1992, Prevalence of paratuberculosis in infected goats flocks and comparison of different methods of diagnosis. In Proceedings of the Third International Colloquium on Paratuberculosis, Orlando, Florida, U.S.A., pp. 157-163.
9- Gilmour, N.J.L., 1976, Pathogenesis, diagnosis and control of Johne´s disease. Vet. Rec. 99: 433-434.
10- Huchzermeyer, H. F. and Bastianello, S.S., 1992, Serological, microscopic, cultural and pathological findings from 135 sheep originating from a paratuberculusis flock in south Africa, In Proceedings of the Third International Colloguium on Paratuberculosis, Orlando, Florida, U.S.A., pp: 140-146.
11- Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N., 1992, Pathology of domestic animals. 4th ed., Vol. 2, Academic Press INC. pp: 247-252.
12- Klug, J.P.; Merkal, R.S.; Monlux, W.P.; Larsen, A.B.; Kopecky, K.E., and Lehman, R.P., 1968, Experimental paratuberculosis in sheep after oral, intratracheal or intravenous inoculation: lesions and demonstration of etiologic agent. Am. J. Vet. Res. 29:953-962.
13- Nisbet, D.I.; Gilmour, N.J.L. and Bortherstone, J.B., 1962, Quantitative studies of *Mycobacterium johnei* in tissue of sheep. Intestinal histopathology. J. Comp. Pathol. 72: 80-910
14- Prudri, R.K.; Sriraman, P.K.; Gopal, N.N.R. and Rama, R.P., 1984. Pathology of Johne´s disease in sheep. Ind. Vet. J. 61: 179-184.
15- Seaman, J.T.; Gardner, I.A. and Dent, C.H.R., 1981, Johne´s disease in sheep. Aust. Vet. J. 57: 102-103.
16- Seaman, J.T. and Thompson, D.R., 1984, Johne´s disease in sheep. Aust. Vet. J. 61:227-229.
17- Stamp. J.T. and Watt, J.A., 1954, Johne´s disease in sheep. J. Comp. Pathol. 64:26-40.
18- Thomson, R.G., 1988, Special veterinary pathology, B.C. Decker Inc, Philadelphia pp.199-201.
19- Ullrich, N. A.; Grumibein, S. and Coles, B., 1982, Paratuberculosis (Johne´s disease) in goats. Vet. Med. Small Anim. Clin. 77(5): 1101-1104.
20- Whitlock, R.H.; 1992, An overview of Johne´s disease. In Proceeding of The Third International Colloquium on Paratuberculosis, Orlando, Florida, U.S.A., pp. 514-522.

تحولات دوران رسیدن پنیر و عوامل مؤثر در آن
۱- فرآیندهای پروتئولیز، لیپولیز وگلیکولیز در طی رسیدن پنیر

● ثریا آذرنیا - کارشناس بخش تکنولوژی شیر، مؤسسهٔ تحقیقات دامپروری
● محمدرضا احسانی - عضو هیئت علمی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تهران
● سیداحمد میرهادی - عضو هیئت علمی مؤسسهٔ تحقیقات دامپروری
● عباس نظریان - کارشناس بخش تکنولوژی شیر مؤسسهٔ تحقیقات دامپروری

چکیده

یکی از مهمترین فرآیندهای تولید پنیر، رسیدن آن می‌باشد. گذراندن این مرحله که در واقع تبدیل لخته حاصل از انعقاد آنزیمی به فرآورده‌ای با عطر، طعم و بافت مناسب می‌باشد، ضروری است. با توجه به اینکه فرآیند رسیدن پنیر طولانی، پیچیده و پر هزینه می‌باشد، لذا اهمیت تحولات ناشی از آن در کیفیت فرآورده نهایی، در این مقاله بررسی می‌شود.

مقدمه

پنیر حاوی بخش مهمی از ترکیبات اساسی شیری است که از آن تهیه شده است و تعریف پنیر بر اساس استاندارد ایران به شرح ذیل می‌باشد:

«پنیر فرآورده‌ای است که در نتیجهٔ انعقاد شیر گاو، گوسفند، بز، گاومیش و یا مخلوط دو یا چند نوع از آنها که با یکی از روشهای متداول پاستوریزه شده است به کمک مایه پنیر با استفاده از باکتریهای آغازگر[1] مجاز تهیه می‌گردد که پس از جدا نمودن آب پنیر، لخته در آب نمک نگهداری شده و بعد از طی دورهٔ رسیدن آماده مصرف می‌گردد» (تصویر شماره ۱).

ملاحظه می‌شود که این تعریف صرفاً پنیرهای آب نمکی را شامل می‌شود. حداکثر رطوبت بر اساس این استاندارد ۵۸ درصد تعیین شده و از نظر چربی پنیر به سه نوع ۴۵، ۳۵، ۱۵ درصد چربی در مادهٔ خشک طبقه‌بندی شده است (۶).

علاوه بر تعریف فوق در اینجا تعریفی که بر مبنای استاندارد کشور فرانسه می‌باشد، آورده می‌شود.

پنیر فرآورده‌ای است تخمیر شده یا تخمیر نشده که به دنبال انعقاد شیر کامل، خامه، شیر بی‌چربی و یا مخلوط آنها به دست آمده و بعد از انعقاد متحمل آبگیری شده باشد و در هر صدگرم آن حداقل ۲۳ گرم مادهٔ خشک موجود باشد (۲۸).

این ماده غذایی حاوی پروتئین، چربی، کلسیم، فسفر، ریبوفلاوین و دیگر ویتامین‌هاست که به صورت کنسانتره در آن قابل دسترس می‌باشند. در رژیم‌های غذایی با پروتئین بالا، پنیر بیش از شیر می‌تواند مفید واقع شود ضمن آن که پروتئین‌های آن از قابلیت هضمی بالایی نیز برخوردار می‌باشد (۲۴) (تصویر ۳).

پروتئین عمده پنیر کازئین می‌باشد که کلیه اسیدهای آمینه ضروری برای بدن را دارا می‌باشد.

پنیر حاوی اسیدهای چرب ضروری مانند اسید لینولئیک،اسیدلینولنیک و اسید آراشیدونیک می‌باشد.

در طی فرآیند پنیر سازی، قند شیر (لاکتوز) به همراه آب پنیر از لخته خارج می‌شود، لذا پنیر رسیده و بعضی از انواع مهم آن حاوی لاکتوز نمی‌باشند، چراکه لاکتوز باقیمانده در لخته در طی نگهداری توسط باکتریهای آغازگر به اسید لاکتیک یا لاکتاتها تبدیل می‌شود، اهمیت این مسئله برای افرادی که نسبت به مصرف لاکتوز حساسیت دارند شایان توجه بوده و بنابر این می‌توانند به راحتی این فرآورده تخمیری را مورد استفاده قرار دهند (۲۵).

تولید و مصرف شیر و فرآورده‌های آن در جهان مرتباً رو به افزایش می‌باشد، در سال ۱۹۸۸ تولید جهانی پنیر از مرز ۱۴ میلیون تن تجاوز نموده که نسبت به سال ۱۹۸۰، ۲/۸ میلیون تن افزایش را نشان می‌دهد. ۸۷ تا ۸۹ درصد از سهم تولید جهانی به کشورهای اروپایی، آمریکای شمالی و اقیانوسیه تعلق دارد. کشورهای جهان سوم فقط ۱۳ درصد تولید جهانی را به خود اختصاص می‌دهند و کشور ما در حدود ۱/۵ درصد از تولید جهانی پنیر را دارا می‌باشد.

عدم یکنواختی در تولید پنیر به طور طبیعی بر روی مصرف سرانه مردم در جوامع مختلف اثر گذاشته است، به طوری که مصرف سرانه کشورهایی نظیر فرانسه حتی به حدود ۲۰ کیلوگرم نیز می‌رسد در حالی که مصرف سرانه متوسط مردم کشورهای جهان سوم در حدود ۰/۵ کیلوگرم است (۳ و ۲۵).

از میان فرآورده‌های تبدیلی شیر، پنیر جایگاه ویژه‌ای در تغذیه مردم کشور را دارد. براساس مطالعه‌ای که در امر سبد غذایی (مجموعه عناصر و ترکیبات

اساسی تشکیل دهنده غذای یک خانواده، جامعه، شهر یا کشور است) مردم نقاط مختلف کشور در جریان است، مشخص شده که بیشترین مصرف سرانه پنیر در استان آذربایجان‌غربی با بیش از ۷ کیلوگرم در سال و کمترین آن در حدود ۰/۵ کیلوگرم مربوط به کهکیلویه می‌باشد و براساس برخی تخمین‌ها، مصرف سرانه متوسط کشور ۴-۳/۵ کیلوگرم در سال است. مصرف روزانه پروتئین‌های دامی کشور حدود ۱۶ گرم می‌باشد که ۴۲٪ آن مربوط به فرآورده‌های شیری است و در حدود ۲/۵ گرم از این منابع مربوط به پنیر می‌باشد (نتایج به دست آمده توسط یک گروه تحقیقاتی از انستیتو علوم و صنایع غذایی ایران تهیه گردیده که هنوز منتشر نشده است).

با توجه به این که حدود $\frac{1}{3}$ کل شیر تولیدی در کشور صرف پنیرسازی می‌شود، بنابراین میزان کل تولید پنیر در سال ۱۳۷۲ حدود ۲۰۰ هزار تن بوده است (با ضریب تبدیل ۷ به ۱) که از این میزان، در همان سال فقط ۱۰ درصد تحت شرایط صنعتی تولید شده است و ۹۰ درصد دیگر به طور سنتی و بدون این که شیر تحت سالم‌سازی حرارتی قرار گیرد به بازار مصرف رسیده است که طبعاً مصرف‌کننده از بیماریهایی چون تب‌مالت، سل و ... مصون نخواهد بود (۲، ۳، ۴ و ۵).

قبل از پرداختن به موضوع اصلی و مورد نظر این مقاله، مراحل اساسی تبدیل شیر به پنیر به اختصار توضیح داده می‌شود.

فرآیند تولید پنیر به شرح زیر می‌باشد:

۱- انعقاد[۲]

تغییر فیزیکی و شیمیایی میسل‌های کازئین به‌وسیلهٔ آنزیمهای تجزیه‌کننده پروتئین، باکتریهای تولیدکننده اسید لاکتیک، افزودن دستی اسید و یا مواد اسیدزا انجام می‌شود.

انعقاد آنزیمی موجب تشکیل یک شبکهٔ جدید مواد پروتئینی نامحلول می‌شود که به این مجموعه‌جدید ژل‌یا لخته[۳] یا دلمه می‌گویند در شکل ۱ ساختمان میسل کازئین نشان داده شده است.

۲- آبگیری[۴]

جداسازی آب پنیر بعد از بریدن مکانیکی لخته و یا در بعضی موارد استفاده از فشار برای جداسازی آب پنیر از لخته، آبگیری نامیده می‌شود (۱۳) (تصویر شماره ۲).

این مرحله بعد از افزودن مایه پنیر و انعقاد صورت می‌گیرد که در اثر انعقاد در ساختمان میسلی کازئین‌های شیر، فشردگی ایجاد می‌شود و به دنبال آن فاز محلول یا آب پنیر از لخته جدا می‌شود (۱).

۳- نمک‌زنی[۵]

این مرحله شامل افزودن نمک به لخته می‌باشد که ممکن است به طرق مختلف یعنی به صورت پاشیدن نمک خشک به لخته یا غوطه‌ور کردن لخته در آب نمک و یا ترکیبی از هر دو، صورت گیرد (۱۳).

مکانیسم نفوذ نمک در داخل لخته و نقش نمک در صنایع پنیرسازی از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد.

۴- رسیدن پنیر[۶]

رسیدن پنیر، تبدیل بیوشیمی ترکیبات لخته به‌وسیلهٔ آنزیمها می‌باشد که به دلیل اهمیت و تأثیر این مرحله در فرآورده نهایی به شرح آن می‌پردازیم.

پیچیدگی پدیده رسیدن

رسیدن پنیر یکی از پیچیده‌ترین پدیده‌های بیوشیمیایی است که در رابطه با هضم آنزیمی ترکیبات اساسی لخته می‌باشد. سوبستراهای اصلی در این پدیده کازئین، مادهٔ چرب و فراکسیون ترکیبات محلول شیر است.

فلورهای میکروبی لخته که از نظر کمّی قابل ملاحظه‌اند به طور مرتب در طول زمان تغییر کرده و خصوصیات لخته را با تبدیلات بیوشیمیایی عوض می‌نمایند. این تغییرات به لخته مشخصات جدیدی را می‌دهد و آن راکه در ابتدا سفت بوده و طعم و مزه‌ای هم ندارد به لخته‌ای با عطر، طعم، بافت و رنگ مشخص تبدیل می‌نمایند (۷، ۹، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۹ و ۲۰).

پدیده‌هایی که در این تحولات دخالت دارند فوق‌العاده پیچیده است که علت آن طبیعت سوبسترا و متنوع بودن عواملی است که در این تغییر و تبدیلات دخالت می‌نمایند (۱۳). مطالعات زیادی بر روی تحولات ایجاد شده در طی نگهداری پنیر، خصوصاً بر روی پنیرهای مهم بین‌المللی انجام گرفته است که علت آن، اهمیت داشتن مزه، بافت و سایر ویژگیهایی است که پنیر در طی نگهداری کسب می‌نماید تا از نظر مصرف‌کننده قابل قبول شود (۷).

ترکیبات و ساختمان سوبسترا، ساختمان کم‌وبیش تغییر یافته میسل‌های کازئین، pH محیط، موقعیت آب، ساختمان مواد چربی، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء سیستم، ترکیب فاز آبی (مقدار نمک)، درجه حرارت محیط، اتمسفر و غیره مجموعه‌ای از شرایط فیزیکی مؤثر در ایجاد تغییرات دوران رسیدن پنیر می‌باشند (۷، ۱۱، ۱۲ و ۱۳) که این مجموعه بر روی رشد و نمو میکروارگانیزمها و فعالیت آنزیمها تأثیر می‌گذارند. تغییراتی که پنیر در طی رسیدن متحمل می‌شود به فرم و اندازهٔ آن نیز بستگی دارد که در این میان رابطه بین سطح و وزن پنیر (خصوصاً در پنیرهای نرم) مشخصه مهمی است. هر چه پنیر نازک‌تر باشد رسیدن سریع‌تر و منظم‌تر است به عبارتی درجه رسیدن در مرکز و سطح پنیر یکسان می‌باشد (۷).

شرایط رسیدن پنیر

میکروارگانیزمها در رسیدن پنیر نقش عمده‌ای دارند بنابراین شناخت عوامل مؤثر در فعالیت آنها حائز اهمیت می‌باشد.

فاکتورهای زیر در رسیدن پنیر نقش مهمی را ایفا می‌نمایند:

الف - ترکیب اتمسفر و هوادهی

هوادهی اجازه می‌دهد که اکسیژن مورد نیاز میکروبهای سطحی پنیر تأمین شود (۱۳).

ب - فعالیت آب یا رطوبت لخته

فعالیت آب در رشد میکروارگانیزمها مهم است. دلمه‌های مرطوب سریع‌تر و دلمه‌های خشک سخت آبگیری شده و دیرتر دوران رسیدن را طی می‌نمایند.

آن‌چه که در این بند مدنظر است، مقدار آب آزاد مورد استفاده میکروارگانیزمها می‌باشد (۱۱ و ۱۳).

با توجه به این که میکروارگانیزمها در رطوبت بالا بیشتر رشد می‌کنند، بدین‌ترتیب سرعت رسیدن پنیر در رطوبت بالا سریع‌تر از رطوبت پایین است.

ج - درجه حرارت

حرارت محیط عاملی است که رشد میکروارگانیزمها

تصویر ۱- قطعات بریده شدهٔ لخته‌پنیر وانتقال آن به مخزن‌آب‌نمک ۲۲٪ (کارخانه پنیرسازی کارخانجات شیر پاستوریزه تهران)

و نیز واکنش‌های بیوشیمیایی لخته را تنظیم می‌نماید (۱۱ و ۱۳).

درجهٔ حرارت پایین، رشد و واکنش‌های بیوشیمیایی را کاهش می‌دهد، پنیری که در ۴ درجهٔ‌سانتیگراد به آهستگی رسیده است همان عطر و طعم پنیر رسیده شده در ۱۵ درجهٔ سانتیگراد را نخواهد داشت، از طرف دیگر در درجهٔ حرارتهای بالا طعم‌های نامطلوب بیشتر دیده می‌شود.

در برخی موارد به منظور حصول کیفیت ویژه، درجه حرارتهای دوران رسیدن تغییر می‌کند مثلاً در مراحل اولیه، پنیر امنتال (Emmental) در درجه حرارت پایین نگهداشته می‌شود و علت آن این است که باکتریهای لاکتیک، رشد کرده و بعضی از واکنش‌های حد واسط در لخته رخ می‌دهد.

در مرحلهٔ بعد، به منظور رشد باکتریهای پروپیونیک و تولید طعم و سوراخهای چشمی در لخته، درجه حرارت نگهداری بالا برده می‌شود. نگهداری مداوم در درجه حرارت پایین طعم ناقصی در پنیر تولید خواهد کرد.

اسید استیک، اسید سوکسینیک، اسیدلاکتیک همراه با اسید پروپیونیک در طی این تخمیر تولید شده و به طعم پنیر امنتال کمک می‌کنند (۱۱).

در بسیاری از مناطق رسیدن پنیر در سردابهای خنک و مرطوب انجام می‌شود و بدین‌ترتیب تبخیر رطوبت پنیر محدود می‌گردد. درجهٔ حرارت و رطوبت سردابها باید به دقت کنترل و تنظیم شوند. درجهٔ حرارت سردابهای سرد ۱۲-۱۰ درجهٔ سانتیگراد و سردابهای گرم ۱۸-۱۵ درجهٔ سانتیگراد می‌باشد و رطوبت نسبی آنها بین ۸۵ تا ۹۵ درصد در نوسان است. سردابهای طبیعی نیز وجود دارند که بدون هیچگونه دستگاه تهویه‌ای دارای حرارت و رطوبت منظمی هستند، مانند شکافهای موجود که در صخره‌ها که در آنها باد سرد و مرطوب وزیده می‌شود (۷ و ۱۳).

د- pH

pH محیط عاملی است که تکثیر و فعالیت بیوشیمیایی میکروارگانیزمها را معین می‌کند.

قارچها و مخمرها در محیط‌های اسیدی برای مثال در pH =۴/۵ و حتی کمتر می‌توانند فعال باشند و اکثر باکتریها در محیط‌های نزدیک خنثی فعال بوده و معمولاً در pH=۵ فعالیت آنها متوقف می‌شود ولی برخی از آنها در pHهای پایین نیز فعالیت می‌کنند مانند استرپتوکوکها و لاکتوباسیل‌ها که حتی در pH=۳/۵ نیز قادر به فعالیت می‌باشند (۱۳).

در پنیرهای اسیدی pH از ۴/۷ تا ۵ و در پنیر کپکی از ۴/۹ تا بالای ۷ تغییر می‌یابد. عملیات اولیه در پنیرسازی سرعت تولید اسید را تا وقتی که به لخته نمک اضافه می‌شود تعیین می‌کند که این امر همراه با کاهش لاکتوز است.

بنابراین فعالیت باکتریها و کپک‌هایی مثل پنی‌سیلیوم سبب تجزیه ترکیبات لخته به ترکیبات خنثی یا حتی قلیایی شده و باعث بالارفتن pH می‌گردد.

به طور کلی عامل فعال آنزیم تحت تأثیر pH و درجهٔ حرارت قرار دارد و در کاتالیز یک واکنش توسط آنزیم بیش از هر چیز pH و درجهٔ حرارت حائز اهمیت می‌باشند. pH پایین، هیدرولیز چربی، تولید مواد ازته محلول، ازت آمینه و آمونیاک را تحریک می‌نماید.

در غلب پنیرهای سخت آنزیم‌ها در pHهای ۴/۹ تا ۵/۵ فعالند و در pHهای بالا فعالیت آنها کمتر است (۱۱).

در پنیرهای نرم، آنزیمها در pHهای ۵/۳ تا ۶ فعالتر می‌باشند.

عوامل مؤثر در رسیدن پنیر

چندین دسته آنزیم در لخته فعالیت می‌نمایند که این آنزیمها دارای منشأهای متفاوتی می‌باشند.

بقایای آنزیم‌های مایه پنیر، پروتئازهای طبیعی شیر، پروتئازهای میکروبی حاصل از باکتریهای لاکتیک و بعضی از قارچها و مخمرها و پروتئازهای حاصل از فلورهای ثانوی در رسیدن پنیر دخالت دارند (۹، ۱۲، ۱۳، ۱۷، ۱۸، ۲۱ و ۲۹).

این پروتئازها پیوندهای پپتیدی واقع شده در داخل زنجیره پلی‌پپتیدی را هیدرولیز می‌نمایند و باعث تجزیه پروتئین‌ها به پپتیدها می‌شوند، ویژگی قطع اتصالات به اسیدهای آمینه موجود بستگی دارد.

به طور کلی مهمترین عوامل مؤثر در رسیدن پنیر به شرح زیر می‌باشد:

۱- پروتئازهای طبیعی شیر
- الف - پروتئاز قلیایی (پلاسمین)
- ب - پروتئاز اسیدی

۲- مایه پنیر

۳- میکروارگانیزمها و آنزیمهای آنها
- الف- باکتریهای لاکتیک
- ب- میکروارگانیزمهای ثانوی
- ج- مخمرها
- د- قارچها

۴- آنزیمهای تجزیه‌کننده اسیدهای آمینه

تحولات پنیر در طی دوران رسیدن (پدیده‌های میکروبی - آنزیمی و بیوشیمیایی رسیدن پنیر)

تغییرات بیوشیمیایی مهمی که در طی رسیدن پنیر دخالت دارند شامل پروتئولیز، لیپولیز و تولید ترکیبات فرار می‌باشند.

گر چه لیپولیز و تخمیر لاکتوز در تهیه پنیر، فرآیندهای مهمی هستند اما تعیین تأثیر آنها در بافت و شدت طعم فرآورده‌ها مشکل می‌باشد.

به هر حال پروتئولیز نقش مستقیمی درگسترش بافت، عطر و طعم اغلب پنیرهای رسیده ایفا می‌نماید (۱۷).

مطالعات انجام شده توسط میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که پروتئین‌ها شبکه‌ای را می‌سازد که گویچه‌های چرب و آب پنیر را در برمی‌گیرد. هر تغییری که در پروتئین‌ها صورت گیرد بر روی خصوصیات مرفولوژیکی آنها اثر می‌گذارد.

در پنیرهایی که لخته فشرده دارند، پروتئولیز سبب کاهش سفتی والاستیسیته آن می‌گردد و در بعضی از پنیرهای نرم، تغییرات بافت بارزتر بوده، به‌طوری که پنیر نرم‌تر می‌شود و ممکن است در بعضی از انواع حالت نیمه سیال به خود بگیرد (۱۲).

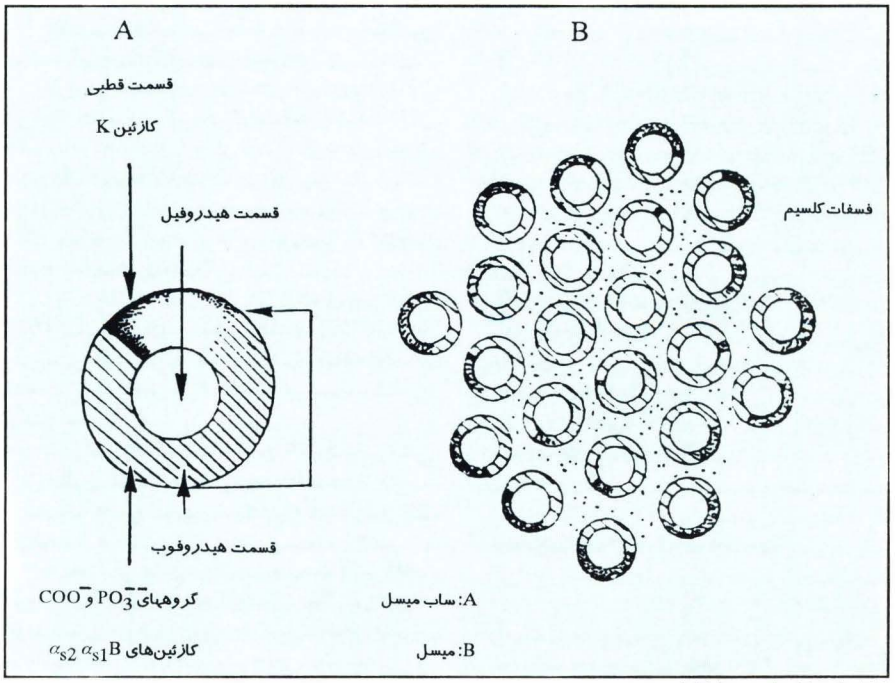
۱- پروتئولیز

الف - مکانیسم عمومی تجزیه پروتئین‌ها

پروتئولیز مهمترین پدیده رسیدن پنیر است چرا که هم بر روی بافت و هم بر عطر و طعم پنیر تأثیر می‌گذارد. در پنیری که تازه آبگیری شده ۴ تا ۸ درصد مواد ازته محلول در آب وجود دارد اما در پایان زمان نگهداری این مقدار به ۲۰ تا ۵۰ درصد با توجه به نوع پنیر می‌رسد (۷، ۱۴ و ۲۳). پروتئولیز، تجزیه تدریجی پروتئینها است که می‌تواند با دستگاه جهاز هاضمه حیوانات مقایسه شود با این تفاوت که نسبت به آنها محدودتر می‌باشد. در طی این تجزیه، از پروتئین‌هایی با وزن مولکولی بالا، ترکیباتی با وزن مولکولی پایین، به‌وجود می‌آید. مرحلهٔ تجزیه پروتئین‌ها به شرح زیر می‌باشد (۷):

تصویر ۲- بریدن شیر منعقد شده بعد از مایه زنی (کارگاه پنیرسازی کارخانجات شیر پاستوریزه تهران)

ش۲۸/پ۷۴



شکل ۱- ساختمان میسل کازئین

- قطع زنجیره طولانی پپتیدها به‌وسیلهٔ آندوپپتیداز

- جدایی اسیدهای آمینه به‌وسیلهٔ کروبوکسی‌پپتیداز و آمینوپپتیداز که باعث به‌وجود آمدن اسیدهای آمینه آزاد می‌شود.

- تبدیل اسیدهای آمینه آزاد که توسط آنزیمهایی که در کاتابولیسم دخالت دارند، صورت می‌گیرد و نوع میکروارگانیزم و شرایط فیزیکی و شیمیایی و pH محیط، مؤثر می‌باشد.

پروتئولیز کازئین با توجه به متفاوت بودن نوع آنزیم، برای هر نوع پنیری متفاوت می‌باشد و به طور کلی می‌توان گفت که:

- در تمام پنیرها، کازئین کاپا به محض شروع تولید ناپدید می‌شود.

- در تمام پنیرهایی که با استفاده از قارچ می‌رسند، کازئین β سریع‌تر تجزیه می‌شود.

- در پنیرهایی که بافت سخت یا نیمه‌سخت دارند کازئین α_{s1} سریع‌تر تجزیه می‌شود.

ب- مکانیسم عمومی تجزیه اسیدهای آمینه

عمل آنزیم دکربوکسیلاز منجر به آزادشدن گازکربنیک از گروه کربوکسیل اسید آمینه و آزادشدن آمین مربوطه می‌شود.

فعالیت دکربوکسیلاسیون تریپتوفان، فنیل‌آلانین یا تیروزین در میکروکوک‌ها شناسایی شده است و دکربوکسیلاسیون‌لیزین، لوسین یا اسید گلوتامیک در pHهای بین ۵ و ۷ در Brevibacterium مشخص شده است.

آنزیمهای دکربوکسیلاز در استرپتوکوک‌های گروه D نیز وجود دارد. آنزیمهای مسئول ترانس آمیناسیون در باکتریهای گروه N و بعضی استرپتوکوک‌های گروه D و میکروکوک‌ها، شناسایی شده‌اند. دزآمیناسیون اسیدهای آمینه سبب تولید آمونیاک می‌شود.

استرپتوکوک‌های گروه D و بعضی از واریته‌های *Brevibacterium linens*، قارچهای *Geotrichum candidum* دارای آنزیم دزآمیناز هستند (۱۳).

در شکل (۲) نمودار عمومی کاتابولیسم‌میکروبی اسیدهای آمینه در طی رسیدن پنیر نشان داده شده است، بارزترین واکنش‌ها تیروزین - فنل - لیاز یا تریپتوفان - اندول-لیاز است که به ترتیب تولید فنل و اندول همراه با پیرووات و آمونیاک را می‌نماید.

آنزیمهای مسئول تجزیه متیونین در رابطه با نقش ترکیبات گوگردی در عطر بعضی از پنیرها، اهمیت پیدا می‌کند.

این آنزیم منجر به آزادشدن متاتیول[۷] می‌شود که از طریق قطع پیوند بین کربن و گوگرد به دست می‌آید.

میکروارگانیزمهایی که قادر به تولید متاتیول از متیونین هستند، بسیار متنوعند و به گروه پسودوموناسها، کلستریدیومها، *Penicillinum camemberti* و باکتریهای کورینه فرم *(Brevibacterium linens)* تعلق دارند (۱۳).

۲- لیپولیز و اسیدهای فرار

الف- مکانیسم لیپولیز

تری‌گلیسیریدهای غیرمحلول در آب به گلیسرید و اسیدهای چرب آزاد، توسط لیپازها تجزیه می‌شوند.

از مشخصات این آنزیمها که استرازهای ویژه‌ای هستند، حضور آنها در فصل مشترک آب و چربی است.

به طور کلی لیپولیز به صورت زیر گسترش می‌یابد:

تری‌گلیسیرید
↓
۱، ۲ یا ۳گلیسیرید
↓
۲- منوگلیسیرید

بعد از آن لیپولیز تا تشکیل گلیسرول می‌تواند ادامه پیداکند (۱۲ و ۱۳).

ب- عوامل مؤثر در لیپولیز

هیدرولیز مواد چربی نقش مهمی را در تشکیل عطر پنیر ایفا می‌نماید اما بر روی بافت آن تأثیر مهمی ندارد.

لیپولیز، ناشی از عمل طبیعی لیپاز شیر باقیمانده در پنیری است که از شیر خام تهیه شده است. در پنیر چدار تهیه شده از شیر خام، لیپاز در مقایسه با فعالیت لیپولیتیک ضعیف استرپتوکوک‌های لاکتیکی، اسیدهای چرب آزاد زیادی تولید می‌کند (۲۲). لیپاز طبیعی شیر در pHهای پایین‌تر از ۶/۵ غیرفعال است و به راحتی در اثر حرارت حتی حرارت پاستوریزاسیون معمولی از بین می‌رود و به‌سرعت در حرارت بالای ۶۰ درجهٔ سانتیگراد دناتوره می‌شود.

تمام میکروارگانیزمها بر حسب جنس و گونهٔ لیپاز ترشح می‌نمایند.

در بین لیپازهای میکروبی، لیپازهای مقاوم به حرارت وجود دارد که حتی در شیر پاستوریزه شده در ۷۶ درجهٔ سانتیگراد فعال باقی می‌ماند (۱۲،۷).

از میان میکروارگانیزمهایی که در پنیرسازی دخالت دارند، قارچها بیشترین فعالیت تجزیه مواد چربی را به عهده دارند.

Penicillium camemberti مقدار زیادی لیپاز خارج سلولی ترشح می‌کند (۷، ۱۳ و ۱۶) که فعالیت آن برروی تریبوترین در pH=۹ و در حرارت ۳۵ درجهٔ‌سانتیگراد حداکثر می‌باشد و مهمترین عامل لیپولیز پنیر کاممبرت (Camembert) محسوب می‌شود.

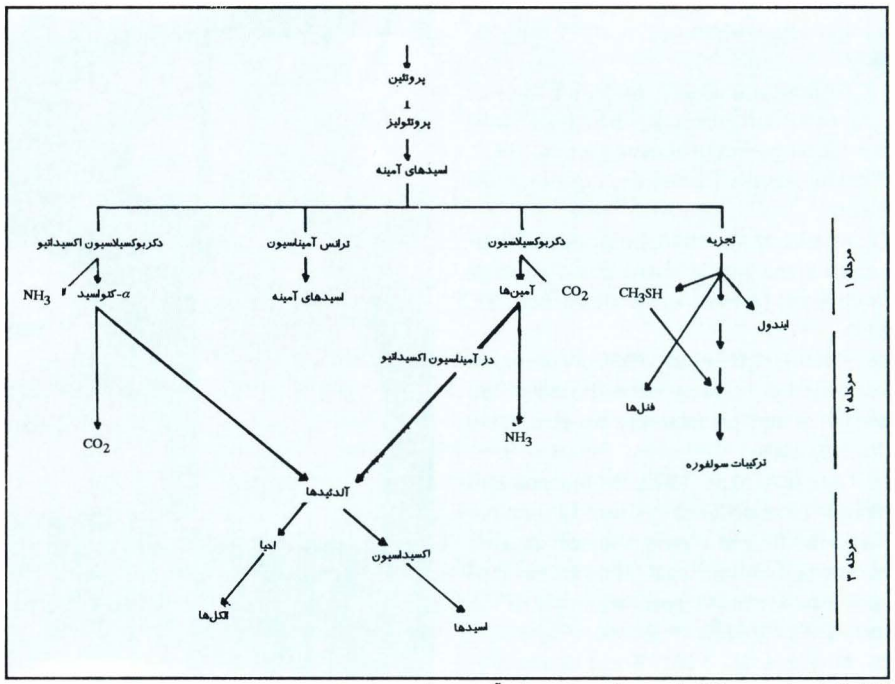
باکتریهای لاکتیک دارای فعالیت لیپولیتیکی ضعیفی می‌باشند و قادر به هیدرولیز تری‌گلیسریدها نیستند.

آنها از منو یا دی‌گلیسیرید اسید چرب آزاد می‌کنند، اسیدهای چرب C_4-C_6 از اسیدهای آمینه به‌وسیلهٔ استرپتوکوکهای لاکتیکی تولید می‌شوند که این مکانیسم به عنوان مهمترین منبع اسید چرب فرار در داخل پنیر می‌باشد. لاکتوباسیلها و *Str. thermophilus* دارای فعالیت لیپولیتیکی ضعیفی هستند ولی استرپتوکوک‌های مزوفیل و لوکونستوک‌ها نسبت به آنها فعال‌تر می‌باشند.

این میکروارگانیزمها مسئول لیپولیز پنیرهایی هستند که فلور غالب آنها را باکتریهای لاکتیک، تشکیل می‌دهد، آنها عمل لیپاز طبیعی شیر را در پنیرهای تهیه شده از شیر خام تشدید می‌نمایند(۱۳،۱۲).

میکروارگانیزمهای سرماگرا می‌توانند در رسیدن پنیر دخالت نمایند.

پاستوریزاسیون، میکروارگانیزمها را نابود می‌کند اما بعضی از لیپازهای آنها مقاوم به حرارت بوده که در زمان رسیدن بعضی از پنیرها مانند گرویر (Gruyere) فعالیت می‌نمایند (۱۲ و ۱۳).



شکل ۲- نمودار عمومی کاتابولیسم میکروبی اسیدهای آمینه در طی رسیدن پنیر

لیپولیز در پنیرهایی که به شدت شور هستند ادامه می‌یابد در صورتی که پروتئولیز متوقف می‌شود.

لیپولیز عموماً به‌وسیلهٔ مقدار اسیدهای چرب آزاد اندازه‌گیری می‌شود مقدار اسید کاپروئیک نشانهٔ جالبی برای تعیین تقریبی درجه لیپولیز می‌باشد. اغلب اسیدهای چرب آزاد از لیپولیز ناشی می‌شوند و اسیدهای چرب کوتاه زنجیره تولید شده از تجزیه لاکتوز و بعضی از اسیدهای آمینه، فقط ۵ درصد اسیدهای چرب کل را تشکیل می‌دهند.

اسیدهای چرب آزاد در تشکیل عطر دخالت می‌نمایند. اسیدهای چرب با وزن ملکولی بالا دارای عطر ضعیفی می‌باشند (۱۲، ۱۳، ۱۶ و ۲۰). در پنیرهای تازه با پوشش قارچی، اسیدبوتیریک بیشترین اسید چرب فرار را تشکیل می‌دهد. در پنیر امنتال، پروپیونیک عمده‌ترین اسید چرب می‌باشد. در طعم پنیرهای پخته، پروپیونات کلسیم شرکت می‌نماید.

وجود اسیدبوتیریک در مقادیر بالا، تأثیر ناهنجاری روی طعم پنیر دارد ولی با این‌حال وجود اندکی از آن برای تشکیل عطر ویژه خصوصاً در پنیرهای امنتال و کنته (Conte) لازم می‌باشد.

مهمترین نتیجه لیپولیز از دست دادن کیفیت ارگانولپتیکی است و رابطه‌ای میان تندی و مقدار اسیدهای چرب آزاد خصوصاً با ۴ اتم کربن وجود دارد که این موضوع از اهمیت تکنولوژیکی و اقتصادی مهمی برخوردار می‌باشد (۱۲ و ۲۰).

۳- گلیکولیز

الف- تخمیر لاکتوز

باکتریهای اسید لاکتیک انرژی خود را از طریق تخمیر کربوهیدراتها به دست می‌آورند. لاکتوز تنها قند شیر است و میکروارگانیزمها آن را برای تأمین انرژی مورد استفاده قرار می‌دهند.

در محیط مرطوبی مانند لخته، لاکتوز خیلی سریع از بین می‌رود، باکتریهای لاکتیک آن را در شرایط مطلوب مورد مصرف قرار می‌دهند و علاوه بر اسیدلاکتیک عناصر کربونیل نیز ایجاد می‌کنند که این عناصر در عطر پنیر مؤثر می‌باشند (۷).

کاتابولیسم لاکتوز به وسیلهٔ *Str. thermophillus* و *Lactobacillus bulgaricus* داخل سلول انجام می‌گیرد.

در این مرحله، مولکول لاکتوز از غشاء دیواره سلولی به داخل سلول باکتری منتقل می‌شود این انتقال به وسیله آنزیم گالاکتوزید پرمئاز[8] انجام می‌شود. هیدرولیز لاکتوز در داخل سلول توسط آنزیم بتا-دی-گالاکتوزیداز انجام می‌گیرد که در اثر این تجزیه، لاکتوز به D-گلوکوز و بتا-دی-گالاکتوز تبدیل می‌شود (۱۳).

در *Str. thermophillus* و *Lactobacillus bulgaricus*، منوساکاریدهای ذکر شده به اسید لاکتیک متابولیزه می‌شوند.

در استرپتوکوکوس‌های مزوفیل انتقال لاکتوز از غشاء سلولی به وسیلهٔ سیستم فسفوترانسفراز انجام می‌گیرد که این سیستم سبب فسفریله‌شدن دی‌هالوزید به لاکتوزدی‌فسفات می‌شود. لاکتوزدی فسفات به وسیلهٔ فسفو-بتا-گالاکتوزیداز به گلوکز-۶- فسفات و گالاکتوز-۶- فسفات تبدیل می‌شود.

در استرپتوکوکهای ترموفیل فسفریله شدن منجر به تشکیل گالاکتوز-گلوکز-۶- فسفات می‌شود.

لاکتوباسیلها به جز *Lactobacillus casei* فقط یک فعالیت β-گالاکتوزیدازی دارند و عمل فسفریله شدن مستقیماً روی گلوکز و گالاکتوز انجام می‌شود، این عمل به طریقی صورت می‌گیرد که گالاکتوز به کندی تجزیه می‌شود (۱۳).

تجزیه دو منوساکارید تولید شده از راههای مختلفی انجام می‌شود که مهمترین آنها هگزوزدی‌فسفات و پنتوزفسفات می‌باشد.

در گلیکولیز از طریق هگزوز دی فسفات اسیدپیرووویک تشکیل می‌شود که این اسید به‌وسیلهٔ سیکل‌تری کربوکسیلیک کربس به دی‌اکسیدکربن و آب کاملاً اکسیده می‌گردد.

اکسیداسیون اسید پیرووویک در متابولیسم هوازی میکروکوک‌ها، باکتریهای کورینه‌فرم و قارچها صورت می‌گیرد. در تخمیر بی‌هوازی اسیدپیرووویک به اسیدلاکتیک احیا می‌شود.

این راه «همولاکتیک»[9] نامیده می‌شود که در آن چهار ملکول اسیدلاکتیک از ملکول لاکتوز متابولیزه شده، تشکیل می‌گردد، این تخمیر به‌وسیلهٔ استرپتوکوک‌های لاکتیکی و اکثر لاکتوباسیل‌ها انجام می‌گیرد (۱۶،۱۳).

در راه پنتوزفسفات که راه «هترولاکتیک[10]» نیز نامیده می‌شود ضمن تشکیل اسیدلاکتیک، دی‌اکسید کربن، اتانول و اسیداستیک‌نیز تشکیل می‌شود.

این تخمیر به وسیلهٔ لوکونستوک و لاکتوباسیلهای هتروفرمانتر[11] انجام می‌گیرد.

مخمرها در شرایط بی‌هوازی چرخه مشابهی را دنبال می‌کنند و اتانول و دی‌اکسیدکربن تولید می‌نمایند.

متابولیزه شدن لاکتوز توسط مخمرها سبب تشکیل سوراخهایی در لخته می‌گردد.

باکتریهای کلی فرم نیز دارای متابولیسم مشابهی هستند و در محیط اسید لاکتیک، اسید استیک، اسید فرمیک، اسیدسوکسینیک، اتانول، دی‌اکسیدکربن، ۲-۳- بوتان دیول و استیل‌متیل کربونیل آزاد می‌نمایند.

در پنیرسازی باکتریهای استارتر تخمیر همولاکتیک انجام می‌دهند که تخمیر غالب است (۱۶،۱۳).

اسیدلاکتیک و لاکتات که نتیجهٔ تخمیر می‌باشند به نوبهٔ خود متابولیز می‌شوند.

کپک‌ها و مخمرها از طریق چرخه کربس آنها را اکسید کرده و گاز کربنیک و آب تولید می‌نمایند.

پروپیونی باکتریوم اسید لاکتیک و لاکتات را به استات پروپیونات و دی‌اکسیدکربن تبدیل می‌کند. دی‌اکسیدکربن مسئول ایجاد شکاف در پنیرهای سخت و پخته است که ناشی از تخمیر پروپیونیک می‌باشد.

چندین گونهٔ کلستریدیوم آنها را به اسیدبوتیریک، اسیداستیک، دی‌اکسیدکربن و آب از طریق تخمیر بوتیریک تبدیل می‌نمایند.

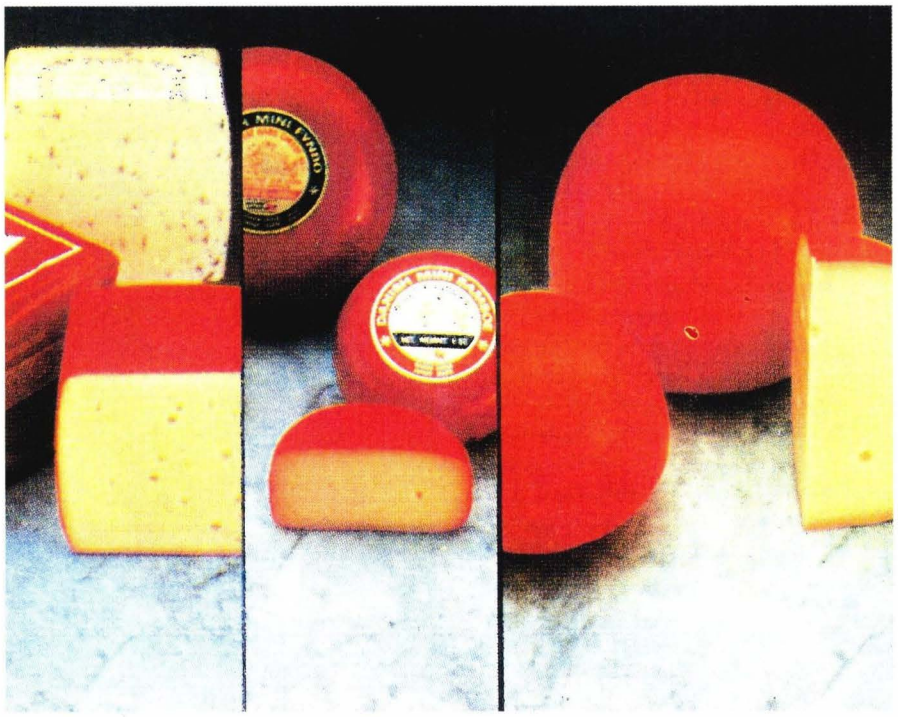
ب- اثرات اسیدی شدن لخته در طی پنیرسازی

اسیدی شدن لخته در طی پنیرسازی دارای اثرات متفاوتی است که مهمترین آنها عبارتند از:

۱- تأثیر روی عطر محصول (۷، ۱۰، ۲۶ و ۲۷).

۲- به عنوان نگهدارنده دارای اهمیت می‌باشد چرا که کاهش سریع pH از رشد میکروارگانیزمهایی که به شدت پروتئولیز هستند جلوگیری می‌کند (۷ و ۱۰).

۳- سبب ایجاد تغییراتی در بافت می‌شوند و علت آن این است که املاح معدنی وابسته به کازئین حل شده و در پایان زمان آبگیری پنیر دارای واکنش اسیدی می‌باشد و آبگیری تحریک می‌شود (۱۰).



تصویر ۳- انواعی از پنیرهای بین‌المللی با اشکال و اندازه‌های استاندارد

پاورقی‌ها

1. Starter Culture
2. Coagulation
3. Curd
4. Drainage
5. Salting
6. Ripening
7. Methan - Thiol
8. Galactoside Permease
9. Homolactic
10. Heterolactic
11. Heterofermenter

منابع مورد استفاده

۱- احسانی، محمدرضا (۱۳۶۸)، مکانیزمها و عوامل مؤثر در انعقاد شیر، وزارت کشاورزی.

۲- خلاصهٔ عملکرد ۶ ماههٔ اول سال (۱۳۷۱)، معاونت امور دام، وزارت جهاد سازندگی.

۳- فقیهی‌فرد، جمشید (۱۳۷۰)، بازار جهانی لبنیات، از سری انتشارات بازار جهانی کالاها، شمارهٔ ۱۴، مؤسسهٔ مطالعات و پژوهشهای بازرگانی، واحد تحقیقات بازرگانی.

۴- مروری بر عملکرد شرکت سهامی صنایع شیر ایران (۱۳۶۹)، شرکت سهامی صنایع شیر ایران، وزارت جهاد سازندگی.

۵- ملک‌آسا، کریم (۱۳۷۲)، صنایع تبدیلی و جنبی امور دام، معاونت امور دام، وزارت جهادسازندگی.

۶- ویژگیهای پنیر (۱۳۷۲)، شمارهٔ استاندارد ۲۳۴۴، مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

7. Alias C., 1984, Science du lait, Sep.m Paris.

8. Bartels, H.J. et al., 1987, Accelerated ripening of Gouda cheese: I. Effect of heat-shocked thermophilic lactobacilli and streptococci on proteolysis and flavour development. Milchwissenschaft. 42, 83.

9. Bhowmik, T.et al., 1990, Role of micrococcus and pediococcus species in cheese ripening. (A review). J. Dairy Sci., 73, 859.

10. Champagne, C.P. et al., 1992, Factors other than bacteriophage that affect lactic starter activiy. Food Research International, 25, 309.

11. Chapman. H.R. and Sharpe, M.E., 1990, In: P.K. Robinson (ed.) Dairy microbiology: The microbiology of milk products, vol. 2, Elsevier Applied Science, London, UK, P.203.

12. Desnouveaux, R. et al., 1985, Les enzymes non coagulantes dans la filiére lait: Proprietés utilisations industrielles et développements futurs. Ministére d´agriculture, Edition Apria, N°37.

13. Eck, A., 1987, Le fromage, 2 ed, Tec et Doc, Paris.

14. Fox, P.F., 1989, Proteolysis during cheese manufacture and ripening. J. Dairy Sci., 72, 1379.

15. Furtado, M.M. et al., 1988, Characterization of nitrogen fractions during ripening of a soft cheese made from ultrafiltration retentates. J. Dairy Sci., 71, 2877.

16. Gripon, J.C., 1987, In: P.F. Fox (ed.) Cheese: Chemistry, physics and microbiology-major cheese groups, Vol. 2, Elsevier Applied Science, London, UK, P.121.

17. Khalid, N.M., 1990, Lactobacilli-their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese. (A review). J. Dairy Sci., 37, 2669.

18. Khalid, N.M. et al., 1990, Proteolytic activity by strains of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*. J. Dairy Sci., 73, 3068.

19. Law, B.A. et al., 1992, Proteolysis and flavour development in Cheddar cheese made with the single starter strains *Lactococus lactis* spp lactis UC 317 or *Lactococcus lactis* spp. Cremoris HP. J. Dairy Sci., 75, 1173.

20. Meyer, L.H., 1987, Food chemistry, C.B.S. publishers and distributors, India, P. 306.

21. Pearce, K.N. et al., 1988, Ninhydrin assay for proteolysis in ripening cheese. J. Food Sci., 53, 433.

22. Reiter, B. et al., 1969, Hydrolysis of fat and protein in small cheeses made under aseptic conditions. J. Dairy Res., 36 65.

23. Samples, D.R. et al., 1984, Measuring proteolysis in Cheddar cheese slurries: Comparison of hull and trinitrobenzene sulfonic acid procedures. J. Dairy Sci., 67, 60.

24. Schmidt, G.H. et al., 1988, Principles of dairy science. Second edition, Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ 07632.

25. Scott, R., 1986, Cheese making practice, 2nd Edn, Elsevier Applied Science, London, UK.

26. Shahbal, S., 1993, Characterization of a cell envelope associated proteinase activity from *Streptococcus thermophilus* H-strains. Applied and environmental microbiology, 59, 177.

27. Timothy, M.C., 1990, In: P.K. Robinson (ed.) Dairy microbiology. Vol. 2: The microbiology of milk products, Elsevier Applied Science, London, UK, P.77.

28. Veisseyre, R., 1979, Technologie du lait/4 Tir age/La Maison Rustique, Paris.

28. Visser, S., 1993, Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavour: An overview. J. Dairy Sci., 76, 329.