مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره 1، بهار 1392، صفحات 262-253

بررسی ویژگی‌های بافتی و حسی پنیر سفید فراپالایش شده‌ی تولیدی با پروتئاز گیاه پنیرباد (*ویتانیا کواگولانس*) در مقایسه با مایه‌پنیر قارچی

مریم بیگمی[1]، محسن قدس روحانی [2]، محمد امین محمدی فر[3]، مریم هاشمی[4]،محرم ولی زاده[5]، کیاندخت قناتی[6]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
2- استادیار گروه صنایع غذایی موسسه آموزش عالی علمی – کاربردی وزارت جهاد کشاورزی(شهید هاشمی نژاد مشهد)
3- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: mohamdif@ut.ac.ir
4- استادیار پژوهشی، بخش تحقیقاتی بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
5- استادیار مرکز پژوهشی گیاهان دارویی و زینتی، دانشگاه سیستان و بلوچستان
6- دکترای دامپزشکی، مدیر پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت: 91/8/25 تاریخ پذیرش: 91/11/30

چکیده

سابقه و هدف: تلاش‌های متعددی برای جایگزین کردن مایه‌پنیر حیوانی با سایر پروتئازهای منعقدکننده‌ی شیر به علت محدودیت تولید و قیمت در حال افزایشِ مایه‌پنیر حیوانی انجام شده است. میوه‌ی گیاه *ویتانیا کواگولانس* (سولاناسه)، منبع غنی پروتئازهای منعقدکننده‌ی شیر است که از گذشته‌های دور در جنوب ایران به عنوان مایه‌پنیر در تولید پنیرهای سنتی به کار می‌رفته است. مطالعات اندکی در خصوص این گیاه و پنیر تولیدی با آن صورت گرفته است. هدف این پژوهش، تولید پنیر سفید فراپالایش شده با عصاره‌ی آنزیمی میوه‌ی گیاه *ویتانیا کواگولانس* و بررسی ویژگی‌های بافتی و حسی پنیر تولیدی طی 60 روز نگهداری در مقایسه با مایه‌پنیر قارچی بود.

مواد و روش‌ها: عصاره‌ی آنزیمی میوه‌ی گیاه *ویتانیا کواگولانس* با استفاده از محلول 0/85درصد NaCl استخراج و به‌عنوان مایه‌پنیر به کار رفت. ویژگی‌های بافتی و حسی پنیرهای تولید شده به ترتیب با استفاده از دستگاه سنجش بافت و ارزیاب‌های حسی (روش هدونیک) بررسی شد.

یافته‌ها: نوع مایه پنیر اثر معنی‌داری بر ویژگی‌های بافتی و حسی پنیر تولیدی در تمام صفات اندازه‌گیری شده داشت. در ارزیابی حسی بجز روز سومِ نگهداری، نمره‌ی همه‌ی صفات مورد اندازه‌گیری در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی در مقایسه با نوع گیاهی بالاتر بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که پروتئاز گیاه *ویتانیا کواگولانس* می‌تواند گزینه‌ی مناسبی به عنوان جایگزین مایه‌پنیر قارچی در تولید پنیرهایی با دوره‌ی نگهداری کوتاه باشد.

واژگان کلیدی: *ویتانیا کواگولانس*، پنیر سفید فراپالایش شده، آنالیز پروفیل بافت، ارزیابی حسی

• مقدمه

پنیر فراورده‌ای است که پس از انعقاد پروتئین شیر و خروج آب پنیر حاصل می‌شود. تقریباً یک‌سوم شیر تولید شده در جهان برای تولید پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرد (1). با افزایش میزان تولید شیر در سال‌های اخیر، تولید پنیر هم روند رو به رشد قابل داشته است. به طوری که طبق آمار ارائه شده از سوی *FAO* در سال2010 میزان مصرف پنیر طی سال‌های 2004 تا 2008 از افزایش پایدار 9 درصدی برخوردار بوده است. در ایران نیز میزان تولید پنیر طی سال-های اخیر افزایش یافته است. طبق آمار ارائه شده از سوی *IDF* (*International Dairy Federation*) میزان تولید پنیر در ایران در سال 2009 حدود 245 هزار تن اعلام شده است (2).

یکی از پرمصرف‌ترین پنیرهای مورد استفاده در کشور، پنیر سفید فراپالایش شده است که مصرف سرانه‌ی آن 5/4

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

کیلوگرم در سال اعلام شده است (3). در تولید این پنیر و بیشتر پنیرها تشکیل لخته به وسیله‌ی عمل پروتئازهای اختصاصی (مایه‌پنیر) صورت می‌گیرد. عمده‌ترین و شناخته شده‌ترین مایه‌پنیری که در بیشتر نقاط جهان برای انعقاد شیر به کار می‌رود، منشأ حیوانی دارد و عمدتاً از شیردان گوساله‌ی شیرخوار استخراج می‌شود. با وجود مزایای این نوع مایه‌پنیر و روند رو به رشد تقاضا برای آن، تولیدش بنا به دلایل مختلف کاهش یافته است مانند: افزایش رژیم غذایی گیاهخواری، ظهور بیماری‌های مزمن و خطرناکی (مثل جنون گاوی)، افزایش قیمت گوشت و کاهش کشتار گوساله-های جوان (4).

افزایش تولید جهانی پنیر با ضریبی حدود 3/5 درصد از سال 1961 و کاهش تولید مایه‌پنیر حیوانی نگرش جدیدی در خصوص دسترسی به جایگزین‌های مناسب برای مایه‌پنیر حیوانی پدید آورده است (4). در حال حاضر، تولید و استفاده از مایه‌پنیرهای میکروبی، گیاهی و مایه‌پنیر نوترکیب (که توسط مهندسی ژنتیک تولید می‌شود) مورد توجه محققان قرار گرفته است (5). مایه‌پنیرهای میکروبی با وجود برخی مزایا، معایبی هم دارند، مانند کاهش بازده تولید پنیر در حدود 1 تا 2 درصد و فعالیت پروتئولیتیکی بالا (6). در زمینه مایه‌پنیرهای با منشأ مهندسی ژنتیک نیز محدودیت-هایی برای مصرف‌کنندگان وجود دارد. به طوری که قوانین موجود در برخی کشورهای اروپایی از جمله کشورهای آلمان، هلند و فرانسه استفاده از مایه‌پنیر حاصل از میکروارگانیسم‌های اصلاح شده‌ی ژنتیکی را منع کرده‌اند (7، 4).

مایه‌پنیرهای حاصل از گیاهان یکی دیگر از انواع مایه‌پنیر است. استفاده از این نوع مایه‌پنیر از دیرباز در کشورهایی مانند پرتغال، اسپانیا، آرژانتین، فرانسه و ایتالیا در تولید پنیر به روش سنتی مرسوم بوده است. نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر امکان استفاده از پروتئازهای گیاهی را به عنوان جایگزین مناسب، کم‌هزینه و ایمن برای مایه‌پنیرهای دیگر را نشان می‌دهد. ویژگی منحصر به فردِ پروتئازهای گیاهی داشتن زنجیره‌ی اضافی با 100 اسید آمینه است که در پروتئازهای با منشأ حیوانی و میکروبی وجود ندارد (8). یکی از مزیت‌های آنزیم‌های گیاهی بالاتر بودن دمای بهینه‌ی فعالیت این آنزیم‌ها در مواردی است که عملیات پنیرسازی با فرایند حرارتی توأم است. علاوه بر این، دلمه‌ی تولیدی با مایه‌پنیر گیاهی در مقایسه با مایه حیوانی، کمتر تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد. هم‌چنین، این پروتئازها پاسخ بیشتری به افزایش فعالیت انعقادی با اضافه کردن کلسیم در شیر نشان می‌دهند. به طوری که با اضافه کردن 0/1 درصد کلسیم فعالیت این آنزیم‌ها تقریباً 3 برابر می‌شود (9). علاوه بر این، با توجه به فعالیت پروتئولیتیکیِ بالاتر آنزیم‌های گیاهی می‌توان تا حدی بر مشکلاتی مانند بافت سخت و طعم ضعیف پنیرهای تولید شده با استفاده از شیرفراپالایش شده غلبه کرد که ناشی از هیدرولیز ناقص پروتئین‌ها در این نوع پنیر است (11، 10). با استفاده از آسپارتیک پروتئازهای گیاهی می‌توان دوره‌ی رسیدگی پنیرهایی را که به زمان طولانی‌تر جهت رسیدن نیاز دارند، کوتاه کرد (12).

یکی از این گیاهان *سینارا کاردونکلوس* (*Cynara cardunculus*) است که از 2000 سال پیش در جنوب اروپا مورد استفاده قرار می‌گرفته و اخیراً هم مورد توجه محققان واقع شده است. از عصاره‌ی این گیاه در تولید پنیرهای *لوس پدروچ* (*Los Pedroches*) و *لاسرنا* (*La Serena*) در پرتغال و اسپانیا استفاده شده است(13)

گیاه *مارتیغال* با نام علمی *Silybum marianum* از گیاهانی است که عصاره‌ی حاصل از گل‌های آن غنی از آسپارتیک پپتیدازها است که فعالیت منعقدکنندگی شیر دارد و از آن در تولید پنیر سرپا (Serpa) استفاده شده است (15، 14). بررسی فعالیت پروتئازی عصاره‌ی حاصل از گل و برگ‌های گیاه *Centaurea calcitrapa* توانایی این گیاه در انعقاد شیر و استفاده از آن در صنایع لبنی را نشان می‌دهد (16). با وجود مطالعات گسترده در خصوص امکان جایگزینی مایه‌پنیر گیاهی در صنعت پنیرسازی متأسفانه برخی نتایج حاکی از نامناسب بودن مایه‌پنیرهای گیاهی به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی زیاد یا طعم تلخ در محصول نهایی و گاهی غیر اختصاصی عمل کردن هیدرولیز کازئین و کاهش استحکام لخته در مقایسه با کیموزین است (17).

یکی دیگر از پروتئازهای گیاهی پروتئاز گیاه پنیر باد با نام علمی *Withanina coagulans* است و انتظار می‌رود ویژگی-های نامطلوب فوق را نداشته باشد (18). از این گیاه به طور سنتی در منطقه‌ی بلوچستان ایران و همچنین در کشورهای پاکستان و افغانستان جهت تولید پنیر استفاده می‌شود. پنیرباد گیاهی است پایا، درختچه‌ای، با بوته‌هایی به ارتفاع 30 تا 100 سانتی‌متر که به صورت خودرو در سراسر پاکستان و همچنین جنوب غربی هند و افغانستان می‌روید.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

در ایران پراکنش این گیاه محدود به منطقه‌ی بلوچستان در استان سیستان و بلوچستان است و عمدتاً در رویشگاه‌های طبیعی شهرستان‌های سراوان، خاش و ارتفاعات بم‌پشت رشد می‌کند (19).

با توجه به توسعه صنعت پنیرسازی در دو دهه‌ی گذشته و افزایش تولید و مصرف پنیر و از طرف دیگر کمبود مایه‌پنیر حیوانی و معایب ناشی از سایر مایه‌پنیرها و پتانسیل خوب پروتئازهای موجود در گیاه پنیر باد، به نظر می‌رسد که لازم است در خصوص قابلیت انعقادی عصاره‌ی حاصل از این گیاه برای تولید پنیر مطالعات جامعی صورت گیرد. در این پژوهش، پروتئازهای حاصل از میوه‌ی گیاه پنیر باد به عنوان مایه‌پنیر استخراج و اثرات آن روی ویژگی‌های بافتی و حسی پنیر سفید فراپالایش شده در مقایسه با پنیر تهیه شده با رنت قارچی بررسی شد.

• مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه‌ها: نمونه‌ی مورد استفاده میوه‌ی گیاه پنیر-باد بود که در فواصل زمانی تیر تا مرداد 1390 توسط *مرکز پژوهشی گیاهان دارویی و زینتی دانشگاه سیستان و بلوچستان* از نواحی اطراف شهر سراوان جمع‌آوری شد. این منطقه در تابستان دارای رطوبت نسبی 20 % و دمای 34°C بود. نمونه‌ها بعد از جمع‌آوری با آب دیونیزه شسته و در دمای 25°C در محیط آزمایشگاه خشک شد.

عصاره‌گیری از میوه‌ی گیاه: استخراج عصاره‌ی آنزیمی با محلول استخراج 0/85 درصد NaCl انجام گرفت. 10 گرم میوه‌ی گیاه پنیرباد به وسیله آسیاب آزمایشگاهی پودر شد. پودر حاصل با 60ml از این محلول هموژنیزه شد. مخلوط حاصل به مدت 24 ساعت همراه با هم زدن آرام در دمای 4°C قرار گرفت. بعد از گذشت مدت زمان لازم به منظور جداسازی مواد جامد و نامحلول، ترکیب حاصل به مدت 30 دقیقه در دمای 4°C در 20800xg سانتریفوژ شد. پس از صاف شدن مجدد محلول فوقانی، عصاره‌ی حاصل تا زمان استفاده در دمای 4°C نگهداری شد (20).

شناسایی آنزیم و تعیین مقدار آن: غلظت پروتئین تام عصاره‌ی آنزیمی طبق روش برادفورد (21) و با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد تعیین شد. ابتدا جذب دستگاه اسپکتروفتومتر(CECIL، انگلستان) در طول موج 595 نانومتر توسط بلانک صفر شد. سپس 100 میکرولیتر عصاره‌ی میوه در کووت ریخته شد و به آن 1000 میکرولیتر معرف برادفورد اضافه شد. و پس از گذشت 5 دقیقه جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 595 نانومتر به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد.

تولید پنیر سفید فراپالایش شده: پنیری مشابه فرایند متداول در *کارخانه‌ی فراورده‌های لبنی پگاه خراسان* در مقیاس آزمایشگاهی تولید شد. شیر ناتراوه (رتنتیت) به دست آمده از روش فرا پالایش مربوط به شیر گاو فصل در اسفند 1390 بود، مایه‌پنیر گیاهی، عصاره‌ی آنزیمی میوه گیاه پنیرباد بود. مایه‌پنیر قارچی به کار رفته از نوع Fromase2200 TL Granulate از شرکت DMS استرالیا و استارتر نوع Delvo MT54Y DSL از همان شرکت (حاوی باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه‌ی کرموریس*) بود.

روش تولید پنیر: برای هر نوبت تولید پنیر، 5 کیلوگرم شیر ناتراوه‌ی پاستوریزه از خط تولید برداشته و تا دمای 35°C سرد شد. برای تولید نمونه پنیر شاهد (تولید شده با مایه‌پنیر قارچی) به میزان 3% استارتر و مایه‌پنیر قارچی به شیر ناتراوه افزوده شد. برای تولید نمونه پنیر آزمایشی (تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی) مخلوط 3% استارتر و مایه‌پنیرگیاهی به شیر ناتراوه افزوده شد. پس از اختلاط، مخلوط حاصل داخل ظروف 100 گرمیِ آغشته به آنتی‌فوم و آنتی‌استیک ریخته و در انکوباتور 35°C قرار داده شد. پس از تکمیل انعقاد، به مقدار 3 گرم به هر ظرف نمک اضافه شد و پس از دربندی، به مدت 24 ساعت گرمخانه‌گذاری (28-30°C) شد. پس از رسیدن pH به حدود 4/6 نمونه‌ها تا 72 ساعت در سردخانه (7°c) نگهداری شد. همه‌ی آزمایش‌های بافتی و حسی در روزهای 3، 20، 40 و 60 نگهداری پنیر انجام گرفت (22).

آزمون آنالیز پروفیل بافت: برای آزمون TPA (Texture Profile Analysis) از دستگاه Texture Analyzer (مدل CNS FARNEL،QTS25 ، انگلستان) و پروب استوانه‌ای به قطر 36mm استفاده شد. نمونه‌های پنیر بلافاصله قبل از آزمایش از یخچال خارج شد و پس از برش به ابعاد 20mm×20×20 تا 50% ارتفاع اولیه (عمق 10mm) توسط دستگاه فشرده شد. هر آزمون حداقل در سه تکرار انجام شد. برای جلوگیری از اصطکاک و چسبیدن پنیر به دستگاه، سطح پروب و صفحه‌ی ثابت دستگاه قبل از آزمایش با روغن مایع آغشته می‌شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

صفات مورد اندازه‌گیری عبارت بودند از: سختی (hardness)، پیوستگی (cohessivness)، حالت ارتجاعی (springness)، حالت صمغی (gumminess) و کار سختی (hardness 1work done). لازم به ذکر است که آزمون TPA یک آزمون دو مرحله‌ای است و صفات مذکور با توجه به منحنی استاندارد TPA تعریف شدند (23).

ارزیابی ویژگی‌های حسی: ویژگی‌های حسی از نظر طعم، بافت و پذیرش کلی میان دو نمونه‌ی پنیر با منشأ آنزیمی مختلف طی روزهای 3، 20، 40 و 60 نگهداری با استفاده از آزمون چشایی (taste panel) به روش هدونیک (Hedonic) به صورت آزمون پنج نقطه‌ای انجام شد (ازخیلی بد : 1 تا خیلی خوب:5) (24). ارزیاب‌ها 30 نفر بودند که از بین کارشناسان شاغل در *معاونت غذا و داروی زاهدان* انتخاب شدند و با ویژگی‌های پنیر به‌طور کامل آشنا بودند. نمونه‌ها (بسته‌های 100 گرمی) قبل از انجام آزمون از یخچال خارج شد و پس از رسیدن به دمای محیط در قطعات 30 گرمی در اختیار ارزیاب‌ها قرار می‌گرفت. ارزیاب‌ها نمونه‌ها را از نظر طعم، بافت و پذیرش کلی ارزیابی کردند.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به دست آمده پس از آزمون نرمالیته در قالب طرح آماری فاکتوریل بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد آزمون قرار گرفت. در صورت وجود معنی‌داری، مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5% انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها و مقایسه‌ی میانگین‌ها به کمک نرم افزار SPSS18 انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار systat sigma plot 12 انجام شد.

• یافته‌ها

اندازه‌گیری غلظت پروتئین: غلظت پروتئین عصاره‌ی آنزیمی بعد از ترسیم نمودار استاندارد با بالاترین ضریب همبستگی و معادله‌ی منحنی به ترتیب R^2=0/984 و y =0/928 x+0/034 تعیین شد. غلظت پروتئین عصاره‌ی آنزیمی 1mg/ml بود.

بررسی تغییرات TPA طی دوره‌ی نگهداری: میانگین و انحراف معیار نتایج مربوط به داده‌های آزمون TPA در دو نمونه‌ی پنیر (تولید شده با مایه‌پنیر قارچی و مایه‌پنیر گیاهی) طی 60 روز نگهداری در جدول‌های 1 و 2 نشان داده شده است.

جدول 1. میانگین و انحراف معیار پارامترهای به دست آمده در آزمون TPA روی پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی

زمان نگهداری(روز)	3	20	40	60
سختی (g)	235 ±28/96*	291/11±79/15	303/7±33/62	220/66±57/59
پیوستگی	0/18±0/03	0/22±0/05	0/24±0/06	0/26±0/09
حالت ارتجاعی (mm)	4/46±0/72	4/80±0/55	5/10±0/50	4/55±0/68
حالت صمغی (g)	42/33±9/11	58/88±12	74/33±19/71	55/94±15/75
کارسختی(gs)	1453/88±202/64	1624/66±218/97	1882/44±313/57	1300/22±498/04

*نتایج به صورت میانگین سه تکرار± انحراف معیار نشان داده شده است.

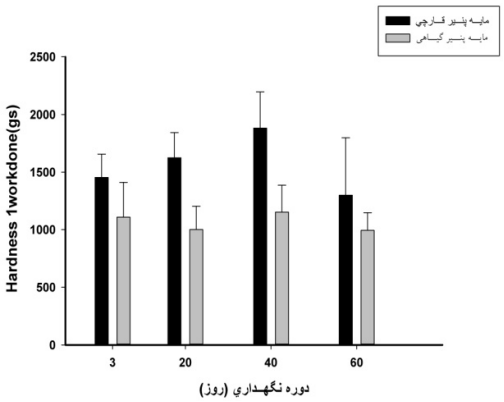
جدول 2 . میانگین و انحراف معیار پارامترهای به دست آمده در آزمون TPA بر روی پنیر تولید شده با مایه‌پنیرگیاهی

زمان نگهداری (روز)	3	20	40	60
سختی (g)	173/38±36/69*	156/55±28/05	180/33±37/47	161/77±16/59
پیوستگی	0/23±0/07	0/24±0/04	0/24±0/04	0/24±0/05
حالت ارتجاعی (mm)	3/94±0/32	4/5±0/45	4/1±0/60	4/46±0/65
حالت صمغی (g)	40/23±11/84	37/38±7/34	46/44±15/49	38/45±10/38
کارسختی(gs)	1108±303/45	1001±203/33	1152/44±233/45	994/11±153/93

*نتایج به صورت میانگین سه تکرار± انحراف معیار نشان داده شده است.

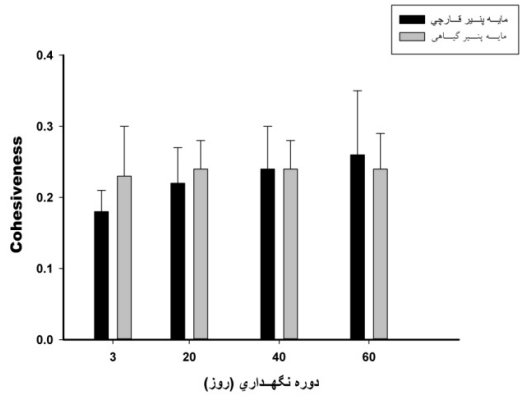
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

سختی و کارسختی: نتایج حاصل از تجزیه‌ی واریانس داده‌ها در مورد دو صفت سختی و کارسختی مشابه بود. به طوری که نوع مایه‌پنیر و زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر مقادیر هر دو صفت طی 60 روز نگهداری در دو نمونه‌ی پنیر تولیدی داشت. ولی اثر متقابل این دو صفت معنی‌دار نبود. مقایسه‌ی میانگین داده‌ها به روش دانکن در سطح احتمال 5% هم نشان داد که مقدار سختی در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی تا روز 40 نگهداری روندی افزایشی داشت و سپس در روز 60 نگهداری کاهش یافت. این روند تغییرات در مقایسه با پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی متفاوت بود. به طوری که در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی میزان سختی بجز روز 40 نگهداری یک روند کاهشی نسبت به روز سوم نگهداری داشت. در مورد صفت کار سختی نیز روند عمومی تغییرات در طی دوره‌ی نگهداری در نمونه‌ی پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی، افزایشی بود، ولی در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی، بجز روز 40 روند تغییرات کاهش نشان داد (شکل 1).



شکل 1. تغییرات مقادیر کار سختی در نمونه‌های مختلف پنیر با منشأ آنزیمی متفاوت طی دوره‌ی نگهداری

پیوستگی و حالت ارتجاعی: نوع مایه‌پنیر تأثیر معنی‌داری بر میزان هر دو صفت طی 60 روز نگهداری در دو نمونه پنیر تولیدی داشت ($P<$5%)، ولی زمان نگهداری و اثر متقابل این دو عامل معنی‌دار نبود (شکل 2).

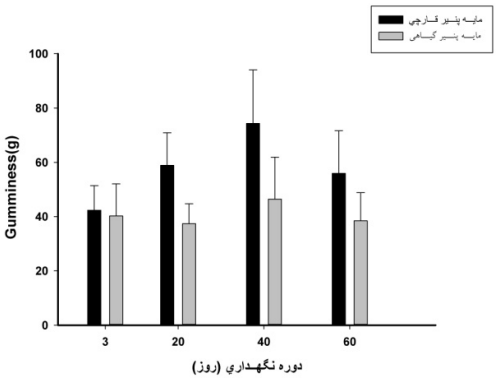


شکل 2. تغییرات مقادیر پیوستگی در نمونه‌های مختلف پنیر با منشأ آنزیمی متفاوت طی دوره‌ی نگهداری

تغییرات صفت پیوستگی در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی در طول دوره‌ی نگهداری، روندی افزایشی داشت. در حالی که در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی مقدار پیوستگی فقط تا روز 20 (نسبت به روز 3) اندکی افزایش یافت و پس از آن تا انتهای دوره‌ی نگهداری ثابت ماند.

حالت ارتجاعی در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی تا روز 40 نگهداری روند افزایشی و پس از آن روند کاهشی را تا انتهای دوره طی کرد که با روند تغییرات در پنیر تولید شده با منشأ آنزیم گیاهی متفاوت بود.

حالت صمغی: نوع مایه‌پنیر و زمان رسیدگی و اثر متقابل این دو عامل تأثیر معنی‌داری بر میزان این صفت طی 60 روز نگهداری دو نمونه پنیر تولیدی داشت. همان طور که در شکل 3 نیز مشاهده می‌شود، در پنیر تولید شده با مایه پنیر قارچی تا روز 40 نگهداری، حالت صمغی افزایش یافت، در حالی که در پنیر تولید شده با منشأ آنزیم گیاهی بجز روز 40 که میزان آن افزایش یافت، در بقیه روزها روندی کاهشی داشت.



شکل 3. تغییرات مقادیر حالت صمغی در نمونه‌های مختلف پنیر با منشأ آنزیمی متفاوت طی دوره‌ی نگهداری

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

ارزیابی حسی: نتایج حاصل از ارزیابی حسی در جدول‌های 3 و 4 آورده شده است. یافته‌ها بیانگر تأثیر معنی‌دار نوع مایه‌پنیر (گیاهی و قارچی)، زمان رسیدن و اثر متقابل این دو عامل بر شاخص‌های طعم، بافت و پذیرش کلی طی دوره‌ی نگهداری بود با این تفاوت‌که در ویژگی بافت، اثر متقابل (زمان نگهداری و نوع مایه‌پنیر) معنی‌دار نبود.

پنیر تولید شده با مایه پنیر گیاهی در روز 3 نگهداری از نظر هر سه ویژگی (طعم، بافت و پذیرش کلی) امتیاز بالاتری نسبت به پنیر تولید شده با مایه پنیر قارچی داشت.

جدول3. میانگین و انحراف معیار داده‌های ارزیابی حسی پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی در طول دوره‌ی نگهداری

زمان نگهداری(روز)	طعم	بافت	پذیرش کلی
3	3/43±0/67	3/60±0/53	3/67±0/61
20	3/57±0/64	3/65±0/58	3/67±0/62
40	3/58±0/60	3/58±0/57	3/58±0/59
60	3/23±0/58	3/55±0/60	3/42±0/54

جدول4. میانگین و انحراف معیار داده‌های ارزیابی حسی پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی در طول دوره‌ی نگهداری

زمان نگهداری(روز)	طعم	بافت	پذیرش کلی
3	3/7±0/71	3/76±0/64	3/86±0/71
20	2/87±0/75	3/16±0/67	2/98±0/72
40	2/78±0/78	3/32±0/67	2/88±0/82
60	2/40±0/54	3/22±0/62	2/62±0/58

• بحث

با توجه به نتایج به دست آمده، اختلاف معنی‌داری بین ویژگی‌های بافتی و حسی دو نوع پنیر تولید شده با منشأ آنزیمی مختلف مشاهده می‌شود، که با توجه به مشابه بودن شرایط فرایند تولید و نگهداری، این موضوع به نوع مایه پنیر مربوط می‌شود. بر اساس یافته‌های *Joseph Yun* و همکاران (1993) بر روی ویژگی‌های بافتی پنیر، نوع مایه پنیر، یکی از عوامل مؤثر بر ویژگی‌های بافت پنیر است (25).

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که در پنیر تولید شده با مایه پنیر قارچی در روز 60 نگهداری (انتهای دوره‌ی)، مقادیر اکثر صفات بافتی اندازه‌گیری شده به استثنای صفت پیوستگی کاهش یافته است، این روند تغییرات در تمام صفات بافتی اندازه‌گیری شده در پنیر تولیدی با مایه پنیر گیاهی به استثنای حالت ارتجاعی نیز مشاهده شد. کاهش در مقادیر صفات بافتی در انتهای دوره‌ی نگهداری در مطالعه انجام شده توسط *Joseph Yun* و همکاران (1993) هم گزارش شده است (25).

بررسی و مقایسه‌ی جداگانه نتایج بافت نشان می‌دهد که در صفت سختی، وجه مشترک هر دو نمونه پنیر افزایش مقدار آن در روز 40 دوره‌ی نگهداری است. هر چند مقادیر صفت سختی در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی در طول دوره‌ی نگهداری به مراتب بالاتر از پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی بود. طبق مطالعات صورت گرفته توسط *Tunick* و همکاران (1993) و *Bryant* و همکاران (1995) عامل اصلی تأثیرگذار روی صفت سختی، میزان رطوبت پنیر است، به طوری‌که رابطه‌ی معکوسی بین میزان رطوبت و سختی وجود دارد (27، 26).

بررسی روند تغییرات بین سه صفت سختی، صمغی و کار سختی طی دوره‌ی نگهداری نشان می‌دهد که روند تغییرات در صفات فوق در هر دو پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی و مایه‌پنیر گیاهی مشابه است. به طوری که در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی هر سه صفت روند افزایشی تا روز 40 نگهداری داشتند و سپس روند کاهشی تا انتهای دوره‌ی نگهداری نشان دادند. در نمونه‌ی پنیر تولید شده با مایه‌پنیر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

گیاهی نیز روند تغییرات به صورت کاهش، افزایش و سپس کاهش در هر سه صفت، بود.

هر دو نمونه‌ی پنیر از نظر صفت پیوستگی تقریباً مشابه بودند، به این صورت که روند تغییرات پیوستگی در هر دو نمونه پنیر تا انتهای دوره رسیدگی افزایشی بود. با این تفاوت که پیوستگی در روز 3 دوره رسیدگی در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی بالاتر از پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی بود.

به نظر می‌رسد که عوامل موثر بر تغییرات بافت در مراحل اولیه‌ی نگهداری با انتهای دوره‌ی نگهداری متفاوت است. به طوری‌که رطوبت و pH از عوامل مؤثر بر تغییرات بافت طی مراحل اولیه‌ی دوره‌ی نگهداری ذکر شده است (28). *Watkinson* و همکاران (2001) با مطالعه روی عوامل مؤثر بر ویژگی‌های بافتی پنیر نشان دادند یکی از اصلی‌ترین عوامل pH و سپس رطوبت پنیر است (29، 28).

اندازه‌گیری میزان رطوبت و pH در هر دو نمونه پنیر تولید شده با منشأ آنزیمی مختلف (نتایج ارائه نشده است) نشان داد که میزان رطوبت و pH در پنیرهای تولید شده با مایه پنیر گیاهی به مراتب بالاتر از پنیرهای تولید شده با مایه پنیر قارچی است (به ویژه در روز 3 نگهداری) و به همین دلیل، بسیاری از صفات مانند سختی در پنیرهای تولید شده با منشأ آنزیم گیاهی به مراتب پایین‌تر بود. *Gomaa* (1990) با بررسی تغییرات بافت در دو نوع پنیر سنتی *دومیاتی* (*Domiati*) و پنیر UF طی دوره‌ی نگهداری نشان داد که افزایش شاخص‌های بافتی طی دوره‌ی اولیه‌ی نگهداری در هر دو نوع پنیر به کاهش رطوبت و pH نسبت داده می‌شود که به ایجاد بافت سفت در پنیر منتهی می‌شود؛ اما تغییرات ایجاد شده در انتهای دوره‌ی نگهداری به تغییرات ماتریکس پروتئین نسبت داده می‌شود (30).

تنها دلیل واضح در بیشتر تغییرات بافتی در نمونه پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی را می‌توان به پروتئولیز بیشتر در این نوع پنیر نسبت داد. پروتئولیز در پنیر که در اثر عواملی مانند آنزیم‌های باکتری‌های سرماگرا، مایه‌پنیر و آنزیم‌های سلول‌های سوماتیک رخ می‌دهد، می‌تواند باعث تولید پپتیدهای کوچک و افزایش اسیدهای آمینه شود. در ادامه در اثر کاتابولیسم این پپتیدها و اسیدهای آمینه توسط میکروفلور پنیر، آمونیاک و گروه‌های آمین تولید می‌شوند، که همه‌ی این عوامل موجب افزایش pH بعد از گذشت 45 روز از دوره‌ی نگهداری و نهایتاً موجب تغییرات واضح در بافت پنیر می‌شود (31).

هم‌چنین طی فرایند تولید پنیر، مقادیری از مایه پنیر، درون بافت پنیر باقی می‌ماند. از سوی دیگر pH اسیدی و مناسب پنیر سفید فراپالایش (اسیدی)، باعث می‌شود مایه پنیر به فعالیت پروتئولیتیکی خود در طی دوره‌ی نگهداری ادامه دهد. با افزایش شدت پروتئولیز، ماتریکس پروتئین در پنیرهای تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی متحمل هیدرولیز بیشتر و موجب ساختار نرم‌تر می‌شود. در نتیجه، نرمی و احساس چربی پنیر نیز افزایش می‌یابد.

Tejada و همکاران (2008) با بررسی ویژگی‌های بافتی پنیر *مورسیا آل وینو* (*Murcia al vino*) تولید شده با مایه‌پنیر حیوانی و گیاهی (*سینارا کاردونکلوس*) نشان دادند، پنیرهایی که با مایه‌پنیر حیوانی تولید شده بودند، به طور معنی‌داری بافت سفت‌تری نسبت به پنیر تولید شده با مایه‌پنیر گیاهی داشتند (32).

بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی حسی، بیشترین امتیاز در روز 3 نگهداری در نمونه‌ی تولید شده با مایه پنیر گیاهی دیده شد، ولی نتایج روزهای 20، 40 و 60 نگهداری حاکی از امتیازات بالاتر در پنیر تولید شده با مایه‌پنیر قارچی بود.

عطر، طعم و بافت اغلب پنیرها تحت تأثیر نوع شیر مورد استفاده (گاو، میش و بز)، واکنش‌های بیوشیمیایی پیچیده در طول دوره‌ی نگهداری به وسیله آنزیم‌های موجود در شیر، نوع مایه‌پنیر مورد استفاده، میکروارگانیسم‌های طبیعی و استارتر است. پروتئولیز، لیپولیز و گلیکولیز، واکنش‌های عمده‌ای هستند که طی دوره‌ی نگهداری روی می‌دهند (33). پروتئولیز، از طریق آزاد کردن پپتیدها و اسیدهای آمینه‌ی آزاد که ترکیبات عطر و طعم‌داری مانند آمین‌ها، اسیدها، تیول‌ها و تیواسترها را تولید می‌کنند، بیشترین نقش را در ایجاد عطر و طعم پنیر دارد (34). به این ترتیب که کازئین‌های موجود در دلمه به وسیله‌ی عمل مایه‌پنیر و پلاسمین طبیعی شیر به پپتیدهای بزرگ و متوسط در طول تولید و رسیدن پنیر تبدیل می‌شود. تجزیه‌ی بیشتر به وسیله‌ی پپتیدازهای مربوط به باکتری‌های اسید لاکتیک استارتر صورت می‌گیرد در نتیجه، پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه‌ی آزاد تولید می‌شود. عطر و طعم پنیر تا حد زیادی به ترکیبات ازته‌ی محلول به ویژه اسیدهای آمینه و پپتیدهای کوچک مربوط می‌شود. هم‌چنین هنگامی که قسمت‌های آب‌گریز کازئین‌ها توسط آنزیم‌های مایه‌پنیر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

تجزیه می‌شود، پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه‌ای تولید می شوند که مسئول ایجاد طعم تلخ در پنیر رسیده هستند. به نظر می‌رسد طعم تلخ در پنیر تولید شده با استفاده از مایه‌پنیر گیاهی به دلیل افزایش تولید پپتیدهای کوچک در اثر پروتئولیز بیشتر باشد که در روز 60 نگهداری به خوبی احساس شد و سبب شد این نوع پنیر امتیاز کمتری کسب کند.

با توجه به نتایج حاصل از ارزیابی حسی، دسترسی ساده و ارزان به این گیاه به نظر می‌رسد بتوان از مایه‌پنیر گیاهی *ویتانیا کواگولانس* به عنوان مایه‌پنیر جایگزین در تولید پنیرهایی مانند پروسس و موزارلا به دلیل اعمال فرایند حرارتی در فرایند تولید و هم‌چنین برای مصرف تازه‌خوری استفاده کرد. البته، خالص‌سازی عصاره‌ی آنزیمی و استفاده از عصاره‌ی خالص شده در تولید پنیر نیز پیشنهاد می‌شود.

• References

1. Lim B, DeMan J, DeMan L, Buzzell R. Yield and quality of tofu as affected by soybean and soymilk characteristics. Calcium sulfate coagulant. J Food Sci 1990;55(4):1088-92.
2. Bulletin of International Dairy Federation Belguim: fil-idf; 2010 [cited 2012]; Available from: www.fil-idf.org. Accessed 21 November 2010.
3. Alizadeh M, Hamedi M, Khosroshahi A. Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese. Food Chem 2006;97(2):294-301.
4. Jacob M, Jaros D, Rohm H. Recent advances in milk clotting enzymes. Int J Dairy Technol 2011;64(1):14-33.
5. Bruno MA, Lazza CM, Errasti ME, López LMI, Caffini NO, Pardo MF. Milk clotting and proteolytic activity of an enzyme preparation from Bromelia hieronymi fruits. LWT-Food Sci Technol. 2010;43(4):695-701.
6. Fox P, McSweeney P. Cheese: an overview. Cheese: chemistry, physics and microbiology. 2004;1:1-18.
7. Roseiro LB, Barbosa M, Ames JM, Wilbey RA. Cheesemaking with vegetable coagulants; the use of Cynara L. for the production of ovine milk cheeses. Int J Dairy Technol. 2003;56(2):76-85.
8. Faro C, Verissimo P, Lin Y, Tang J, Pires E. Aspartic proteinases: structure, function, biology and biomedical implications, Takahashi, K. New York: Plenum Press,; 1995.
9. Dastur NN. Milk clotting enzymes from plants. Bangalore: Indian Dairy Research Institute; 1948. Preparation of vegetable rennet from Withania coagulans. Indian J. Vet. Sci. 18:223-240
10. Low YH, Agboola S, Zhao J, Lim MY. Clotting and proteolytic properties of plant coagulants in regular and ultrafiltered bovine skim milk. Int Dairy J 2006;16(4):335-43.
11. Agboola SO, Chan HH, Zhao J, Rehman A. Can the use of Australian cardoon (*Cynara cardunculus L.*) coagulant overcome the quality problems associated with cheese made from ultrafiltered milk? LWT-Food Sci Technol 2009;42(8):1352-9.
12. Galan E, Prados F, Pino A, Tejada L, Fernández-Salguero J. Influence of different amounts of vegetable coagulant from cardoon" *Cynara cardunculus*" and calf rennet on the proteolysis and sensory characteristics of cheeses made with sheep milk. Int Dairy J 2008;18(1):93-8.
13. Pino A, Prados F, Galán E, McSweeney PLH, Fernández-Salguero J. Proteolysis during the ripening of goats' milk cheese made with plant coagulant or calf rennet. Food Res Int 2009;42(3):324-30.
14. Vairo Cavalli S, Silva SV, Cimino C, Malcata FX, Priolo N. Hydrolysis of caprine and ovine milk proteins, brought about by aspartic peptidases from Silybum marianum flowers. Food Chem 2008;106(3):997-1003.
15. Cimino C, Vairo Cavalli S, Spina F, Natalucci C, Priolo N. Callus culture for biomass production of milk thistle as a potential source of milk clotting peptidases. Ele J Biotech 2006;9(3):1-14.
16. Raposo S, Domingos A. Purification and characterization milk-clotting aspartic proteinases from " Centaurea calcitrapa" cell suspension cultures. Process Biochem 2008;43(2):139-44.
17. Esteves CLC, Lucey JA, Pires E. Rheological properties of milk gels made with coagulants of plant origin and chymosin. Int Dairy J 2002;12(5):427-34.
18. Dinakar P, Mathur M, Roy D. Differences in proteolytic behaviour in cheddar cheese prepared with calf and vegetable rennet. Indian J Dairy Sci 1989;42:792-6.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

19. Ghahreman A, Attar F. Biodiversity of plant species in Iran, Publication of University of Tehran. Tehran, Iran. 1999. vol 1.342-345

20. Chazarra S, Sidrach L, López-Molina D, Rodríguez-López JN. Characterization of the milk-clotting properties of extracts from artichoke (*Cynara scolymus, L.*) flowers. Int Dairy J 2007;17(12):1393-400.

21. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochem 1976;72(1-2):248-54.

22. Ghods Rohani M, Mortazavi SA, Mazaheri Tehrani M, Razavi A. Effect of processing conditions on physical, chemical and sensory properties of ultrafiltrated Feta cheese made from cow's milk and soymilk blend. MaShhad :Ferdowsi University of Mashhad; 2009.

23. Gunasekaran S, Ak MM. Cheese rheology and texture .the United States of America: CRC; 2003.

24. International, Dairy, Federation. Sensory evaluation of dairy products by scoring. IDF 99C. Brussels: International Dairy Federation,1977.

25. Joseph Yun J, Joseph KL, Kindstedt PS, Barbano DM. Mozzarella cheese: impact of coagulant type on functional properties. J Dairy Sci 1993;76(12):3657-63.

26. Tunick MH, Malin EL, Smith PW, Shieh JJ, Sullivan BC, Mackey KL, et al .Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheeses prepared from homogenized milk. J Dairy Sci 1993;76(12):3621-8.

27. Bryant A, Ustunol Z, Steffe J. Texture of Cheddar cheese as influenced by fat reduction. J Food Sci 1995;60(6):1216-9.

28. Lawrence R, Creamer L, Gilles J. Texture development during cheese ripening. J Dairy Sci 1987;70(8):1748-60.

29. Watkinson P, Coker C, Crawford R, Dodds C, Johnston K, McKenna A, et al. Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. Int Dairy J 2001;11(4):455-64.

30. Gomaa EA. Ultrafiltration in soft white" domiati" cheese manufacture.[dissertation] East Lansing, MI. Michigan State University. Department of Food Science and Human Nutrition; 1990.

31. McSweeney PLH. Biochemistry of cheese ripening. Int J Dairy Technol 2004;57(2- 3):127-44.

32. Tejada L, Abellán A, Cayuela JM, Martínez-Cacha A, Fernández-Salguero J. Proteolysis in goats' milk cheese made with calf rennet and plant coagulant. Int Dairy J. 2008;18(2):139-46.

33. Attaie R. Effects of aging on rheological and proteolytic properties of goat milk Jack Cheese produced according to cow milk procedures. Small Ruminant Res 2005;57(1):19-29.

34. Prieto B, Franco I, Fresno JM, Prieto JG, Bernardo A, Carballo J. Effect of ripening time and type of rennet (farmhouse rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the ripening of León cow milk cheese. Food Chem 2004; 85(3):389-98.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]

Comparison of textural and sensory characteristics of ultrafiltrated white cheese produced by paneer bad (*Withania coagulans*) protease and fungal rennet

*Beigomi M[1], Ghods Rohani M[2], Mohammadifar MA[*3], Hashemi M[4], Valizadeh M[5], Ghanati k[6]*

1- M.Sc in Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Tehran, Iran.

2 Assistant Prof, Institute of Scientific – Applied Higher Education Jihad- e -Agriculture, Iran.

*3-*Corresponding author: Associate prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Tehran, Iran. E-mail:mohamdif@ut.ac.ir*

4- Assistant Prof. of Microbial Biotechnology & Biosafety Department, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Karaj, Iran.

5- Assistant Prof, Research Center of medicinal and Ornamental Plant, University of Sistan and Baluchistan, Zahedan, Iran.

6- DVM & MPh, Head, Research Departmant of The International Branch of Shahid Beheshti University of Medical Sciences & Health services,Tehran, Iran.

Received 15 Nov, 2012 **Accepted 18 Feb, 2013**

Background and Objective: Numerous attempts have been made to replace calf rennet with other milk-clotting proteases because of their limited supply and high prices. Fruit of *Withania coagulans* (solanaceae) has been traditionally employed in the south of Iran as a plant coagulant for cheese-making for a long time. So far no systematic studies have been reported on this plant or the quality and characteristics of cheese produced using it as a source of protease. The purpose of this study was to produce ultrafiltrated white cheese using *W. coagulan*s protease and compare the textural and sensory properties of the cheese thus produced with those of cheese produced using fungal rennet during storage for a period of 60 days.

Materials and Methods: The enzymatic extract of the fruit of *W.coagulans* was obtained using a solution of 0.85% NaCl and used as coagulant. Textural characteristics of the samples produced with *W. coagulans* or fungal rennet were determined with a texture analyzer, and their sensory evaluation was made using the hedonic scale.

Results: The data revealed that the type of coagulant used had statistically significant effects (p <0.05) on the textural properties and sensory characteristics of cheese samples during storage. Sensory evaluation showed that, except for the third day of storage, the scores of all properties of the cheese produced by fungal rennet were higher than those of cheese produced using *W. coagulans*.

Conclusion: It seems that *W. coagulans* protease is a good potential to be used as a substitute for fungal rennet in cheesemaking, especially cheeses with short maturity**.**

Keywords: Ultrafiltrated white cheese, *Withania coagulans,* Texture profile analysis, Sensory evaluation

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-09-05]