رساندن و تسریع آن در پنیرسازی

گردآوری
دکتر فخری شهیدی
عضو هیئت علمی بخش صنایع غذایی
دانشگاه فردوسی مشهد

این مقاله در پنجمین کنگره ملی صنایع غذایی (کرج - مهرماه ۱۳۷۰) ارائه گردیده است.

چکیده

تولید پنیر مستلزم صرف وقت و هزینه زیادی است. در پنیرسازی قسمت اعظم هزینه‌ها صرف احداث و نگهداری انبارهای مخصوص رساندن می‌شود. تسریع در زمان رساندن باعث می‌گردد که پنیر زودتر به بازار مصرف عرضه گردد و هزینه‌های مصرفی بازیافت شوند. کاربرد روشهای مختلفی که برای تسریع در رساندن پنیر پیشنهاد گردیده‌اند هنوز با مشکلاتی مواجه می‌باشند. برخی از مشکلات مربوط به روشهای مختلف را می‌توان با استفاده از یافته‌های جدید علمی در زمینه میکروواینکپولاسیون لیزوزیم، تکنیک مهندسی ژنتیک و شوک حرارتی میکروارگانیزمها بر طرف نمود. در حال حاضر شوک حرارتی به دلیل سادگی و مزایای دیگر می‌تواند در اکثر کارخانجات پنیرسازی مورد استفاده قرار گیرد. تا زمانی که علم ژنتیک بتواند با اصلاح کشت‌های استارتر، نژادهائی با خصوصیات مورد نظر (Supper strains) را ارائه دهد.

مقدمه

تاریخچه تهیه پنیر احتمالاً به قرنها پیش زمانی که قبایل چادرنشین کشورهای مدیترانه شیر پستانداران اهلی را در مشک پوست کدوی قلیائی و یا مامحفظه‌هائی از قبیل شکمبه حمل می‌کردند برمی‌گردد. وقتی که شیر گرم نگه داشته می‌شد به سرعت ترش شده و به لخته و آب پنیر جدا می‌گردید، در آن زمان دریافتند که ترشح حاصل از معده نشخوار کنندگان جوان قدرت دلمه کردن شیر را دارد و استفاده از این ماده زمان مورد نیاز برای جداسازی آب پنیر از لخته‌ها را کاهش می‌دهد. نهایتاً این مسئله منجر به استفاده از مایه پنیر (Rennet) آنزیم استخراجی از شیردان گوساله، بره، یا بزغاله برای انعقاد شیر گردید (۲۱، ۲۳).

در بریتانیا از شیره حاصل از درخت انجیر و گل خار (Teasel) برای انعقاد شیر استفاده می‌شد. در حال حاضر آنزیمهای میکروبی جهت انعقاد شیر مورد استفاده قرار می‌گیرند. در نقاط مختلف جغرافیائی، پنیر به یک شکل یا شکلهای گونا گون تهیه می‌گردد و نه تنها به عنوان یک منبع پروتئینی بلکه به عنوان یک غذای خوشمزه مورد توجه است (۲۱، ۲۳). آمار USDA[1] نشان می‌دهد که مصرف پنیر در آمریکا سالیانه ۸/۵ درصد افزایش می‌یابد، مصرف سرانه پنیر در آمریکا سالیانه ۱۰ کیلوگرم می‌باشد (۱۷). طبق اطلاعات موجود میزان پنیر تولیدی در کشور ۲۲۰۰۰۰ تن در سال است که حدود ۵۰۰۰۰ تن آن توسط واحدهای سنتی تامین می‌گردد و بر اساس آمار اداره گمرک ایران میزان واردات پنیر از سال ۱۳۶۵ لغایت ۱۳۷۱ بین ۵۳ تا ۸۷ هزار تن نوسان داشته است در ضمن با توجه به برنامه‌ریزیهای انجام شده قرار است که بین ۶۰ الی ۷۰ هزار تن به تولیدات داخلی اضافه گردد. پنیرسازی شامل چند مرحله اصلی است که در تولید تمام پنیرها مشترک می‌باشند مراحل خاص دیگری نیز برای برخی از پنیرهااستفاده می‌شود.

مراحل اصلی پنیرسازی عبارتند از:

- دریافت، توزین و ذخیره‌سازی
- آماده‌سازی اولیه
- دلمه سازی (لخته سازی)
- مراحل تکمیلی (قالب زنی، پرس و نمک زنی) و برای اکثر پنیرها رساندن.

شکل ۱ مراحل اصلی پنیرسازی را نشان می‌دهد. شیرخام کم حرارت دیده، یا شیر پاستوریزه برای تهیه پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرد، وجود پتانسیل فساد و ارگانیزمهای بیماری‌زا، استفاده از حرارت برای از بین بردن این ارگانیزمها را الزامی می‌سازد. پاستوریزاسیون شیر با استفاده از روش HTST[2] (۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه) برای این منظور کافی است.

در برخی مقالات وقتی شیر از کیفیت بهداشتی بالایی برخوردار باشد، حداقل تیمار حرارتی ۶۸ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه توصیه شده است در این درجه حرارت فسفاتاز قلیائی غیر فعال نمی‌شود و چنین شیری را نمی‌توان پاستوریزه تلقی نمود. پنیرساخته شده از شیر خام طعم و آرومای بهتری دارد اما کیفیت بهداشتی شیر همیشه به حدی نیست که بتوان آن را به صورت غیر پاستوریزه استفاده نمود.

پنیر معمولاً از شیر پاستوریزه با شمارش میکروبی نسبت کم تهیه می‌شود لذا لازم است با کتریهای مناسب به آن اضافه گردد و اطمینان حاصل شود که این با کتریها شانس رشد دارند. با کتریهای موجود در کشت استارتر، هم در نگهداری و هم در رساندن پنیر نقش دارند. انواع سوشهای انتخابی از با کتریهای اسیدلا کتیک که میزان اسید و ترکیبات معطر تولیدی توسط آن قابل پیش بینی است به عنوان کشت استارتر در پنیرسازی مورد استفاده قرار می‌گیرند. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود استارترهای مزوفیل برای تولید انواع مختلف پنیر به کار می‌روند، استارترهای ترموفیل برای تولید انواع پنیر پخته شده مورد استفاده قرار می‌گیرند.

فرآیند لخته سازی شامل: افزودن رنین، بریدن دلمه، بهم زدن اولیه، کشیدن آب پنیر، حرارت دادن و بهم زدن نهایی می‌باشد. دلمه شدن شیر فرآیند اساسی در پنیرسازی است. این فرآیند معمولاً توسط رنت، سایر عوامل پروتئولیتیک و یا اسیدی کردن شیر تا نقطه ایزوالکتریک آن (pH بین ۴/۶ تا ۴/۷) به وقوع می‌پیوندد.

اعتقاد براین است که فرآیند کوا گولاسیون (انعقاد) در طی دو مرحله انجام می‌گیرد:

- تبدیل کازئین به پاراکاپاکازئین (فاز بهم خوردن ثبات آنزیمی pH)
- رسوب پاراکاپاکازئین در حضور یونهای کلسیم (فازدلمه شدن غیرآنزیمی).

شکل ۲ فرآیند کوا گولاسیون را نشان می‌دهد.

مراحل تکمیلی شامل: قالب گیری و پرس کردن، نمک زنی، لفاف گیری[3] و ذخیره سازی می‌باشند. اکثر انواع پنیر برای به دست آوردن طعم مناسب نیاز به یک حداقل زمان رساندن دارند. در طول رساندن خصوصیات پیکره، بافت و طعم بهبود می‌یابد، زمان لازم برای رساندن پنیر با روش عادی ۶ تا ۲۴ ماه است (۲۰، ۲۴).

امروزه پنیرسازی نیاز به سرمایه گذاری زیاد دارد. هزینه لازم برای احداث و نگهداری انبارهای مخصوص رساندن، بخش مهمی از هزینه‌های کل را تشکیل می‌دهد. مزایای اقتصادی رساندن سریع که طعم شدیدتر در زمان کوتاهتر تولید می‌کند، سرمایه و نیروی کار لازم برای احداث اطاقهای مخصوص رساندن و سردسازی را کاهش می‌دهد. به دلیل اهمیت اقتصادی رساندن تسریعی، توجه زیادی به روشهای مختلفی که می‌توانند برای این منظور مورد استفاده قرار گیرند مبذول شده است (۱۷، ۲۴، ۲۹).

رساندن چیست؟

رساندن پنیر عبارت است از ایجاد تغییرات فیزیکی و شیمیایی در لخته پنیر که باعث بهبود طعم و بافت آن می‌گردد. پنیرتازه دلمه شده، سفت و گاهی لاستیکی می‌باشد، لخته تازه اساساً از پروتئین، چربی، و رطوبت به مقادیر مختلف بسته به نوع پنیر، همراه با مقادیر کم نمک، لاکتوز، اسیدلا کتیک، پروتئین آب پنیر و مواد معدنی تشکیل شده است در

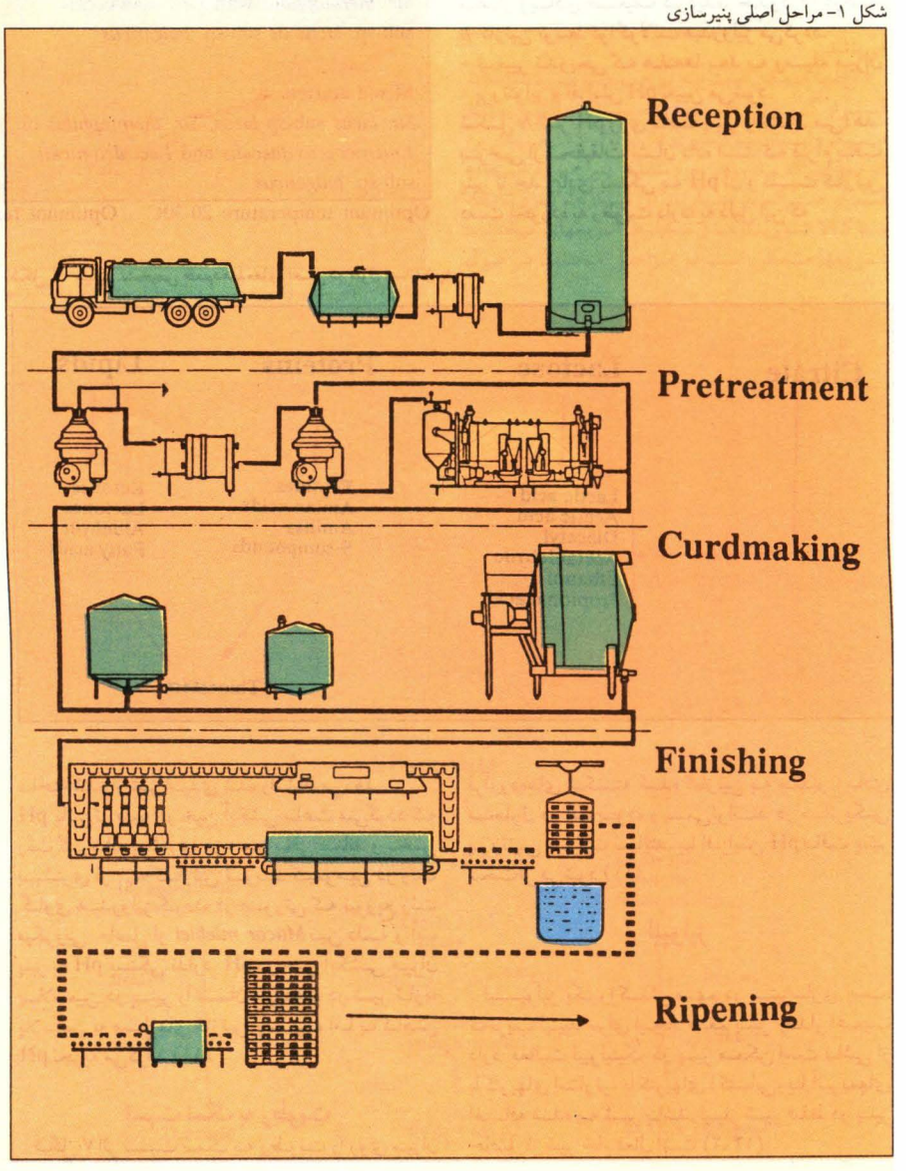
طی رساندن، این لخته به تدریج توسط آنزیمها هضم گردیده و پنیر پیکره سخت، پلاستیکی، یا نرم بسته به نوع پنیر به دست می‌آورد (۱۱، ۲۰، ۲۵، ۲۶). بسته به سخت یا نرم بودن پنیر دو راه اساسی برای رساندن پنیر وجود دارد:

– در انواع سخت، رساندن در درون پنیر رخ می‌دهد و رشد سطحی متوقف می‌گردد.

– در انواع نرم و نیمه نرم، رساندن روی سطح پنیر شروع شده و به طرف داخل توسعه می‌یابد.

تغییرات بیوشیمیایی که مسئول رساندن پنیر هستند عبارتند از: گلیکولیز، پروتئولیز و لیپولیز، این تغییرات توسط آنزیمهای حاصل از باکتریهای اسید لاکتیک، کشت استارتر، باکتریهای متفرقه غیراستارتر در شیر، رنت (مایه پنیر)، جایگزین رنت یا خمیر رنت، خود شیر و ارگانیزمهائی که در داخل

شکل ۱- مراحل اصلی پنیرسازی



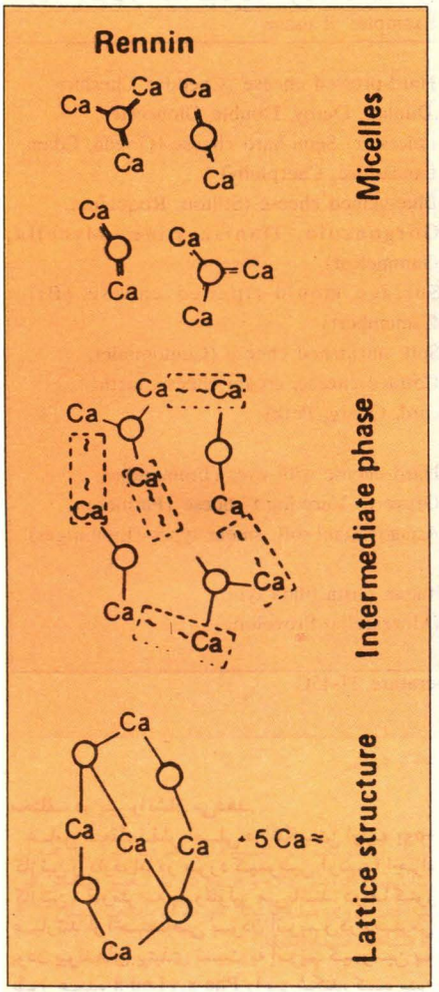
یا روی سطح پنیر رشد می‌کنند انجام می‌گیرد.

همان طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، تغییرات متابولیک توأم با بهبود طعم می‌باشد. لاکتوز، سیترات، پروتئین و لیپیدها در شیر در طول رساندن به ترکیبات معطر تبدیل می‌گردند (۱۰).

در شکل ۴ سیکل گلیکولیتیک مشاهده می‌شود. تخمیر لاکتوز توسط کشت استارتر اساساً ایجاد اسیدلاکتیک توأم با مقداری اسید فرار، اتانول و مقادیر کم گازکربنیک، دی استیل و سایر فرآورده‌ها را می‌کند (۲، ۱۴).

پروتئولیز

پروتئولیز مهمترین فرآیند در رساندن پنیر است. مایه پنیر، کازئین را به پپتیدها تبدیل می‌کند،



شکل ۲- فرآیند کواگولاسیون

اما نمی‌تواند آن را بیشتر تجزیه نماید، هر چند فلور اولیه و ثانویه می‌توانند با عمل پروتئولیتیکی خود هم پپتید و هم اسید آمینه تولید نمایند. همان طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود این پپتیدها به وسیله سلولهای میکروبی گرفته شده و به صورت داخل سلولی به اسیدهای آمینه تبدیل می‌شوند که اسیدهای آمینه در نهایت به ترکیبات معطر از قبیل آمین‌ها، آلدئیدها و الکلها و توسط فلور ثانوی به ترکیبات گوگردی تبدیل می‌گردند (۲، ۱۴، ۱۶). عوامل مؤثر بر میزان پروتئولیز عبارتند از: نوع عامل پروتئولیتیک، میزان رنت باقیمانده، میزان پروتئینهای طبیعی شیر، نسبت نمک به رطوبت، درجه حرارت رساندن، تغییرات pH در طول رساندن، پتانسیل اکسیداسیون احیاء پنیر و مقدار کلسیم پنیر (۱۱).

نوع عامل پروتئولیتیک

جدول ۲ نقش نسبی عوامل پروتئولیتیک

جدول ۱- باکتریهای اسیدلاکتیک که به عنوان کشت استارتر مورد استفاده قرار می‌گیرند.

Bacteria	Examples of usage
Mesophilic starters[a]	
Str. lactis sub-sp. *cremoris* and *Str. lactics* sub-sp. *lactis* or *Str. lactis* sub-sp. *cremoris* alone	Hard-pressed cheese (Cheddar Cheshire ,Dunlop, Derby, Double Gloucester, Leicester) Semi-hard cheese (Gouda, Edam, Lancashire, Caerphilly)
Str.lactis sub-sp. *lactis, Str. lactis* biovar *diacetylactis*	Blue-veined cheese (Stilton, Roquefort, Gorgonzola, Danish Blue, Mycella, Gammelost)
Leuconostoc spp.	Surface mould-ripened cheese (Brie, Camembert)
Str. lactis sub-sp. *cremoris, Str. lactis* biovar *diacetylactis, Leuconostoc lactis*	Soft, unripened cheese (Coulommier, Cottage cheese, cream cheese, lactic curd, Quarg, Feta)
Thermophilic starters[b]	
Str. thermophilus with *Lac. delbrueckii* sub-sp. *lactis* or sub-sp. *bulgaricus*	Hard cheese with eyes (Emmenthal, Gruyere) Very hard cheese (Parmesan, Asiago) Semi-soft, smear types (Limburger).
Mixed starters	
Str. lactis sub-sp *lactis, Str. thermophilus* or *Enterococcus faecalis* and *Lac. delbruckii* sub-sp. *bulgaricus*	Italian pasta filata type (Mozzarella, Provolone)

Optimum temperature 20-30C Optimum temperature 37-45C

پروتئولیز نشان می‌دهد، پس از رساندن در ۱۰ درجه سانتیگراد، ۵ درصد α_{S1}-کازئین و ۵۰ درصد β-کازئین در آن بخش از پنیر که نسبت نمک به رطوبت ۴ درصد بود، دست نخورده باقی ماند وقتی نسبت نمک به رطوبت به ۶ درصد رسید، ۳۰ درصد α_{S1}-کازئین و ۸۰ درصد β-کازئین دست نخورده ماند. زمانی که نسبت نمک به رطوبت ۸ درصد گردید، ۶۰ درصد α_{S1}-کازئین و ۹۵ درصد β-کازئین هیدرولیز نشده ماند.رابطه بین میزان تخریب کازئین و نسبت نمک به رطوبت تقریباً خطی است (۱۱).

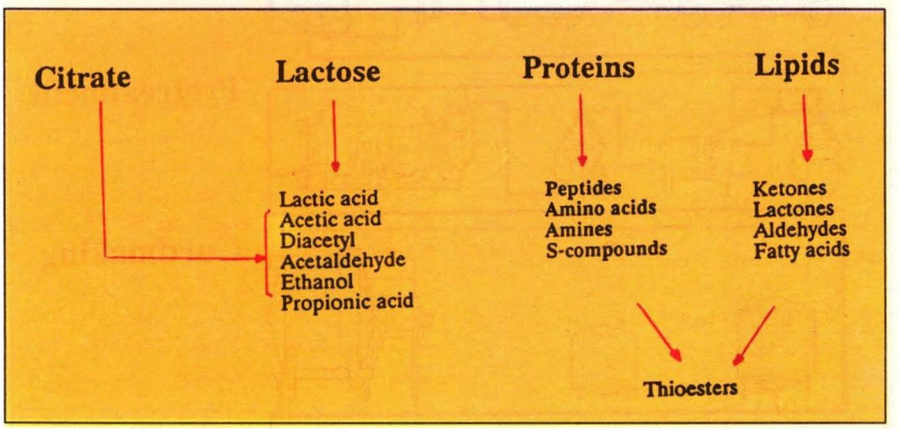
بافت

بهبود بافت در طول رسیدن در طی دو مرحله صورت می‌پذیرد:

- تغییر سریع، در ۷ تا ۱۴ روز اول شبکه کازئین به مقدار زیادی ضعیف گردیده، حدود ۲۰ درصد β-کازئین توسط کواگولانت هیدرولیز می‌گردد.
- تغییر تدریجی که هفته‌ها بعد به وسیله میزان پروتئولیز و افزایش pH تعیین می‌شود.

شکل ۸ اثر pH روی بافت پنیر را نشان می‌دهد. برخی از تحقیقات نشان داده است که قوام بافت پنیر تا حد زیادی بستگی به pH آن و نسبت کازئین دست نخورده به رطوبت دارد، به دلیل این که

شکل ۳- سیکل تشخیص طعم‌دهنده‌های اصلی در طول رساندن پنیر



مختلف در پنیر را نشان می‌دهد.

عامل انعقاد نقش اصلی در شکستن اولیه α_{S1}-کازئین را دارد، اما در مورد کیموسین (رنین) اجزاء کازئین مقاومتر به پروتئولیز می‌باشند. دو فاکتور عبارتند از اختصاصی بودن آنزیم و در دسترس بودن پیوندهای پپتیدی نسبت به آنزیم. کیموسین به طور عمده Leu-x و Phe-x را می‌شکند، کیموسین α_{S1}-کازئین را با وسعت بیشتری در مقایسه با β-کازئین در پنیر می‌شکند (این نتیجهٔ شرایط محیطی بخصوص میزان کلرورسدیم روی تشکیل پروتئین است). پلاسمین برای پیوندهای پپتیدی که کربن انتهایی (C-terminal) آنها لیزین یا آرژینین است بالاخص در β-کازئین و α_{S2}کازئین اختصاصی است (۱۱). پروتئینازهای *Streptococcus cremoris* برای β-کازئین اختصاصی هستند.

باکتریهای اسیدلاکتیک بیش از سه پپتیداز مخصوص پرولین دارند که مهمترین آنها Prolyl dipeptidyl peptidase می‌باشد (۱۱).

حضور آمینوپپتیداز P و پپتیداز مخصوص پرولین در تمام سه نوع Streptococci گروه N هیدرولیز پلی پپتیدهای مشتق شده از تخریب اولیه کازئین را به اسیدهای آمینه کامل می‌نماید (۱۱). به نظر می‌رسد که فعالیت پپتیداز استارتر مهمتر از پروتئیناز استارتر در بهبود طعم پنیر در طول رساندن باشد.

میزان رنت باقیمانده

شکل ۶ تغییر در غلظت منعقد کننده‌ها در پنیر ساخته شده از شیر اسیدی شده را نشان می‌دهد.

pH پائین‌تر دلمه در حین آبکشی باعث می‌گردد که رنت گوساله بیشتری در دلمه باقی بماند و بخش بیشتری از α_{S1}-کازئین توسط کیموسین در رنت گاوی هیدرولیز گردد، در صورتی که توزیع رنت میکروبی حاصل از *Mucor miebiei* بین دلمه و آب پنیر به pH بستگی ندارد. pH در حین آبکشی میزان پلاسمین در پنیر را نشان می‌دهد، در شیر تازه، پلاسمین به میسل‌های کازئین چسبیده اما با کاهش pH تجزیه می‌گردد (۱۱).

نسبت نمک به رطوبت

شکل ۷ اثر نسبت نمک به رطوبت را روی میزان فرآورده‌های شکسته شده کازئین به مقدار زیادی محلول در آب بوده و نمی‌توانند در ماتریکس پروتئینی شرکت نمایند. با افزایش pH بافت پنیر سخت‌تر می‌شود (۱۱).

لیپولیز

لیپولیز یک واکنش مهم در پنیرسازی است. تخریب لیپید برای ایجاد طعم پنیر چدار اهمیت دارد. فعالیت لیپولیتیک در پنیر ممکن است ناشی از باکتریهای استارتر، باکتریهای اکتسابی، یا آنزیمهای اضافه شده به شیر باشد. لیپاز شیر فقط در پنیر حاصل از شیر خام فعال است (۲، ۱۴).

لیپاز داخل سلولی حاصل از Micrococci در pH بین ۵ تا ۶ فعال است. استراز نیز در بهبود طعم پنیر شرکت دارد. استرازها ممکن است لیپولیز را تشدید نمایند. برخی کپکها از قبیل *P. requeforti* حاوی لیپاز هستند که در طعم پنیر آبی شرکت دارند (۱۶).

شکل ۹ مسیر تولید متیل کتونها و الکلهای ثانویه از اسیدهای چرب آزاد را نشان می‌دهد (۱۶).

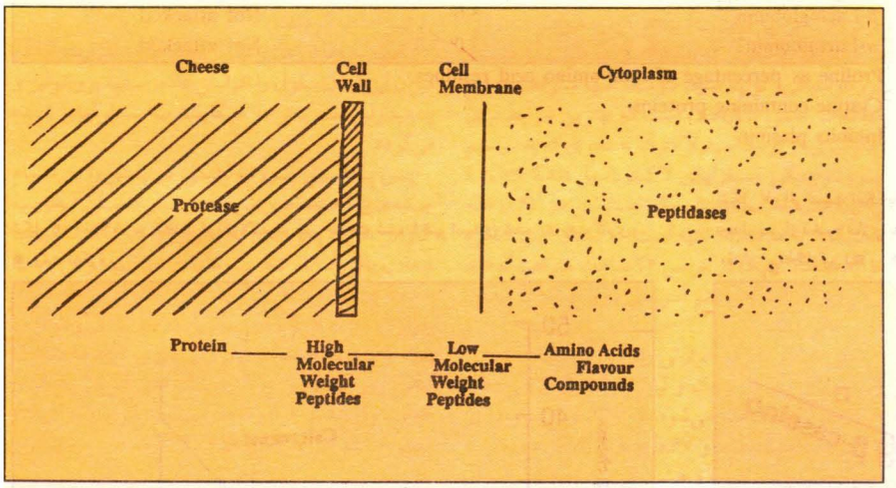
رساندن تسریعی پنیر

روشهای مختلفی برای تسریع رساندن پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرند که عبارتند از: استفاده از آنزیمها، مصرف میکروارگانیزمها، افزایش درجه حرارت طولانی مدت و روشهای متفرقه دیگر (۱، ۳، ۱۲، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۹). عمل‌آوری مرسوم پنیر، کاری مشکل و وقت گیر برای رسیدن به طعم کامل است. لذا مزایای اقتصادی رساندن تسریعی حائز اهمیت می‌باشد.

آنزیمها ممکن است به دو صورت مورد استفاده قرار گیرند: افزودن مستقیم آنزیمها و میکروایـنکپسولاسیون (۲۲، ۲۵، ۲۹). مهمترین آنزیمهایی که برای تسریع رساندن پنیر مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارتند از: لیپازها، پروتئازها، بتا گالاکتوزیدازها و مخلوط آنزیمهای مختلف. آنزیمها ممکن است در مراحل مختلف در طول فرآیند پنیرسازی مورد استفاده قرار گیرند. طبیعت فرآورده به وسیله انتخاب آنزیمها، شرایط انکوباسیون و مرحله‌ای که آنزیمها اضافه می‌شوند تأثیر می‌پذیرد.

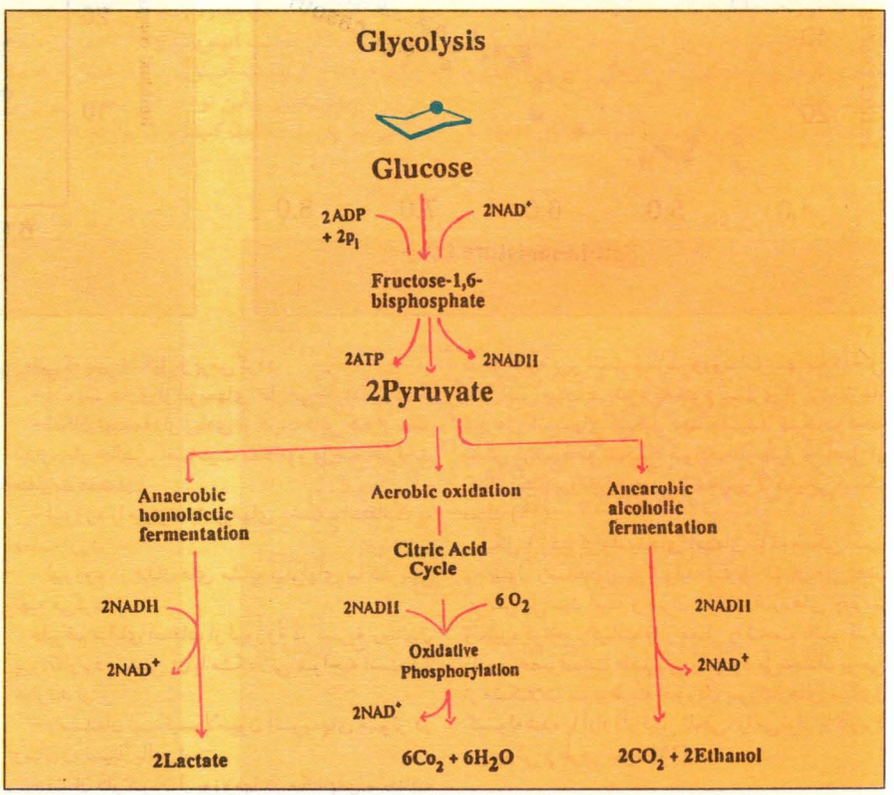
همان طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود وقتی سیستمهای آنزیمی مختلف به لخته چدار اضافه می‌شوند اثرات گوناگونی ایجاد می‌نمایند.

استرازهای پاراگاستریک حیوانی و پپتیدازها در طعم پنیر چدار شرکت دارند. در صورتی که آنزیمهای دیگر تغییراتی در طعم ایجاد می‌نمایند. لیپازها و استرازها می‌توانند برای برخی از انواع پنیر مورد استفاده قرار گیرند. این آنزیمها در عرض مدت یک ماه در ۲۰ درجه سانتیگراد طعم چدار تولید می‌نمایند (۱۶).



شکل ۵- تخریب پروتئولیتیکی پروتئین‌ها توسط میکروارگانیزمهای استارتر در پنیر

شکل ۴- سیکل گلیکولیتیک



لیپاز گاستریک کل اسیدهای چرب فرار در طول رساندن را افزایش داده و هیچ گونه تغییر طعمی در پنیر عمل‌آوری شده با لیپاز در عرض مدت بیش از ۶ ماه مشاهده نشده است.

میکروایـنکپسولاسیون

یکی از کاربردهای اخیر تکنولوژی میکروایـنکپسولاسیون در صنایع لبنی استفاده از آنزیمهای محبوس شده با سوبسترا برای تولید سریعتر و کنترل شده ترکیبات معطر در پنیر است. روشهای مختلفی برای تسریع رساندن و تشدید طعم پنیر از طریق محبوس کردن آنزیم گزارش شده است که عبارتند از:

- میکروایـنکپسولاسیون در کپسولهای چربی
- محبوس کردن آنزیمها در لیپوزوم
- میکروایـنکپسولاسیون لیزوزیم در دکستران.

شکل ۱۰ میکروایـنکپسولاسیون در کپسولهای روکش شده با چربی شیر را نشان می‌دهد میکروایـنکپسولاسیون در کپسولهای روکش شده با چربی شیر به محبوس کردن عصاره عاری از سلول یا سلولهای زنده میکروارگانیزمهای انتخابی توأم با سوبستراهای مناسب در کپسولهای روکش شده با چربی شیر کمک می‌کند. فرآورده‌ها در داخل کپسولها تشکیل گردیده و در طول رساندن در پنیر آزاد می‌گردند. علیرغم جنبه‌های علمی جذاب این تکنولوژی، میکروایـنکپسولاسیون در چربی شیر

جدول ۲- نقش نسبی عوامل پروتئولیتیکی مختلف در پنیر

Protein	Percent of cheese casein	proline content[1]	Major proteolitic agents in cheese
α_{s1}-Casein	35.0	8.5	Chymosin (plasmin)
β-Casein	37.5	17.0	Plasmin,[2] starter (chymosin)
δ-Caseins	6.5	19.5	Plasmin, starter
α_{s2}-Casein[2]	13.0	5.0	Plasmin
Para-k-casein[2]	8.0	11.0	Not attacked (?)
β-Lactoglobulin[2,3]	.....	5.0	Not attacked
α-Lactalbumin[2]	.....	2.0	Not attacked

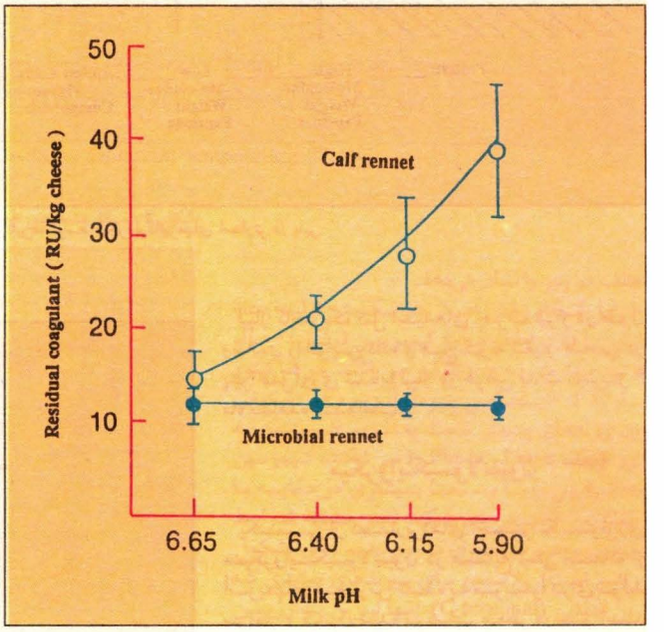
[1]Proline as percentage of total amino acid residues.
[2]Cystine-containing proteins.
[3]Inhibits plasmin

در پنیر می‌تواند منجر به تغییرات سریعتر در طول رساندن شود.

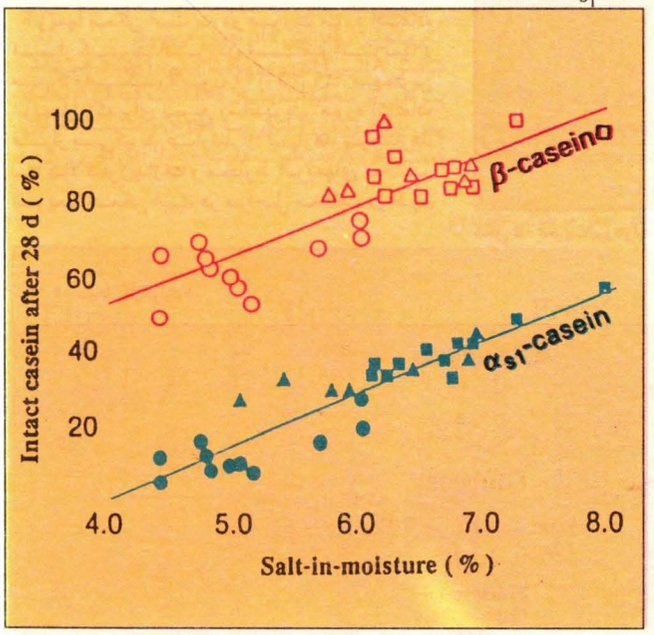
- مقاومت لیپوزوم در طول ذخیره‌سازی حائز اهمیت است.
- مکانیزم آزاد شدن آنزیم از لیپوزوم کاملاً مشخص نیست (۲۲).

میکروواینکپسولاسیون لیزوزیم برای تسریع و اصلاح رساندن پنیر توصیه شده است. لیزوزیم یک آنزیم هیدرولیتیک است که ساختمان ماکروپلی ساکارید باکتریهای گرم مثبت را می‌شکند، میکروواینکپسولاسیون لیزوزیم در دکستران نشان داده است که رهایی کندآنزیم به تدریج باکتریهای استارتر Streptococcus و Lactobacillus را لیز نموده و باعث می‌گردد آنزیمهای داخل سلولی به

شکل ۶- اختلاف در غلظت کواگولانت در پنیر ساخته شده با شیر اسیدی شده. ○: رنت گاوی، ●: رنت میکروبی



شکل ۷- اثر نسبت نمک به رطوبت روی وسعت پروتئولیز α_{S_1} و β-کازئین در سه بلوک پنیر چدار پس از ذخیره سازی به مدت یک ماه در ۱۰ درجه سانتیگراد. مقدار β-کازئین (□ و ▲ و ○)، مقدار α_{S_1}-کازئین (■ و ▲ و ●)



کاربرد محدودی دارد زیرا تعداد بی‌شماری کپسول برای رسیدن به طعم مناسب پنیر مورد نیاز است (۲۲، ۲۹).

محبوس کردن آنزیمها در لیپوزوم

لیپوزومها که مجموعه‌ای از فسفولیپیدها یا اسیدهای دیگر هستند به عنوان یک مدل غشائی مفید در نظر گرفته می‌شوند. پتانسیل آنها برای حمل مواد به قسمت داخل سلول باعث گردیده است که به عنوان یک وسیله برای تسریع رساندن پنیر مورد استفاده قرار گیرند (۲۲). کاربرد تکنولوژی لیپوزوم در رساندن پنیر چندین مزیت دارد که عبارتند از:

- محافظت سوبسترائی که به صورت بالقوه در شیر موجود است توسط کیسه‌های فسفولیپیدی تا زمانی که پنیر تشکیل و پرس گردد.
- آب پنیر عاری از آنزیمهای خارجی خواهد بود.
- امکان تهیه مقدار زیادی از کیسه‌هایی که از نظر اندازه، بار خالص، حساسیت به pH و درجه حرارت متفاوت هستند.
- لیپوزوم را می‌توان با میزانهای مختلف استقامت به دست آورد.
- لیپوزوم در اندازه‌های مشابه سلولهای باکتریایی تهیه می‌گردد.

علیرغم مزایای استفاده از لیپوزوم در تسریع رساندن پنیر، کاربرد صنعتی آن با مشکلاتی مواجه است که عبارتند از:

- راندمان ایزنکپسولاسیون آنزیمهای مؤثر در رساندن، نسبتاً پائین است.
- نشان دار کردن لیپوزومها در مکانهای مختلف داخل دلمه پنیر نشت نماید. ورود آنزیمها به داخل ماتریکس سبب می‌شود که تنوع بیشتری از پروتئازها، لیپازها و آنزیمهای تشکیل دهنده اسیدلاکتیک در لخته پخش گردیده، به تشکیل موادمعطر فرار حاصل از کاتابولیسم پروتئین، چربی و تخمیر لاکتیکی کمک نماید (۲۹).

شکل ۱۱ دیاگرام اسیدهای آمینه‌ای راکه ممکن است در طول رساندن پنیر تولید شوند، نشان می‌دهد. افزایش پل‌اسید آمینه و میزان شرکت اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، ترکیبات فرار معطر را تحت تأثیر قرار داده و خصوصیات طعم پنیر را بهبود می‌بخشد. برخی از مشکلات مربوط به افزودن پروتئازهای میکرو کپسوله شده یا آزاد (از قبیل تلخی) را می‌توان با کاربرد این روش برطرف نمود (۲۹).

مصرف میکروارگانیزمها

میکروارگانیزمها به سه طریق می‌توانند فرآیند رساندن پنیر را تسریع نمایند:

- افزایش غلظت باکتریهای استارتر یا شرکت دادن میکروارگانیزمهای غیراستارتر
- استفاده از تکنولوژی مهندسی ژنتیک برای تولید "Super strain"
- شوک حرارتی میکروارگانیزمها

نوع کشت استارتر مورد استفاده مسئول کیفیت پنیر حاصل است. استرپتوکوکهای لاکتیک را می‌توان براساس سرعت تولید اسید و فعالیت پروتئولیز به انواع کندو سریع تقسیم نمود. افزایش تعداد لاکتوباسیلها از 10^6 به 10^9 در هرگرم پنیر به وسیله افزودن پنیر رسیده به شیر پس از سه ماه رساندن ایجاد طعم قوی‌تر می‌نماید (۲، ۵، ۱۳، ۱۴، ۲۳).

تکنیک مهندسی ژنتیک

اخیراً تکنیک مهندسی ژنتیک برای اصلاح نژادهای تجارتی که در پنیرسازی استفاده می‌شوند به کار می‌رود. این روشها را می‌توان به صورت زیر خلاصه نمود:

- به کارگیری مکانیزمهایی برای مقاومت فشار که منجر به محافظت بهتر از حمله فاژ می‌گردد.
- تثبیت آنزیمهای هیدرولیز کننده لاکتوزوپروتئین که گونه‌های کند را حذف نموده و نژادهایی مستعد که رساندن پنیر را تسریع می‌کنند، تولید می‌نماید.

برخی از محققین میکروارگانیزمهای استارتر رابه نحوی اصلاح کرده‌اند که می‌توان جمعیت کشت استارتر را افزایش داد بدون اینکه باعث شدت طعم اسیدی گردد و لذا می‌توان در عرض ۱۲ هفته طعم را بهبود بخشید.

استفاده از استارتر حاوی موتانت‌های اشعه X Lactobacilli که منجر به بهبود سریع طعم می‌گردد.اطلاعات بیشتر در این زمینه موجود است که به دلایل تجارتی هنوز فاش نشده است (۲۲).

تکنیکهای شوک حرارتی

اخیراً به این نکته پی برده‌اند، میکروارگانیزمهایی که شوک حرارتی دیده‌اند می‌توانند برای تسریع رساندن پنیر مورد استفاده قرار گیرند. در این روش میکروارگانیزمها (کشت استارتر) باید شوک حرارتی داده شوند، به نحوی که بدون آسیب رسیدن به سیستم پروتئولیتیکی، تولید اسید توسط آنها متوقف شود. مطالعات علمی نشان داده است که بهترین شرایط برای جلوگیری از تولید اسید لاکتیک به نحوی که به سیستم پروتئولیتیکی سلولهای لاکتوباسیل L-Casi-Casi L_2A_5 صدمه نرسد شوک حرارتی در ۶۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۲ ثانیه است. به دنبال این عمل، تولید اسیدلاکتیک در عرض ۲۴ ساعت متوقف گردید و در این حالت سیستم آنزیمی پروتئولیتیک بدون تغییر باقی ماند.

شکل ۱۲ اثر شوک حرارتی را روی فعالیتهای نسبی آنزیمهای پروتئولیتیک و لیپولیتیک نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود تیمار حرارتی سلولها در ۶۵ درجه سانتیگراد و ۶۷ درجه سانتیگراد فعالیت استرازهای چهار کربنه و هشت کربنه را به یک میزان تحت تأثیر قرار داده و هیچ گونه اثری روی لیپاز چهارده کربنه ندارد.

آمینوپپتیدازها در حرارت ۶۵ درجه سانتیگراد و ۶۷ درجه سانتیگراد به یک اندازه تأثیر می‌پذیرد. حدود ۳۳/۳ درصد از فعالیت آمینوپپتیداز سیستئین و حدود ۲۰ درصد از فعالیت آمینوپپتیداز لوسین از دست می‌رود. آمینوپپتیداز والین توسط این تیمار حرارتی تأثیر می‌پذیرد فعالیت کیموتریپسین در ۶۵ درجه سانتیگراد تا ۲۵ درصد کاهش می‌یابد و هیچ فعالیتی پس از ۶۷ درجه سانتیگراد برای آن ثبت نشده است پروتئینازها با فعالیت کیموتریپسین مانند، به تیمار حرارتی حساستر به نظر می‌رسند، این ناشی از این حقیقت است که پروتئینازها نزدیک غشاء مستقر هستند و لذا نسبت به حرارت حساستر از پپتیدازهای کیموپلاستیک می‌باشند.

سلولهایی که در ۶۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۲ ثانیه شوک حرارتی دیده‌اند ممکن است قبل از افزودن رنت به شیر اضافه گردند.

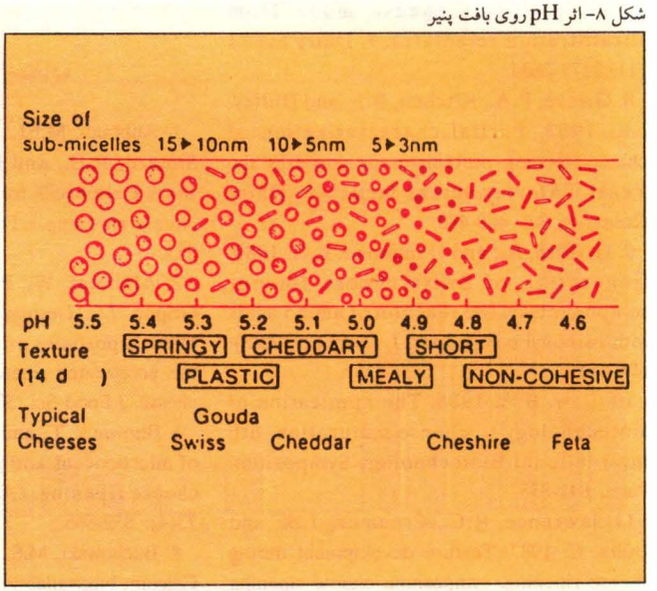
آسیب به دیواره‌های سلولی سلولهای حرارت دیده میزان لیز شدن سلول را افزایش داده، سبب پروتئولیز و پپتیدولیز سریعتر در مقایسه با سلولهای زنده می‌گردد.

این پتانسیل پروتئولیتیکی در پنیر را در تمام جنبه‌های اختصاصی‌اش با در نظر داشتن تخریب کازئین افزایش می‌دهد، به نحوی که فرآیند تخریب متعادل باقی بماند. تخریب متعادل در این روش باعث حذف پپتیدهای تلخ می‌گردد، زیرا سلولهایی که شوک حرارتی دیده‌اند یک منبع مکمل نه تنها از پروتئینازها بلکه پپتیدازها هستند. هیدرولیز بعدی پپتیدها مسئول تلخی پنیر است این روش سیستم‌های آنزیمی دیگر را که مسئول تبدیل فرآورده‌های پروتئولیز به ترکیبات معطر هستند افزایش می‌دهد (۱).

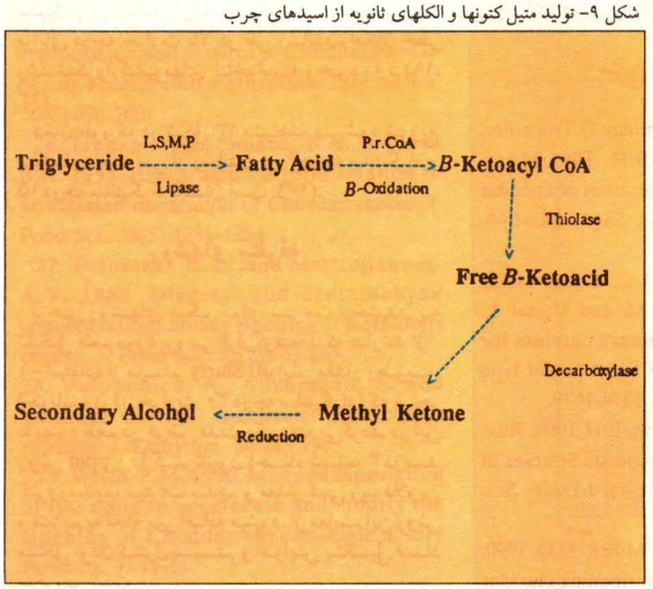
افزایش درجه حرارت

افزایش درجه حرارت تا ۲۰ درجه سانتیگراد در طول رساندن پنیر، رساندن پنیر چدار را افزایش می‌دهد. فرآورده حاصل دارای کیفیت خوب و عاری از طعم نامناسب است. غلظت بیشتر برخی از اسیدهای آمینه در درجه بالاتر در طی رساندن ممکن است منجر به افزایش فعالیت پروتئینازها و پپتیدازهای کشت

شکل ۸- اثر pH روی بافت پنیر



شکل ۹- تولید متیل کتونها و الکلهای ثانویه از اسیدهای چرب

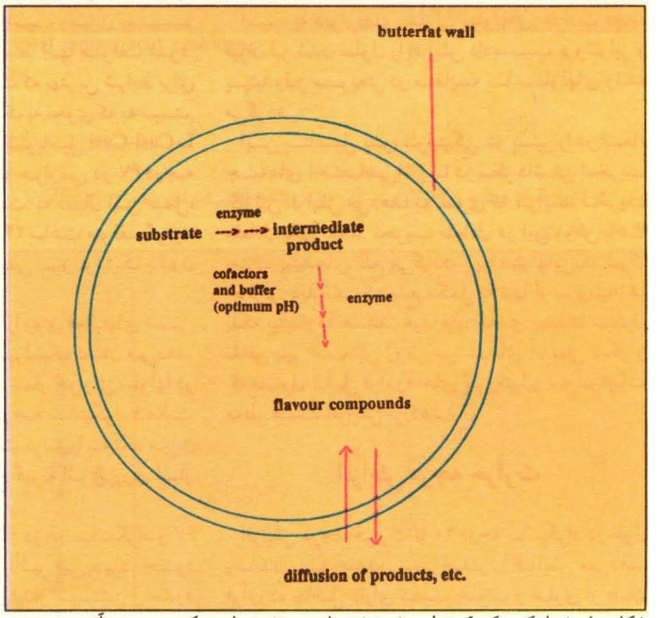


جدول ۳- رساندن تسریعی - آنزیمی پنیر چدار.

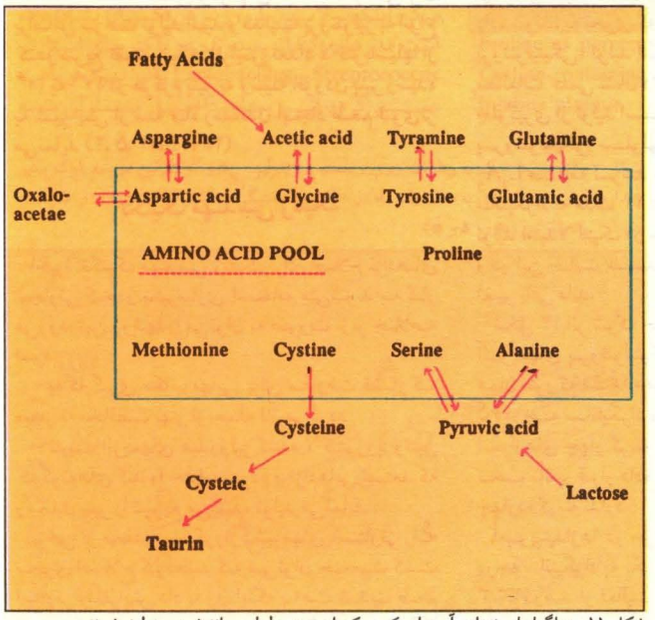
Enzyme system	Cheese flavour
Decarboxylases	Chemical
Microbial acid proteases	Bitterness
Neutral proteases	Increased
Animal esterases	Cheddar flavour
Lipases	Rancidity
Peptidases	Cheddar flavour

۲- بکارگیری ترکیبات طعم دهنده از قبیل مخلوط متیل‌کتونها و اسیدهای چرب برای تولید طعم چدار در طول سه هفته.
۳- استفاده از دوغ کره.
۴- افزودن نمکهای سدیم، کلسیم و پروتئین آب پنیر
۵- افزودن پکتین به شیر در مورد پنیر Novosibirski (۱۲، ۲۴).

پاورقی



شکل ۱۰- شماتیک میکروکپسول پوشش شده با چربی شیر حاوی یک سیستم دو آنزیمی



شکل ۱۱- دیاگرام اسیدهای آمینه‌ای که ممکن است در طول رساندن پنیر تولید شوند.

استارتر گردد. درجه حرارت بالا می‌تواند برای تسریع رساندن پنیر مورد استفاده قرار گیرد. مزایای این روش عبارتند از: عدم وجود موانع قانونی، و ساده بودن تکنیک، این مسئله را باید در نظر داشت که علی‌رغم مزایای درجه حرارت بالا در طی رساندن، امکان خطر رشد میکروارگانیزمهای ناخواسته وجود دارد (۱۹، ۲۳).

همان طور که در شکل ۱۳ مشاهده می‌شود توزیع اسیدهای آمینه پس از رساندن در ۶ درجه سانتیگراد و ۱۵ درجه سانتیگراد یکسان است (۲۳).

روشهای متفرقه

برخی روشهای دیگر برای سرعت بخشیدن به تشکیل طعم مورد بررسی قرار گرفته‌اند که عبارتند از:
۱- استفاده از سیستم Slurry (افزایش مقدار رطوبت، انکوباسیون در حرارت ۳۰ درجه سانتیگراد) که منجر به بهبود طعم در عرض مدت یک هفته می‌گردد. در این روش ppm ۱۰۰ گلوتاتیون احیاء شده، ۳ درصد کلرورسدیم، سیترات سدیم و مقدار کمی ریبوفلاوین و منیزیم به لخته پنیر اضافه میشود. از معایب این روش مشکل بودن کنترل سیستم و افزایش پتانسیل فساد میکروبی است.

1- United State Department of Agriculture
2- High temperature short time
۳- لفاف‌گیری: پوششی است که پس از اتمام مراحل پنیرسازی روی آن کشیده می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Abboudi, M.EL., S.pandian G.Trepanier, Simard, R.E., and Lee. B.H. 1991 Heat-shock Lactobacilli for acceleration of cheddar cheese ripening.J. Food Sci. 56(4): 948-949, 953.

2. Alkbalaf, W., Piard J.C., Soda, M.El. Gripon, J.C. Desmazeaud, M. and Vassal. L. 1988. Liposomes as proteinase carriers for the accelerated ripening of Saint paulin type chesse. J.Food Sci. 53(10): 1674-1679.

3. Bhowmik, T., and .Marth. E.H 1990. Role of micrococcus and pediococcus Species in cheese ripening. (A Review). J.Dairy Sci. 73(4): 859-866.

4. Buchowski, M.S., and: Miller. D.D 1990. Calcium bioavailability from ripening cheddar cheese. J.Food Sci. 55(5):1293-1395.

5. Castro, I, M., Sanz, J. and. Amigo. L. 1990. Volatile components of Manchego cheese. J. Dairy Research. 59:239-246.

6. Fakye, N.Y. and Fox. P.F 1990. Proteolysis and flavour development in cheddar cheese made exclusively with single strain proteinase-positive or proteinase negative starters. J.Daity Sci. 73(4):874-880.

7. Furtedo, M.M., and Partridge. J.A. 1988. Characterization of nitrogen fractions during ripening if soft cheese made from ultrafiltration retentates. J. Dairy Sci 71 (11):2877-2884.

8. Grieve, P.A., Kitchen, B.J., and Duliey, J.K. 1983. Partial characterization of cheese-ripening proteinases produced by the Yeast. "*Klayveromyces lactis*". J. Dairy Research. Sci. 469-480.

9. Griffith, R., and Hammond. E.G. 1989. Generation of Swiss cheese flavour components by the reaction of amino acids with carbonyl compounds. J. Dairy Sci. 72(3): 604-613.

10. Law. B.A. 1988. The application of biotechnology to cheese maturation. 8th International Biotechnology Symposium. Paris. 841-855.

11. lawrence, R.C., Creamer., L.K. and Gilles. C. 1987. Texture development during cheese ripening. symposium: cheese ripening

12. Kanawjia, S.K., and Singh. S. 1986. Quick cheese production by utilization of ripening agents. Indian Dairyman. 38(6):217-274.

13. Khalid, N.M, and Marth, E. H. 1990. Proteolitic activity by strains of "*Lactobacillus plantaarum*" and "*Lactobacillus casei*". J. Dairy Sci. 73(11) 3068-3076.

14. Khalid, N. M., and Marth. E. H. 1990. Lactobacilli-their Enzymes and Role in ripening and spoilage of cheese. (A Review). J.Dairy Sci. 73(10):2669-2684.

15. Kleter. G. 1977. The ripening of Gouda cheese made under strictly aseptic conditions. The composition of the activity of different starters and the influence of certain lactobacillus strains. Neth. Milk and Dairy J.31:177-187.

16. Moskowitz, G.J., and Noelck. S.S. 1987. Enzyme- modified cheese technology. J. Dairy Sci. 70(8):1761-1769.

17. Peterson, S. D., and Marshal, R. 1990. Nonstarter lactobacilli in Cheddar cheese. (A Review).J. Dairy Sci. 73(6):1395-1410.

18. Peterson, S.D. , Marshal, R.T. and Heymann. H. 1990. Peptidase profiling of lactobacilli associated with cheddar cheese and it's application to identification and selection of strains for cheese ripening studies. J. Dairy Sci. 73(6):1454-1464.

19. Puchades, R., Lemieux., L. and Simard. R.E. 1989. Evaluation of free amino acids during the ripening of Cheddar cheese containing added lactobacilli strains. J.Food Sci. 54(4):885-888.

20. Reps, A., and Hammond. E.G. 1987. Carbonyl compounds produced by the growth of "*Lactobacillus bulgaricus*". J. Dairy Sci. 70(3):559-562.

21. Schwartz. M.E. 1973. Cheese-making technology. Noyes DATA Corporation.

22. Soda, M.El., Pannell, L. and Olson. N. 1989. Microencapsulate enzyme systems for the acceleration of Cheese ripening.J. Microencapsulation. 6(3):319-326.

23. Soda, M.El. 1986. Acceleration of cheese ripening:(recent advances). J.Food technology. J. Dairy Sci. 70(8):1748-1760.

24. Thakar, P.N., Vyas., S.H. and Vpadhyay. K.G. 1987. Lactose treated milk in the manufacture of Chedder cheese and acceleration of cheese ripening. (A Review). Cuit. Dairy products. J. 20-21.

25. Trepanier, G., Simard, R.E., and Lee, B.H.1991. Effect of added lactobacilli on composition and texture of Cheddar cheese during accelerated maturation. J. Food Sci. 56(3):696-700.

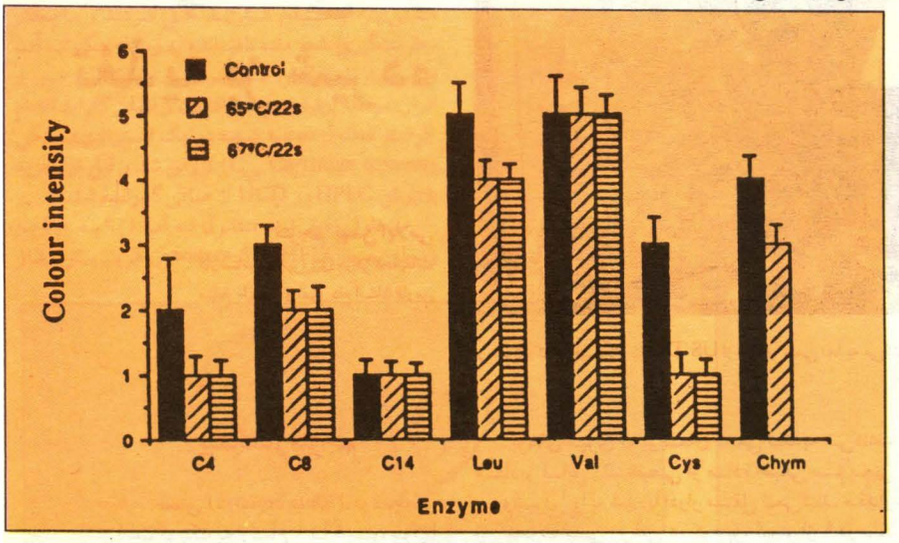
26. Trepanier, G., Simard., R.E. and Lee. B.H. 1991. Lactic acid bacteria relation to accelerated maturation of Cheddar cheese. J. Food Sci. 56(5):1238-1254.

27. Tzanetaki, E. L., and Mastrojiannak. A.V. 1988. Diacetyl and acetaldehyde concentrations during ripening of Kefalotyri cheese. J. Food Sci. 53(2):663-665.

28. Vafopoulou, A., Alichanidis, E. and Zerfiridis. G. 1989. Accelerated Feta cheese ripening. J. Dairy Sci. 56:285-296.

29. Writh, P.M. 1990. Microencapsulation of lysozyme to accelerate and modify the ripening of Cheddar cheese. Cult. Dairy Products. J. 11-14.

شکل ۱۲- اثر شوک حرارتی روی فعالیتهای نسبی آنزیمهای پروتئولیتیک در عصاره‌های عاری از سلول *L. casei casei L A* استراز، C استراز C: لیپاز، لوسین آمینوپپتیداز، والین آمینوپپتیداز، سیستئین آمینوپپتیداز، تناسب شدت رنگ به فعالیتهای آنزیمی، میانگین‌های سه‌تایی SD^{14}_{8} a=



شکل ۱۳- مقایسه بین درصد اسیدهای آمینه آزاد *Lactobacillus casei- casei L A* اضافه شده است در ۶ و ۱۵ درجه سانتیگراد پنیری که به آن $_{2}$