مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۴، شماره ۱، سال ۱۳۸۲ (۲۱۲-۲۰۷)

مقایسه مایه پنیر حاصل از کپک *Mucor.miehei* با مایه پنیرحیوانی و مایه پنیر تجاری رنیلاز

محمد علیزاده[۱]،محمدرضا احسانی[۲]
۱، عضو هیئت علمی دانشگاه ارومیه، ۲، استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۱/۸/۸

خلاصه

باتوجه به اینکه مایه پنیر مورد نیاز صنعت پنیرسازی کشور بطورعمده از خارج تأمین می شود،در این پژوهش مایه پنیر تهیه شده از کپکM.miehei با یک مایه پنیر حیوانی و یک مایه پنیر وارداتی به نام رنیلاز مورد مقایسه قرار گرفت.میزان تولید نیتروژن محلول(SN) و نیتروژن غیر پروتئینی(NPN)در پنیرهای ساخته شده با مایه پنیر حاصل از کپک M.miehei بطور معنی داری بالاتراز دو مایه پنیر دیگر بود. این دو شاخص نشاندهنده بالا بودن خاصیت پروتئولیتیکی این مایه پنیر نسبت به مایه پنیر حیوا نی و رنیلاز می باشد. در طول ٦٠ روز نگهداری دلمه ها در آب نمک، روند تغییرات اسیدیته، ماده خشک و مواد معدنی از قبیل ،فسفر، کلسیم و نمک طعام در پنیرهای ساخته شده با مایه پنیر حاصل ازM.miehei به طور معنی داری متفاوت از دو مایه پنیر حیوانی و رنیلاز بود.

واژه های کلیدی: Mucor.miehei ، نیتروژن محلول،مایه پنیر، نیتروژن غیرپروتئینی، مواد معدنی

مقدمه

در ایران با وجود توسعه چشم‌گیر صنعت پنیرسازی در دو دهه گذشته، هنوز مایه پنیر مورد نیاز این صنعت از خارج وارد می شود و سالانه مقادیر قابل توجهی ارز صرف و اردات مایه پنیر از خارج می‌گردد. به عنوان مثال در سال ۷۸، ارزش مایه پنیر وارداتی حدود دو میلیارد و ششصد و پنج میلیون ریال بوده است (۱). مایه پنیر سنتی که برای انعقاد شیر بکار گرفته می‌شود مایه پنیر حیوانی است که عمدتا از شیردان نوزاد شیرخوارکنندگان استخراج می‌گردد. این مایه پنیر از لحاظ بهره پنیرسازی، پروتئولیز و ایجاد خواص ارگانولپتیک مطلوب در محصول هنوز بهترین مایه پنیر است (۷،۲)؛ با تمام این مزیتها تولید این مایه پنیر در عرصه جهانی به دلایل مختلف دچار کمبود گردید و تلاش برای یافتن یک جایگزین مناسب برای آن آغاز شد. مبنای این تلاشها عمدتا بر روی منابع میکروبی و گیاهی قرار گرفت.

منابع میکروبی به دو دسته باکتریایی و قارچی تقسیم می‌شوند. در بین منابع باکتریایی جنس باسیلوس بیشتر مورد توجه قرار گرفت و در بین کپکها نیز *M.miehei*، *M.pusillus*، *B.fulva* و*Endothia.parasitica* بیشتر مورد توجه هستند (۱، ۲). البته مایه پنیرهای قارچی نوترکیب را نیز می‌توان یکی دیگر از منابع میکروبی مایه پنیر در نظر گرفت (۲، ۵). در بین مایه پنیرهای قارچی مایه پنیر حاصل از *M.miehei* مناسبترین جایگزین قارچی برای مایه پنیرحیوانی‌معرفی شده است(۵، ۱۳).

در مقایسه با مایه پنیر حیوانی مهمترین عیب پروتئازهای قارچی داشتن قدرت پروتئولیتیکی بالا ،غیراختصاصی عمل کردن نسبت به پیوند(۱۰۶)Met –(۱۰۵)Phe- ، بهره پنیرسازی پایین و ایجاد تلخی در پنیر است (۹، ۱۱، ۱۲).

در این مقاله، پروتئاز تهیه شده از کپک*M.miehei* با یک مایه‌پنیر حیوانی ویک مایه پنیر قارچی وارداتی با نام تجاری رنیلاز مورد مقایسه قرار گرفته است.این سه مایه پنیر از لحاظ

مکاتبه کننده: محمد علیزاده

شدت پروتئولیز در پنیر و تغییرات فیزیکوشیمیایی پنیر در طی دوره رسیدن مورد مقایسه قرار گرفته اند

مواد و روش‌ها

شیر مورد استفاده درپنیرسازی بعد از انجام آزمایشهای کنترل کیفیت و استانداردکردن چربی به روشLTLT پاستوریزه شد. سپس دمای آن در ظروف پنیرسازی تا حدود ۳۴/۵ کاهش یافت و به آن کلرورکلسیم (۱۵گرم به ازای هر یکصدکیلوگرم شیر) واستارتر به میزان یک درصد افزوده شد. باکتریهای آغازگر لاکتیکی مصرفی مخلوط G_2Mix و Y_{709} بود که G_2Mix حاوی گونه‌های مزوفیل استرپتوکوکوس کرموریس و استرپتوکوکوس لاکتیس و Y_{709} حاوی گونه های ترموفیل لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس بود.

جهت منعقد کردن شیرسه مایه پنیرذیل با واحد آنزیمی یکسان مورد استفاده قرارگرفت.

مایه پنیر تهیه شده از کپک *M.miehei* : این مایه پنیر در موسسه تحقیقات دامپروری جهاد کشاورزی تهیه شده و بعد از مراحل مختلف تصفیه و تخلیص و تعیین قدرت انعقادی در پنیرسازی مورد استفاده قرار گرفت. در این مقاله این مایه پنیر را اختصارا مایه پنیر نمونه خواهیم نامید.

۱. رنت حیوانی Caglificioclerici ساخت شرکت کادواگو ایتالیا که حاوی ۵۰ درصدکیموزین و ۵۰ درصد پپسین بود.

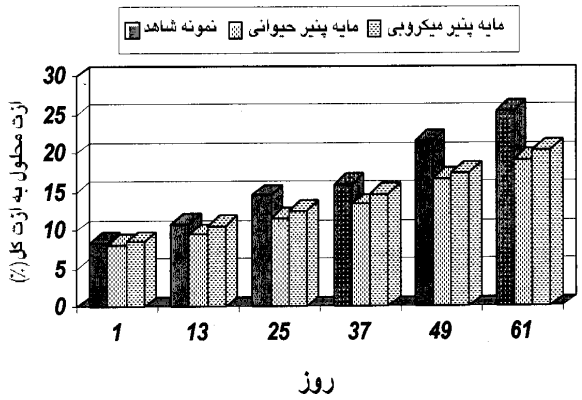
۲. مایه پنیر قارچی رنیلار ساخت شرکتGist-brocados هلند

پس از انعقاد، لخته ها بریده شده و بعد از آبگیری پرس شدند. بعد از عمل پرس، لخته ها بریده شده و قطعات در آب نمک ۲۲درصد به مدت ۱۶ ساعت نگهداری گردیدند و ظروف با آب نمک ۱۱درصد که قبلا استریل شده بود پر شدند و بعد از درب بندی در دما ۱۳-۱۱ درجه سانتیگراد به مدت ۶۱ روز نگهداری شدند. در این پژوهش از طرح بلوکهای کاملا تصادفی استفاده شد. نمونه برداری از پنیرها بر اساس روش استاندارد (AOAC ۱۵۱۶۰ و۱۶۱۶۰) و استاندارد ایران به شماره‌های ۴۱۶۰ و۳۲۶ انجام پذیرفت. نیتروژن کل نمونه‌های پنیر مطابق روش استاندارد AFNOR-chemieII- 10A توسط دستگاه Kojettec Auto 1030 Analyzer اندازه‌گیری شد (۴).

نیتروژن محلول توسط محلول سیترات نیم مولار با pH=7 استخراج گردید، سپس با افزودن اسید کلریدریک pHمحلول استخراجی برروی ۴/۴تنظیم شد (۹). ازت غیر پروتئینی با استفاده از محلول تری کلرواستیک اسید با غلظت نهایی ۱۲ درصد اندازه گیری شد (۶). برای اندازه گیری NaCl در پنیر روش ولهارد بکار گرفته شد. میزان کلسیم و فسفر با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب اتمی مدل Shimadzu.A.A.670 و به ترتیب در طول موجهای ۴۲۲/۷ و۴۷۰ نانومتر اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

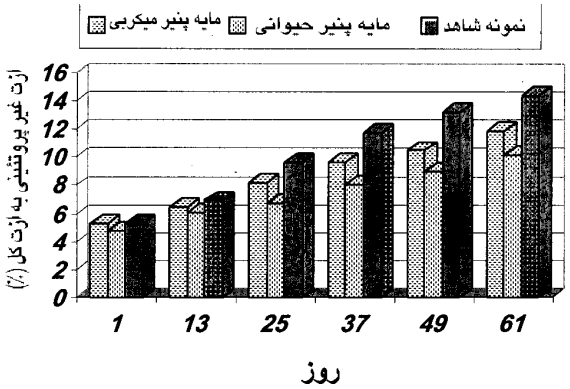
همانطور که شکل۱، نشان می دهد نسبت نیتروژن محلول به نیتروژن کل در هر سه نوع پنیر ساخته شده با مایه های پنیرمختلف افزایش یافت ولی سرعت افزایش آن در پنیر ساخته شده با مایه پنیرنمونه نسبت به سایر مایه پنیرها بالاتر بود.



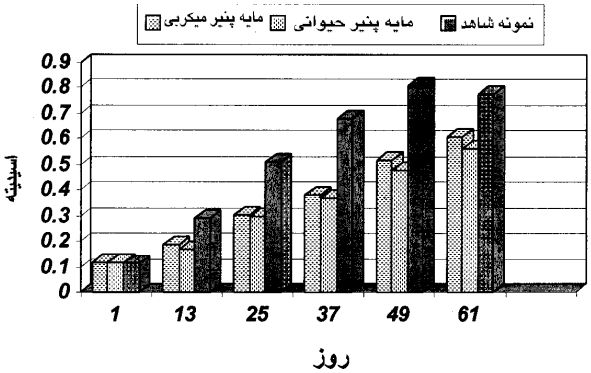
شکل۱- روند تشکیل نیتروژن محلول در پنیرهای ساخته شده با سه آنزیم مختلف

تجزیه واریانس داده‌ها نشان دادکه‌از نظر تولید نیتروژن محلول بین هر سه مایه پنیر اختلاف معنی داری وجود دارد (α=۰/۰۱).

نیتروژن غیرپروتئینی با گذشت مدت زمان دوره رسیدن افزایش یافت در این مورد نیز میزان ایجاد ازت غیرپروتئینی در مایه پنیر نمونه نسبت به سایر مایه پنیرها بالاتر بود. همانطورکه شکل ۲، نشان می‌دهد اختلاف مایه پنیرهای قارچی با مایه پنیر حیوانی از نظرتولید نیتروژن غیرپروتئینی(NPN) با گذشت زمان افزایش می‌یابد.



شکل ۲- روند تشکیل ازت غیرپروتئینی در پنیرهای ساخته شده با سه آنزیم مختلف



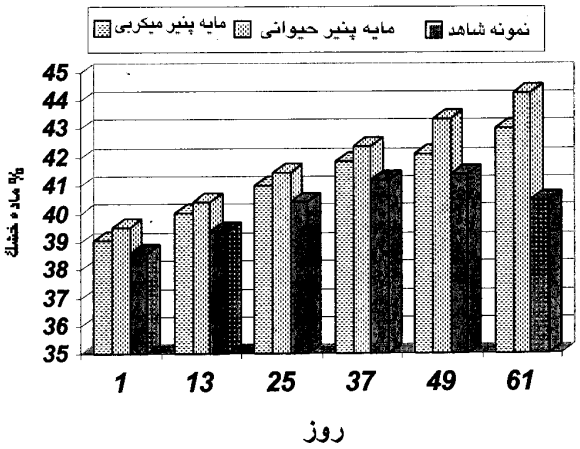
شکل۳- روند تغییرات اسیدیته در پنیرهای ساخته شده با سه آنزیم مختلف

اسیدیته پنیرهای ساخته شده با مایه پنیر حیوانی و رنیلار تا روز شصت ام بطور منظم افزایش یافت ولی اسیدیته پنیر نمونه تا روز ۴۹ ام بطور منظم افزایش یافت و بعد از آن دوباره کاهش یافت. همانطور که شکل ۳، نشان می دهد میزان اسیدیته در پنیر نمونه بطور قابل ملاحظه ای بالاتر از دو پنیر دیگر است.آنالیز واریانس داده ها نشان داد که از نظر اسیدیته مایه پنیر نمونه با هر دو مایه پنیر حیوانی و رنیلاز تفاوت معنی داری دارد.با توجه به اینکه مایه نمونه دارای فعالیت پروتئولیتیکی غیر اختصاصی بالا می باشد و شدت پروتئولیز در مورد آن نسبت به رنیلاز و مایه پنیر حیوانی بالا می باشد. تفاوت مشاهده شده در افزایش اسیدیته را می توان به تولید بالای آمینواسیدها توسط این پروتئاز نسبت داد (۷، ۱۰).

کاهش اسیدیته پنیرهای ساخته شده با مایه پنیر نمونه بعد از روز ۴۹ ام را می توان به این صورت توجیه کرد که میزان تولید پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه در مورد این پنیربالاست و کاتابولیسم این پپتیدهای کوچک واسیدهای آمینه برای میکروفلورموجود در پنیر نسبت به مواد بزرگ ملکول راحت تر است.نتیجه این کاتابولیسیم تولید NH3 ،گروههای تیول وآمینها می‌باشد که این عوامل موجب افزایش pH و کاهش اسیدیته میگردد (۸، ۱۴).

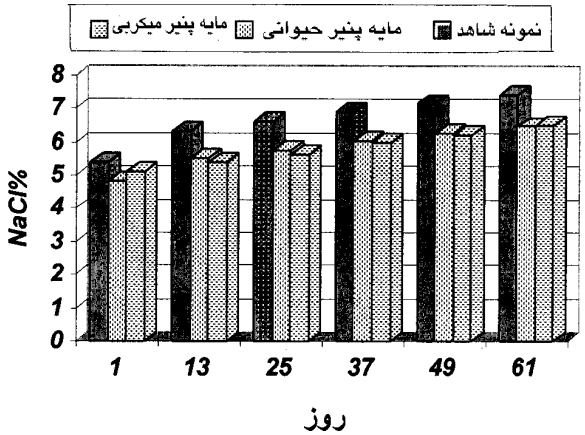
همانطور که شکل ۴ نشان می‌دهد در طول مدت رسیدن، ماده خشک پنیرها افزایش می‌یابد. سرعت افزایش در روزهای اول دوره رسیدن به علت بالا بودن گرادیان غلظت نمک طعام و سایر ترکیبات بین آب نمک و پنیر می باشد ولی به تدریج به علت برقراری حالت تعادل این سرعت کاهش می یابد.

کاهش ماده خشک پنیر تولید شده با مایه پنیر نمونه بعد از روز ۴۹ ام را می توان به تخریب شبکه پروتئنی در اثر پروتئولیز بیش از حدو در نتیجه افزایش میزان آبگیری و اجاد ترکیبات محلول و کوچک ملکول و انتشار این مواد از داخل پنیر به درون آب نمک و کاهش مواد معدنی نسبت داد(۷، ۱۴).



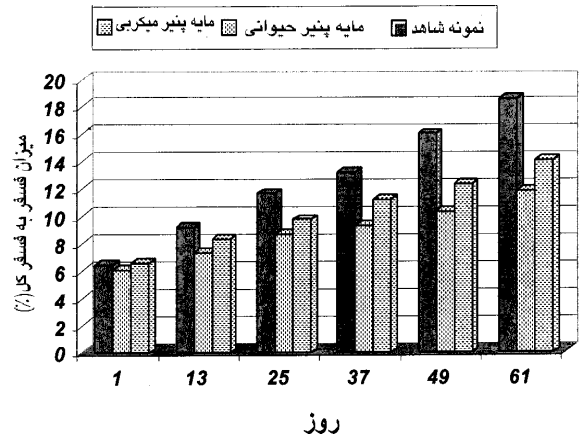
شکل۴- روند تغییرات ماده خشک در پنیرهای ساخته شده با سه آنزیم مختلف

همانطور که شکل ۵ ، نشان می‌دهد در طول دوره رسیدن غلظت نمک طعام به طور منظم افزایش یافته است. سرعت افزایش در اوایل دوره رسیدن بالا بوده و با گذشت زمان درصد نمک با سرعت بسیار کمی افزایش یافته است.از لحاظ غلظت نمک، بین پنیر تهیه شده با مایه پنیر نمونه و هر دو مایه پنیر حیوانی و رنیلاز اختلاف معنی داری وجود دارد.



شکل ۵- روند تغییرات نمک طعام در پنیرهای ساخته شده با سه آنزیم مختلف

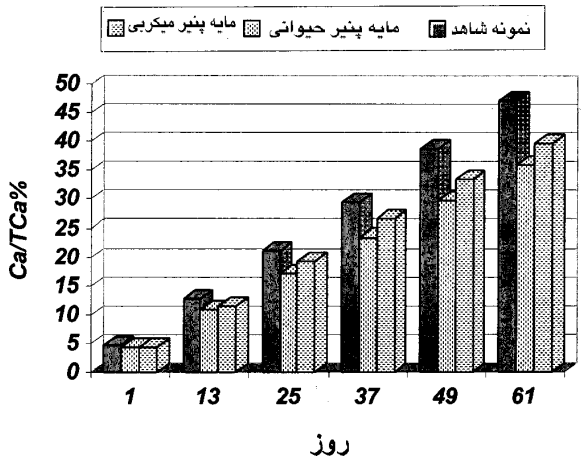
شکل ۶، تغییرات میزان فسفر در طول ۶۰روز نگهداری پنیر در آب نمک را نشان می دهد. همانطور که نمودار نشان می دهد مقدار فسفر آب نمک در هر سه تیمار در طول مدت رسیدن افزایش یافته است. آب نمک پنیر ساخته شده با مایه پنیر نمونه بالاترین میزان فسفر را داشت بطوریکه میزان فسفراز ۶/۵۸ در روزاول به ۱۴/۰۶ در روز ۶۰ ام رسید.



شکل ۶- روند افزایشی فسفر در آب نمک پنیرهای ساخته شده با سه آنزیم مختلف

نتایج ارزیابی میزان تغییرات کلسیم درآب نمک در طی مدت نگهداری پنیر در شکل ۷، نشان داده شده است.میزان کلسیم آب نمک در هر سه تیمار مرتبا در حال افزایش است ولی میزان افزایش کلسیم در آب نمک پنیر ساخته شده با مایه پنیر نمونه بالاتر از سایر مایه پنیرها بود.

بطور خلاصه می توان گفت که از لحاظ ویژگیهای تکنولوژیکی که در این مقایسه مورد بحث قرار گرفتند،مایه پنیر نمونه نسبت به مایه پنیر حیوانی و رنیلاز کیفیت پایین تری داشت.شاخصهای پروتئولیز نشان دهنده خاصیت پروتئولیتیکی بالا و غیر اختصاصی این مایه پنیر می باشند که این خاصیت در پایین آوردن ارزش غذایی پنیر و کیفیت چشایی آن نقش اساسی و مهم می باشد.



شکل ۷- روند افزایشی کلسیم در آب نمک پنیرهای ساخته شده با سه آنزیم مختلف

بنابراین پیشنهاد می‌شود در مراحل تهیه این مایه پنیر به ویژه در مرحله تصفیه و تخلیص آن عملیات مناسب صورت بگیرد تا هم از میزان پروتئازهای مزاحم کاسته شود وهم قدرت لخته کنندگی آن بالا رود.

مراجع مورد استفاده

REFERENCES

۱. آمار سالیانه ایران ،وزارت بازرگانی ۷۸-۷۷

۲. احسانی، م. ر. ، ۱۳۷۲. مکانیزمها و عوامل مؤثر در انعقاد شیر ،وزارت کشاورزی. ۹۶-۹۱.

3. Amariglio,s.1986.Association Francaise de Normalisation(AFNOR). Controle de qualite des produits laitiers, analyses physiques et chimiques.3once de Paris, 619-699.

4. AOAC,1990. Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemists 15th ed. *Washington DC*, USA 802-850
5. Creamer,L.K.(1976).A further study of the action of rennin on β-casein. *J. Dairy Technolo,*11:30.
6. Des Mazeaud,J.M.and J.C.Grophen.D.(1976). Etude de role de microorganisms et des enzymes au course de la maturationdu fromages. *Le Lait*,56: 379-385
7. Green,M.L.(1997) . Review of the progress of dairy sience:milk coagulants *J.Dairy Res,* 44 : 159-188
8. Khalid, M.Shammet and Rodney. (1992).Proteolytic activity of some milk clotting enzymes on κ-casein.*J.Dairy Technolo,* 48: 78-85
9. Kuchroo C.N. and P. F.Fox (1982). Fractionation of water activiy soluble nitrogen from cheddar cheese, chemical methods.*M ilchweissenschatt* 37:331
10. M.J.Soure and F.X .Malcata(1997). Composition of plant and animal rennets in terms of microbiological ,chemical and proteolysis characteristics of bovine cheese. *J.of Agric.Food Chemistry*, 45: 78-81.
11. M.R.Khan,J.A.Blain(1979) .Extrcellular protease of M.pusillus. *Applied and Enviromental Microbiology,* 37(4): 719-724
12. Mulvihill, D. M. and P.F.Fox(1979). Proteolytic activity of chymosin on bovines casein. *J.Dairy Res,*46:614-619.
13. P.F.Fox(1998) . *Cheese:Chemistry,physic and microbiology*,New York: Academic Press
14. T.C.Rank,R.Grappin and N.F.Olsen(1995). Secondary proteolysis of cheese during rippening. *J. Dairy Science,* 32:409-413.
15. Visser,S.(1988). Proteolytic Enzymes and their action on milk proteins.*Neth.Milk.Dairy* ,35:65
16. Z.Ustunol and T.Zecher(1996).Relative proteolytic action of milk-clotting enzymes preparation on bovine α-,β- and κ-caseins. *J.Food.Sci,*61(6): 1136-1159.

Comparsion of *Mucor.miehei*'s Rennet With Animal and Commercial Rennet

M. ALIZADEH[1] AND M.R.EHSANI[2]
1, Scientific member, University of Urmiea
2, Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.
Accepted Oct., 30, 2002

SUMMARY

Although, in Iran, high investment has been done in cheese industry but , the rennet requiment in this industry is completely supplied from abroad. In this study, possibility of *M.miehei* rennet application in producing Iranian white brine cheese was studied.This rennet was compared with an animal- rennet as well as a commercial fungal one called "Rennilase". Soluble nitrogen (SN) and Non-Protein Nitrogen (NPN) contents in cheese prepared from M.miehei rennet were significantly higher than those prepared from the two others. These two indices show that proteolytic activity of *M.miehei* rennet was significantly higher than that in the other two. The changes of parameters such as cheese acidity, dry matter content and the concentration of minerals including Ca, P and NaCl in brine was studied during the 60 days of ripening period. From this point of view, there was a significant difference between *M.miehei* use, and the use of the other two.

Key words: M.miehei, Soluble Nitrogen, Non-Porotein Nitrogen, Rennet, Minerals.