A در مرحله نگهداری در داخل کوزه و زیر خاک: سرعت واکنش برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پنیر نوع A از قانون درجه صفر پیروی می‌کند و ثابت سرعت برای دمای 10 درجه برابر با 0/62 در روز بیشتر از سایر دماها است در واقع در اینجا وابستگی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به میزان پروتئولیز بیشتر نمایان است زیرا در دمای 10 درجه که میزان پروتئولیز بیشتر از دو دمای دیگر است به تبع آن میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی هم در دمای 10 درجه بیشتر از دو دمای 15 و 5 درجه است که می‌تواند به دلیل رشد بیشتر بعضی باکتری‌های سایکروتروف موجود در پنیر در این دما باشد و در واقع دمای محیط عاملی است که رشد میکروارگانیسم‌ها و نیز واکنش‌های بیوشیمیایی لخته را تنظیم می‌کند. در دمای پایین، سرعت رشد میکروارگانیسم‌ها و همچنین سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی کاهش می‌یابد. از طرف دیگر درجه حرارت‌های

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017

بالا، طعم‌های نامطلوب و ناخواسته را افزایش می‌دهد (12). همچنین مشخص شده است که دمای نگهداری بالا، بیشترین اثر را بر پروتئولیز دارد ولی تأثیر دما غیراختصاصی است یعنی به همان اندازه که سرعت پروتئولیز را بالا می‌برد، سرعت واکنش‌های نامطلوب و همچنین احتمال رشد میکروارگانیسم-های آلوده‌کننده و ناخواسته مثل کپک‌ها را نیز بالا می‌برد(13). به‌طور کلی مناسب‌ترین دمای رسیدن برای هر نوع پنیر، دمایی است که در آن واکنش‌های بیوشیمیایی مختلف به نسبت متعادل رخ می‌دهند و منجر به بروز عطر و طعم و ویژگی‌های مطلوب در پنیر رسیده می‌شوند (14).

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر B در مرحله نگهداری در داخل کوزه و زیر خاک: به دلیل ضریب تبیین پایین‌تر از 0/8 نمی توان قانون مشخصی برای سنتیک روند پیشرفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پنیر نوع B مشخص کرد در واقع طبق تحقیقات قبلی فعالیت آنتی اکسیدانی پنیر وابسته به میزان پروتئولیز است و با افزایش پروتئولیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر افزایش پیدا می‌کند (7، 3).

در پنیر نوع B افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی متناسب با پیشرفت پروتئولیز نیست. طبق تحقیقات قبلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر تا میزان مشخصی وابسته به میزان پروتئولیز است، همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند تحت تأثیر نوع استارتر کالچر و فعالیت پروتئولیتیکی آنزیم‌های بکار رفته قرار گیرد (4، 3). همچنین Ong و همکاران (2007) گزارش کرد که نوع فرآورده لبنی، تکنولوژی به کار رفته در تولید آن و نوع گونه مسئول پروتئولیز فاکتورهایی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در پنیر تحت تأثیر قرار می‌دهند(4). همچنین محققان دیگری گزارش کرده‌اند که نوع استارتر و شرایط رسیدن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پنیر تأثیر دارند (16، 15، 9). بنابراین با توجه به مطالب ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که میزان پروتئولیز بالای صورت گرفته در پنیر نوع B و همچنین ماهیت و نحوه فعالیت پروتئولیتیکی و احتمالاً خاصیت عمل‌کنندگی غیر اختصاصی‌تر آنزیم‌های عصاره هَوِن، الگوی فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را در پنیر نوع B ایجاد کرده است.

نتیجه‌گیری

با پیشرفت پروتئولیز در طول دوره رسیدن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پنیر به وجود می‌آید که این فعالیت در پنیر A متناسب با پیشرفت پروتئولیز بوده و در مدت نگهداری داخل آب نمک سنتیک این فعالیت آنتی‌اکسیدانی از واکنش درجه دو پیروی می‌کند اما در مرحله کوزه و زیر خاک به سمت واکنش درجه صفر هدایت می‌شود و ثابت سرعت آن هم افزایش پیدا می‌کند یعنی غلظت پپتیدهای دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر پروتئولیز و کاهش رطوبت پنیر زیاد می‌شود اما در پنیر B هرچند پروتئولیز بیشتر است اما نمی‌توان از لحاظ سنتیکی قانون مشخصی برای تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر هم در مرحله آب نمک و هم در داخل کوزه مشخص کرد. زیرا اگر پروتئولیز از حد مشخصی بیشتر شود پپتیدهای که در محدوده وزنی مشخص فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشتند این خاصیت را از دست می‌دهند لذا ضمن اینکه می‌توان با اضافه کردن غلظت مشخص و کنترل شده‌ای از عصاره محلی هَوِن به تسریع در رسیدن پنیر کمک کرد باید پروتئولیز را به گونه‌ای از لحاظ شرایط دمایی و محیطی هدایت کرد که طعم نامناسب و تلخی در پنیر ایجاد نشود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیر در اثر پروتئولیز بیش از حد کاهش پیدا نکند.

• References

1. Mirzaie M, Aligholinezhad M. study on chemical characteristic changes of Liqvan cheese in production and ripening stages. Journal of Islamic azad university veterinary 2011; 5(2) 1161-68. [In Persian].
2. Fox P.F, McSweeney P.L.H. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, 2004; 3(1) : General Aspects, Elsevier Ltd, Overview
3. Kumar R, Sangwan R B. Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening, International Journal of Dairy Technology 2009; 62(3) 339-47.
4. Ong L, Henriksson A, Shah NP. Angiotensin converting enzyme-inhibitory activity in Cheddar cheeses made with the addition of probiotic Lactobacillus casei sp Lait 2007; 87:149–65
5. Addeo F, Chianese L, Salzano A, Sacchi R, Cappuccio U, Ferranti P, Malorni A. Characterization of the 12% trichloroacetic acid-insoluble oligopeptides of Parmigiano–Reggiano cheese. Journal of Dairy Research 1992; 59, 401–411
6. Korhonen H. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications, Journal of functional foods 2009; 1: 177-187
7. Silva R A. Can artisanal ‘‘Coalho’’ cheese from Northeastern Brazil be used as a functional food?, Food Chemistry 2012; 135: 1533–38
8. Rashidinejad A, David W E. Effects of catechin on the phenolic content and antioxidant properties of low-fat cheese, International Journal of Food Science and Technology 2013; 48, 2448–55.

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017

9. Songisepp E, Kullisaar T, Hutt P, Elias P, Brilene T, Zilmer M, Mikelsaar M. A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity. Journal of Dairy Science 2004; 87: 2017–2023

10. Abasimonfared H, Hamdami N, Hesari J. Kinetic modeling of proteolysis and Lipolysis during ultrafiltered white cheese ripening at different temperatures. Journal of Iranian biosystem engineering 2013; 43 (2): 181-186. [In Persian].

11. Apostolidis E Y I, Kwon K Sh. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. Innovative Food Science and Emerging Technologies 2007; 8: 46–54

12. Kujawski M, Cichosz G, Podhajna E, Sanko B. Effect of temperature on proteolysis and organoleptic properties of Edam-type cheese. Food Science and Technology 2003; 6: 207-219.

13. Sihufe, GA, Zorrilla, S, Rubiolo AC. Kinetics of proteolysis of β-casein during ripening of Fynbo cheese salted with NaCl or NaCl/KCl and ripened at different temperatures. Journal of Food Science 2005; 70: 151-6.

14. Shariati MB, Hesari J, Hamdami N. The effect of ripening temperature and brine concentration on kinetic of Lighvan chesse proteolysis. Journal of food science research 2011; 52 (1): xx-xx.[In Persian].

15. Haileselassie S S, Lee B H, Gibbs B F. Purification and identification of potentially bioactive peptides fromenzyme-modified cheese. Journal of Dairy Science 1998; 82: 1612–17.

16. Ryhanen E L, Pihlanto L A, Pahkala E. A new typeof ripened low-fat cheese with bioactive properties. International Dairy Journal 2011; 11, 441–7.

Kinetic Analysis of Antioxidant Changes in Domestic Cheese with *Haven* Extract Made in Clay Jugs during the Proteolysis Progress

Bahrami B[1], Alizadeh M[2], Hassanzadeh Ochtapeh H[3]

1- Msc of Food Science and Technology, Food Technology Department, Urmia University, Urmia, Iran

*2-*Corresponding author: Associated Professor of Food Science and Technology, Food Technology Department, Urmia University, Urmia, Iran. Email: m.alizadeh@gmail.com*

3- Ph.D. Sstudent of Food Science and Technology, Food technology Department, Urmia University, Urmia, Iran

Received 11 Mar, 2016 **Accepted 24 Jun, 2016**

Background and Objectives: : Reaction kinetics determines the relationship between reactant concentration and the production rate of products in the reaction at any time. In the present study, changes of antioxidant activity with proteolysis progress in traditional jug cheese containing *Haven* extract were evaluated during storage in brine and ripening stage. The aim of this study was to evaluate the beneficial properties of antioxidants in domestic jug cheese which affects the health of consumer.

Materials & Methods: Both types of cheese was located in brine (12 %) for 56 days at 10 ˚C then they were stored in clay jugs buried underneath the earthat three temperature 5, 10 and 15 ˚C. The antioxidant activity data were measured every 14 days by DPPH method and the obtained data was calculated to produce kinetics changes.

Results: The obtained result showed that the antioxidant activity was increased during storage in brine solution. In addition, it was determined that in brine ,change of antioxidant activity was followed second order kinetics for cheese samples without extract while for cheese samples containing *Haven* extract, it was not obtained specific reaction order. Experimental data were fitted to kinetics models of zero, first and second order. Also, changes of antioxidant activity in cheese samples inside the Jug and without *Haven* extract**,** were followed zero order kinetics model and reaction rate constant (0.62) reached maximum at 10 ˚C. For cheese samples containing *Haven* extract, antioxidant activity did not followed specific reaction order (R^2< 0.8).This may be due to intense and non- specific proteolysis originate from enzymes of *Haven* extract.

Conclusion: In general, antioxidant activity increased with greater intensity in cheese samples containing *haven* extracts. Also, the antioxidant effects of all samples of traditional cheese Jugs has increased during ripening.

Keywords: Antioxidant activity, Traditional jug cheese, Kinetics models, *Haven* extract

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 19:48 +0330 on Tuesday September 26th 2017