اثر افزودن آنزیم لیپاز بر پیشرفت لیپولیز و خصوصیات میکروبی پنیر سنتی (سفید آب نمکی) و فتای فراپالایش

صدیقه یزدان پناه[a]، محمدرضا احسانی[b*]، مریم میزانی[b]

[a] دانشجوی دکتری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران
[b] استاد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران
[b] دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران

Archive of SID

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۸/۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۱۵

چکیده

مقدمه: لیپولیز یکی از واکنش‌های بیوشیمیایی اصلی طی رسیدن پنیر است. در اثر پاستوریزاسیون و حرارت دهی لیپاز طبیعی شیر غیرفعال می‌شود؛ بنابراین، لیپولیز در پنیرهای ایرانی در سطح بسیار پایین انجام می‌شود. این مطالعه با هدف تسریع فرایند رسیدن پنیر سنتی و فتای فراپالایش از طریق لیپولیز پیشرفته و تأثیر آن بر خصوصیات میکروبی انجام شده است.

مواد و روش‌ها: لیپازهای اینکپسوله *آسپرژیلوس نیگر* بر اساس روش سول – ژل تهیه شد .جهت تولید پنیر بعد از استاندارد کردن چربی شیر (٪ ۳/۳)، عمل پاستوریزاسیون در $^{\circ}C$ ۷۵ به مدت ۱۵ ثانیه انجام شد. سپس شیر پاستوریزه، خنک شده و به آن مایه‌های لاکتیکی، مایه پنیر و لیپاز به سه صورت لیپاز آزاد، لیپاز اینکپسوله و لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی به پنیر سنتی و فراپالایش به مقدار ۴ گرم در ۱۰۰ کیلوگرم دلمه یا رتنتیت، افزوده شد. پیشرفت لیپولیز و آزمون‌های شیمیایی میکروبی وارزیابی حسی در طی دوره رسیدن ۶۰ روزه بررسی شده است.

یافته‌ها: در روز ۱۵ از دوره رسیدن پنیر سنتی و فراپالایش، تغییرات معنی‌داری در سطح $P<۰/۰۵$ در پیشرفت لیپولیز و ترکیبات شیمیایی مشاهده شد .جمعیت میکروبی بعد از روز ۱۵ منفی شد. تیمار لیپاز اینکپسوله پنیر فراپالایش بالاترین امتیاز آزمون حسی را بدست آورد.

نتیجه‌گیری: تسریع در لیپولیز به عنوان یکی از شاخص‌های رسیدن پنیر است. تولید ترکیباتی مانند اسیدهای چرب و استفاده از افزودنی‌های جاذب الرطوبه مانند هیدروکلوئید صمغ عربی باعث کاهش جمعیت میکروبی محصول نهایی و بهبود خواص حسی شده است.

واژه‌های کلیدی: *اینکپسوله کردن، پنیر ،خصوصیات میکروبی، رسیدن، لیپولیز*

[*] نویسنده مسئول مکاتبات email: mehsani@ut.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

رسیدن پنیر شامل یکسری واکنش‌های میکروبی، بیوشیمیایی و شیمیایی است. اولین تجزیه ترکیبات شیر توسط آنزیم‌ها وشکل دادن به پدیده‌های گلیکولیز، لیپولیز و پروتئولیز انجام می‌شود .میکروارگانیسم‌های زیادی در پنیر وجود دارند که طی رسیدن مقدار و محصولات تولیدی از آنها تغییر می‌کند. فلور میکروبی نقش بحرانی در خصوصیات، حفظ ارزش‌های تغذیه‌ای و دوره ماندگاری پنیر دارد (McSweeny *et al*., 2004) مصرف کنندگان محصولاتی را ترجیح می‌دهند که حداقل فراوری بر آنها انجام شده، ماندگاری و امنیت بالایی داشته باشند (Cheft *et al*., 1992). فلور میکروبی پنیر به دو بخش تقسیم می‌شود ۱- باکتری‌های اسید لاکتیکی ۲- سایر میکروارگانیسم‌ها (میکروارگانیسم‌های آلوده کننده که از راه‌های مختلف وارد شده اند) (Beresford *et al*., 2001). عوامل داخلی مانند: درصد رطوبت، پتانسیل اکسیداسیون واحیا، مواد مغذی، ترکیبات ضدمیکروبی، ساختمان بیولوژیکی، pH و عوامل خارجی مانند: درجه حرارت انبار، رطوبت نسبی محیط، غلظت گازهای موجود در اتمسفر بر رشد میکروب‌ها مؤثراند. علاوه بر تغییرات بیوشیمیایی باقی ماندن ترکیبات منعقد شده، آنزیم‌های طبیعی شیر، فلور میکروبی (استارتر و غیر استارتر)، آلودگی ثانویه میکروبی منجر به شکسته شدن پروتئین‌ها، لاکتوز و چربی می‌شود. کپک‌ها و باکتری‌ها با داشتن سیستم‌های آنزیمی باعث تغییر طعم و ظاهر با افزایش شدت پروتئولیز و لیپولیز می‌شوند (Gripon, 1987). در طول رسیدن پنیر جمعیت باکتری‌های لاکتیکی افزایش یافته پتانسیل اکسیداسیون – احیاء با آزاد شدن آنزیم های لیپاز و پروتئاز کاهش می‌یابد که جمعیت میکروبی و طعم را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Steele, 1995). برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها و پاتوژن‌ها در انواع پنیر، مطالعات در زمینه‌هایی مانند اضافه کردن استارترهای لاکتیکی، بسته‌بندی در اتمسفراصلاح شده، پاستوریزاسیون سطح، اثرات ضد باکتریایی سیستم لاکتوپراکسیداز و استفاده از باکتریوسین‌هایی مانند نیسین (Evert- *et al*., 2012 Arriagada) انجام شده است. فرآیند رسیدن پنیر آهسته، طولانی و پرهزینه است. روش‌هایی که برای کوتاه کردن زمان رسیدن پنیر مورد توجه‌اند شامل: بالابردن درجه حرارت نگهداری در طول رسیدن و استفاده از میکروارگانیسم‌ها (El Soda, 1986) و استفاده از آنزیم (Alais, 1984) می‌باشد. لیپولیز تری گلیسریدهای شیر در مدت رسیدن پنیر یکی از مهمترین تغییرات بیوشیمیایی است که بر ویژگی‌های بافتی، میکروبی و حسی پنیر تاثیر دارد (McSweeny *et al*., 2004). لیپازطبیعی شیر در اثر حرارت پاستوریزاسیون ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه تا ۸۳ درصد فعالیت خود را از دست می‌دهد ودر دمای ۷۸ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه ۱۰۰ درصد غیر فعال می‌شود (Castillo *et al*., 2007). به این دلیل از لیپاز اگزوژن (EC۳,۱,۱,۳) که یکی از مهمترین آنزیم‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی است برای هیدرولیزتری گلیسریدها به گلیسرول، اسیدچرب و تسریع فرایند رسیدن استفاده می‌شود (Vai Vaidya *et al*., 2008). برای پایداری بیشتر آنزیم، از فرآیند تثبیت آنزیم با انتخاب حامل مناسب استفاده می‌شود. این فرایند بر کاهش هزینه‌های اقتصادی موثر است. بهترین روش برای تثبیت آنزیم لیپاز استفاده از مواد هیدروفوب و تکنیک سول – ژل می باشد. آنزیم به دام افتاده در روش سول – ژل، ساختار سوم و چهارم پروتئینی آن حفظ می‌شود، پایداری حرارتی و شیمیایی‌اش افزایش می‌یابد و اثر عوامل بازدارنده بر آن کاهش می‌یابد (Guisan, 2006).

به رغم گستردگی تولید و مصرف پنیر، تاکنون تحقیقات همه جانبه‌ای در این خصوص در حد مطلوب و به صورت مستمر انجام نگرفته است و کارهای مطالعاتی در زمینه تسریع رسیدن پنیر در خصوص لیپولیز نیز بیشتر به صورت اضافه کردن آنزیم لیپاز به صورت خالص و آزاد و بررسی خصوصیات حسی و فیزیکوشیمیایی بوده است. بیشتر مصرف کنندگان به دنبال خرید محصولاتی با کیفیت تکنولوژیکی و میکروبیولوژیکی بالاتر می‌باشند. در این پژوهش، برای رسیدن به این هدف از آنزیم لیپاز اینکپسوله استفاده شد تا فعالیت آنزیمی به صورت تدریجی انجام شود و از ظاهرشدن طعم‌های نامطلوب ناشی از تجزیه‌ی چربی‌ها و تبدیل به برخی محصولات که باعث برگشت طعم هستند جلوگیری شود. لذا در این تحقیق پیشرفت لیپولیز، خصوصیات میکروبیولوژی و حسی پنیر فتای فراپالایش و پنیر سنتی که به آنها لیپازهای اینکپسوله آسپرژیلوس نیگر اضافه شده است در طول ۶۰ روز مطالعه شد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

- مواد

لیپاز تجاری آسپرژیلوس نیگر (آمانو)[1] از شرکت سیگما – آلدریچ، کشت‌های آغازگر (وای ۵۰۲[2] دی اِ م۲۳۰[3]) از شرکت دنیس کو[4] (آلمان)، مایه پنیر (فروماز آر تی ای پودری[5]) با قدرت ≤IMCU/g ۲۲۰۰ به صورت مایه پنیر میکروبی حاصل از کپک Rhizomucor miehei از شرکت دی اس ا م[6] (فرانسه) و محیط‌های کشت میکروبی از شرکت مرک تهیه گردید. شیر، تجهیزات و واحد فیلتراسیون توسط شرکت شیر پاستوریزه پگاه شیراز فراهم گردید.

- تهیه لیپازهای اینکپسوله

از لیپاز تجاری Aspergillus niger استفاده شده است و لیپازهای اینکپسوله با استفاده از تترامتوکسی سیلان و متیل تری متوکسی سیلان بر اساس روش سول – ژل، طبق روش Guisan (۲۰۰۶) آماده شدند. دو نوع کپسول، کپسول حاوی ۱۵۰ میلی گرم لیپاز و کپسول حاوی ۱۵۰ میلی گرم لیپاز و ۱۰۰ میکروگرم صمغ عربی تولید شد.

روش‌های مورد استفاده ساخت پنیرها در شکل ۱ نشان داده شده است. پنیر سنتی (سفید آب نمکی) و فتای فراپالایش به ترتیب بر طبق روش های Bylund (۱۹۹۵) و Hesari و همکاران (۲۰۰۶) تولید شدند. در این پژوهش از شیر ممتاز که ترمینیزاسیون بر آن انجام شده بود استفاده شد.

- اندازه گیری لیپولیز (عدد اسیدی)

برای ارزیابی پیشرفت لیپولیز از عدد اسیدی از روش Marshal (۱۹۹۲) استفاده شده است.

- بررسی تحولات میکروبی پنیر

– نمونه برداری از پنیر

نمونه برداری از پنیر در شرایط سترون با استفاده از تجهیزات سترون انجام گرفت. نمونه در یک ظرف تمیز و سترون به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از سوند مخصوص یا چاقوی سترون نمونه‌گیری انجام شد. مقدار هر نمونه ۱۰ گرم بود.

- اندازه گیری خصوصیات فیزیکوشیمیایی

مقدار نمک بر اساس روش موهر (Hossini, 1998)، مقدار رطوبت با استفاده از رطوبت‌سنج (Sartorius MA35, Ltd., Epsom, UK) در دمای ۱۰۲°C تا رسیدن به وزن ثابت (IDF, 1982) و pH با pH متر (Calimat766) اندازه گیری شد.

- آزمون‌های میکروبیولوژیکی

شمارش کلیفرم‌ها: از وایولت رد بایل آگار[7] استفاده گردید و در ۳۰°C گرمخانه‌گذاری شد.

شمارش کپک و مخمر: از آگار مالت[8] با pH = ۳/۵ استفاده گردید و پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۳ تا ۵ روز در دمای ۲۵°C – ۲۲ قرار داده شدند.

جستجوی استافیلو کوکوس‌اورئوس: از محیط برد پارکر[9] استفاده شدو روش کشت به صورت سطحی بوده و در ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری انجام شد.

شمارش اسپور: از محیط کشت پلیت کانت آگار[10] استفاده گردید (Karim, 1999).

- ارزیابی خواص حسی

ارزیابی خواص حسی توسط ۴۰ نفر گروه پانل آموزش دیده در کارخانه صنایع شیر پگاه شیراز انجام شد و امتیازات بو، طعم، ظاهر، بافت و پذیرش کلی از ۰ تا ۵ در نظر گرفته شد (Salari & Mortazavi, 2008).

- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS version 20 انجام شد. فرضیه‌ها باt-test و ANOVA در طی روزهای ۱۵،۳۰،۴۵،۶۰ مورد آنالیز قرار گرفته است. حداقل سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ بود.

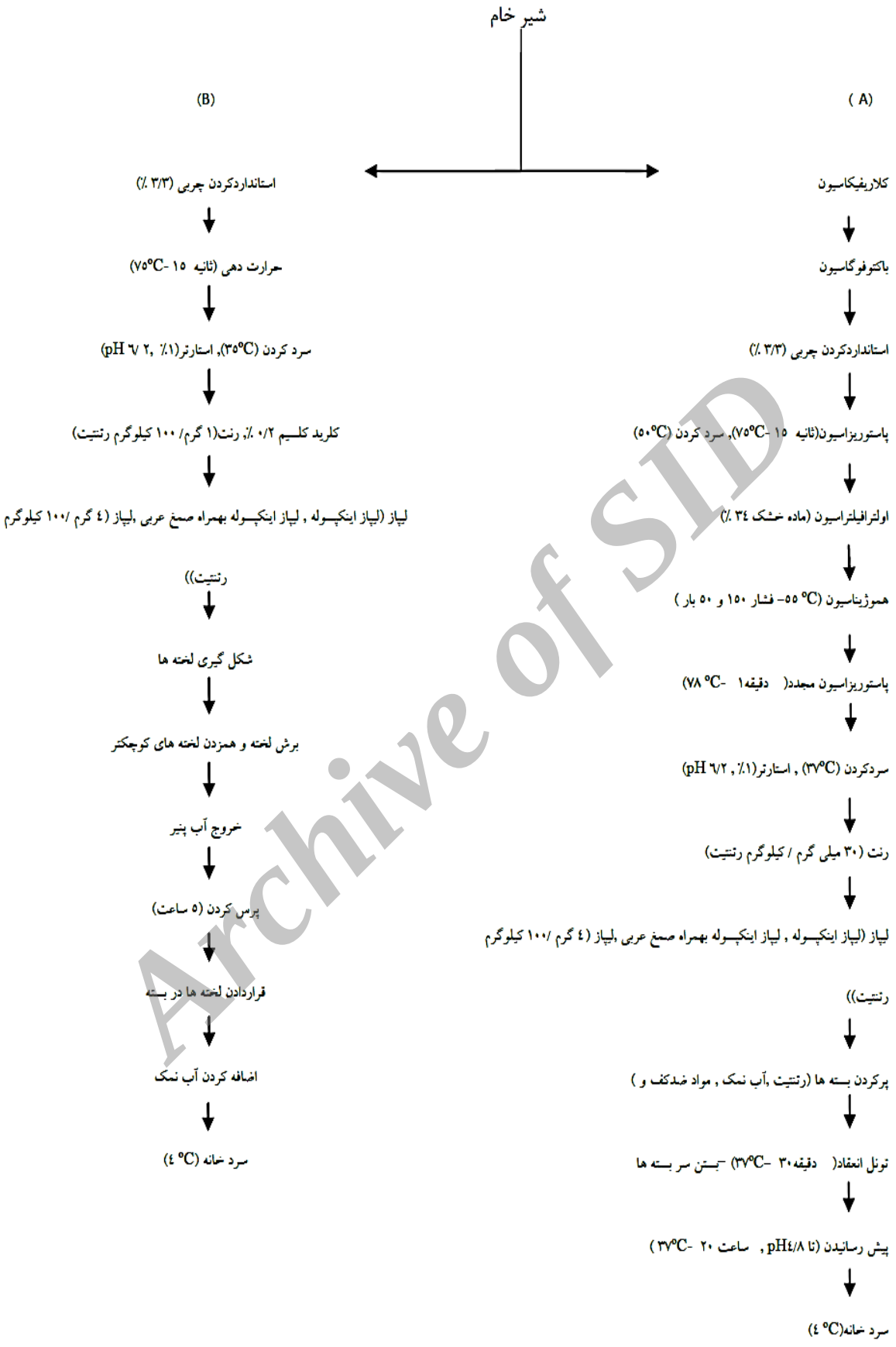
یافته‌ها

- ارزیابی پیشرفت لیپولیز

جدول ۱ تغییرات عدد اسیدی پنیر سنتی و فتای فراپالایش را در طی رسیدن نشان می‌دهد. در طی مدت

[1] Amano [2] Y 502 [3] DM230 [4] Denis Co. [5] Fromase®2200 TL [6] DSM
[7] Violet Red Bile Agar [8] Malt Agar [9] Baird-Parker Agar [10] Plate Count Agar

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- مراحل تهیه پنیر فراپالایش (A) و پنیر سنتی (B)

Archive of SID

www.SID.ir

رسیدن پنیر، چربی شیر محصول تحت تأثیر آنزیم‌های لیپاز قرار گرفته و با تولید اسیدهای چرب آزاد در توسعه عطر و طعم ایفای نقش می‌کند. در این تحقیق از اندیس عدداسیدی برای ارزیابی شدت لیپولیز استفاده شده است. اختلاف معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) در تغییرات عدد اسیدی در کلیه تیمارها وجودداشت. در تمامی تیمارهای پنیر فراپالایش و سنتی به غیر از تیمار دارای آنزیم آزاد پنیر سنتی از روز اول تا روز ۱۵ مقدار عدد اسیدی افزایش و از روز ۱۵ تا ۶۰ در طی رسیدن عدداسیدی کاهش داشته است.در تیمار دارای آنزیم آزاد پنیر سنتی از روز اول تا روز۳۰ مقدار عدد اسیدی افزایش و از روز ۳۰ تا ۶۰ در طی رسیدن عدد اسیدی کاهش داشته است. بیشترین مقدار عدد اسیدی به ترتیب در تیمارهای دارای آنزیم آزاد پنیر سنتی (۴۵/۴۴۲) در روز ۳۰، دارای آنزیم لیپاز اینکپسوله پنیر فراپالایش (۱۹/۳۵۴۴) در روز ۱۵ و دارای آنزیم لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی پنیر فراپالایش (۸/۹۹۷) در روز ۱۵,بر حسب میلی اکی والان هیدروکسید پتاسیم در ۱۰۰ گرم چربی است.

- خصوصیات فیزیکوشیمیایی

تغییرات خصوصیات فیزیکوشیمیایی به شرح جدول ۲ می‌باشد. تغییرات رطوبت و نمک در تیمارهای مشابه در روزهای مشابه، در پنیر فراپالایش و سنتی تا روز ۱۵ اختلاف معنی‌داری در سطح $P<۰/۰۵$ داشت. درحالی که در هر پنیر، در تمامی تیمارها در طول رسیدن تغییرات رطوبت معنی‌دار بود ولی تغییرات نمک درروزهای ۳۰ و ۴۵ معنی‌دار نبود. بنابراین در تیمارهای دارای آنزیم لیپاز، لیپاز اینکپسوله و لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی واکنش‌های آنزیمی (لیپولیز) تحت تأثیر تغییرات نمک در روزهای ۳۰ و ۴۵ قرار نگرفت. تغییرات pH در تیمارهای مشابه در روزهای مشابه، در پنیر فراپالایش، سنتی و هر تیمار در هر پنیر، در سطح $P<۰/۰۵$ معنی‌دار بود. به استثنای تیمار شاهد که در روزهای ۴۵ و۶۰ و تیمار لیپاز اینکپسوله ولیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی پنیر سنتی (پنیرسفید آب نمکی) در روز ۳۰، اختلاف معنی‌داری نداشت. pH در تیمارهای پنیر سنتی (پنیرسفید آب نمکی) بالاتر از پنیر فراپالایش و به تدریج با زمان رسیدن افزایش داشت ولی در روزهای ۴۵ و ۶۰ در مقایسه دو نوع پنیر ثابت بود.

- خصوصیات میکروبیولوژیکی

خصوصیات میکروبی در روز ۱۵به شرح جدول ۳ می‌باشد. در شمارش کلی فرم بین تیمار لیپاز اینکپسوله پنیر فراپالایش و تیمار شاهد پنیر سنتی با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در شمارش اسپور بین تیمار شاهد پنیر فراپالایش با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار است ولی بین تیمار شاهد پنیر سنتی تنها با تیمار لیپاز اینکپسوله سنتی اختلاف معنی‌داری وجود داشت.در شمارش کپک ومخمر اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد. در روزهای ۳۰، ۴۵ و ۶۰ بررسی خصوصیات میکروبی نتیجه منفی را نشان داد.

جدول ۱- تغییرات عدد اسیدی ** در نتیجه افزودن آنزیم لیپاز به پنیر فراپالایش وسنتی در طی رسیدن

		نوع تیمار						
	دوره رسیدن	شاهد (پنیرفراپالایش)	شاهد (پنیر سنتی)	آنزیم لیپاز (پنیرفراپالایش)	آنزیم لیپاز (پنیر سنتی)	لیپاز اینکپسوله (پنیر فراپالایش)	لیپاز اینکپسوله (پنیر سنتی)	لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی (پنیر فراپالایش)	لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی (پنیر سنتی)
عدد اسیدی	۱	۱/۳۴۶۳ aa	۱/۴۵۸۶ aa	۱/۳۴۶۳ aa	۱/۴۵۸۶ aa	۱/۳۴۶۳ aa	۱/۴۵۸۶ aa	۱/۳۴۶۳ aa	۱/۴۵۸۶ aa
	۱۵	۲/۸۰۴ bb	۴/۴۴۹ b'b	۲۱/۵۹۹ cc	۲۲/۴۵ c'c	۱۹/۳۵۴۴ dd	۱۶/۸۴ d'd	۸/۹۷۷ e e	۴/۴۴۹ b'b
	۳۰	۰/۸۴۱۶ ff	۱/۳۴۶۵e'a	۱۰/۶۶۰ gg	۴۵/۴۲۲f'f	۱/۴۰۲۴ hh	۱۲/۳۵ g'g	۲/۰۱۹۷ i i	۳/۳۳۵ h'h
	۴۵	۰/۵۲۴ jj	۱/۱۲۴i'i	۴/۳۴۷ k 'k	۱۰/۵۹۸ j'j	۱/۲۷۱ ll	۱۳/۰۵ k'k	۱/۰۱۰ n m	۲/۰۵۵n'l
	۶۰	۳۰/۲۹۳ on	۰/۸۴۱۶ o'm	۱/۱۲۳ i'o	۵/۶۱۱ pn	۱/۱۷۸۲ p'p	۱۴/۰۲۴ l'o	۰/۵۶۰ m q	۰/۵۶۰ m p

** عدد اسیدی بر حسب میلی اکی والان هیدروکسید پتاسیم در ۱۰۰ گرم چربی گزارش گردید.

درهر ردیف اولین حرف، نشان دهنده بودن اختلاف معنی‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ در تیمارهای مشابه در پنیر فراپالایش و سنتی است و در هر ستون دومین حرف، نشان دهنده بودن اختلاف معنی دار در سطح $P<۰/۰۵$ در هر تیمار و با سایر تیمارهای در روزهای متفاوت رسیدن در پنیر فراپالایش یا سنتی است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- تغییرات pH ، رطوبت و نمک در پنیر سنتی و فراپالایش در طی رسیدن

		نوع تیمار						
	دوره رسیدن	شاهد (پنیرفراپالایش)	شاهد (پنیر سنتی)	آنزیم لیپاز (پنیرفراپالایش)	آنزیم لیپاز (پنیر سنتی)	لیپاز اینکپسوله (پنیر فراپالایش)	لیپاز اینکپسوله (پنیر سنتی)	لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی (پنیر فراپالایش)	لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی (پنیر سنتی)
pH	۱۵	۴/۰۰$^{a\,a}$	۵/۸۷$^{a'a}$	۴/۱۵^{bb}	۵/۷۰$^{b'b}$	۴/۳۵^{cc}	۵/۸۲$^{c'c}$	۴/۰۰^{dd}	۵/۹۵$^{d'd}$
	۳۰	۴/۲۰^{ee}	۵/۸۰$^{e'e}$	۴/۶۹^{ff}	۵/۶۷$^{f'f}$	۴/۴۵^{gc}	۵/۷۵$^{g'g}$	۴/۴۱^{hg}	۵/۷۴$^{h'g}$
	۴۵	۴/۲۳^{ih}	۵/۸۳$^{i'h}$	۴/۷۱^{jf}	۵/۷۰$^{j'b}$	۴/۴۱^{kc}	۵/۷۸$^{ki'}$	۴/۴۴^{li}	۵/۷۷$^{l'j}$
	۶۰	۴/۲۳^{mh}	۵/۸۳$^{m'h}$	۴/۷۱^{nf}	۵/۷۰$^{n'b}$	۴/۴۱^{oc}	۵/۷۸$^{o'i}$	۴/۴۴^{pi}	۵/۷۷$^{pj'}$
رطوبت(%, w/w)	۱۵	۶۴/۵۹^{aa}	۶۵/۲۳$^{a'a}$	۶۳/۲۹^{bb}	۵۹/۴۵$^{b'b}$	۶۵/۱۸^{cc}	۶۲/۹۹$^{c'c}$	۶۳/۱۷^{dd}	۶۰/۲۵$^{d'd}$
	۳۰	۶۰/۲۶^{ee}	۶۲/۰۵^{ee}	۶۳/۰۵^{ff}	۶۱/۹۸^{ff}	۶۳/۲۸^{gg}	۶۲/۸۲^{gg}	۶۳/۲۷^{hg}	۵۹/۲۹^{hh}
	۴۵	۶۰/۳۴^{ih}	۶۲/۱۳^{ii}	۶۳/۱۳^{ji}	۶۲/۰۴^{jj}	۶۳/۳۶^{kj}	۶۲/۹۰^{kk}	۶۳/۳۵^{lj}	۵۹/۳۷^{ll}
	۶۰	۶۰/۱۳^{mk}	۶۱/۹۴^{mm}	۶۲/۹۴^{nl}	۶۱/۸۵^{nn}	۶۳/۱۷^{od}	۶۲/۷۱^{oo}	۶۳/۱۸^{pd}	۵۹/۱۸^{pp}
نمک(%, w/w)	۱۵	۴/۴۴^{aa}	۷/۳۱$^{aa'}$	۵/۲۶^{bb}	۶/۹۷$^{b'b}$	۴/۶۸^{cc}	۴/۵۰$^{c'c}$	۴/۹۱^{dd}	۴/۶۸$^{d'd}$
	۳۰	۵/۸۵^{ee}	۶/۴۳^{ee}	۵/۳۶^{ff}	۳/۸۶^{ff}	۴/۶۲^{gg}	۴/۶۸^{gg}	۴/۴۴^{hh}	۵/۲۶^{hh}
	۴۵	۵/۸۶^{ie}	۶/۴۴^{ie}	۵/۳۷^{jf}	۳/۸۷^{jf}	۴/۶۳^{kg}	۴/۶۹^{kg}	۴/۴۵^{lh}	۵/۲۷^{lh}
	۶۰	۵/۸۹^{mi}	۶/۴۷^{mm}	۵/۴۰^{nj}	۳/۹۰^{nn}	۴/۶۶^{oc}	۴/۲۷^{oo}	۴/۴۸^{pk}	۵/۳۰^{pp}

درهر ردیف اولین حرف، نشان دهنده بودن اختلاف معنی دار در سطح P<۰/۰۵ در تیمارهای مشابه در پنیر فراپالایش و سنتی است و در هر ستون دومین حرف، نشان دهنده بودن اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ در هر تیمار و با سایر تیمارهای در روزهای متفاوت رسیدن در پنیر فراپالایش یا سنتی است.

جدول ۳- خصوصیات میکروبی در پنیر فراپالایش و سنتی در روز ۱۵

نوع پنیر	نوع تیما ر	استافیلو کوکوس اورئوس	کلی فرم (cfu/g)	اسپور(cfu/g)	کپک و مخمر(cfu/g)
فراپالایش	شاهد	---	۱۰^{c}	۷۰^{g}	۹۹^{a}
	لیپاز	---	---	۱۹^{b}	---
	لیپاز اینکپسوله	---	۵۰^{e}	۲۰^{b}	---
	لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی	---	۹^{c}	۳۰^{d}	۹۹^{a}
سنتی	شاهد	---	۳۸۰^{f}	۲۰^{b}	۹۹^{a}
	لیپاز	---	۹^{c}	۲۰^{b}	۹۹^{a}
	لیپاز اینکپسوله	---	۹^{c}	۱۰^{c}	۹۹^{a}
	لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی	---	۹^{c}	۲۰^{b}	۹۹^{a}

حروف متفاوت نشان دهنده تغییرات معنی‌داری در سطح P<۰/۰۵ می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤- خواص حسی درنتیجه افزودن آنزیم لیپاز به پنیر فراپالایش وسنتی در طی رسیدن(٦٠ روز).

نوع پنیر	نوع تیمار	طعم	بو	بافت	ظاهر	پذیرش کلی
پنیر فراپالایش	شاهد	۲/۰۷±۱/۲a	۲/۰۸±۱/۴b	۳/۹۵±۰/۷۵c	۳/۳۵ ±۱/۸d	۳/۰۰±۰/۴f
	آنزیم لیپاز آزاد	۲/۷۳±۱/۱۰a	۲/۵۷±۱/۳۰b	۳/۶۹±۰/۹۱c	۳/۷۵±۰/۸۹d	۳/۳۶±۰/۷۲k
	لیپاز اینکپسوله	۳/۴۰±۰/۷۶l	۲/۴۲±۱/۱۰b	۴/۰۲±۰/۷۵g	۴/۱۰±۱/۰۰e	۳/۳۸±۰/۷۳ k
	لیپاز اینکپسوله بهمراه صمغ عربی	۲/۴۵±۱/۰۰a	۲/۳۶±۰/۹۰b	۳/۵۷±۱/۱۰c	۳/۳۰±۱/۱۰d	۲/۹۹±۰/۶۷f
پنیر سنتی	شاهد	۲/۲۸±۱/۲۰a	۱/۷۹±۱/۱۰b	۳/۰۲±۱/۲۰c	۲/۴۵±۱/۲۰d	۲/۲۴±۰/۸۲f
	آنزیم لیپاز آزاد	۱/۷۵±۱/۰۰a	۲/۰۰±۰/۷۶b	۲/۶۹±۱/۴۰c	۲/۷۰±۱/۱۰d	۲/۳۶±۰/۹۸f
	لیپاز اینکپسوله	۲/۶۵±۱/۲۰a	۲/۹۳±۱/۳۰j	۲/۶۹±۱/۵۰c	۲/۷۰±۱/۲۰d	۲/۸۳±۱/۰۰f
	لیپاز اینکپسوله بهمراه صمغ عربی	۲/۴۹±۱/۳۰a	۲/۶۴±۰/۸۵b	۲/۹۶±۱/۶۰c	۲/۲۵±۱/۴۰d	۲/۵۵±۰/۹۴f

حروف متفاوت نشان دهنده تغییرات معنی‌داری در سطح P<۰/۰۵ می باشد.

- خواص حسی

بالاترین امتیاز بو (بو براساس حس بویایی) برای تیمار لیپاز اینکپسوله پنیر سنتی، ظاهر (ظاهر برپایه خصوصیات کلی ماکروسکوپی)، طعم (طعم بر اساس جویدن و صبر کردن در حد چند ثانیه و بیرون دادن نفس)، بافت و پذیرش کلی برای تیمار لیپاز اینکپسوله پنیر فراپالایش، بدست آمده است که با سایر تیمارها در سطح P <۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری نشان دادند (جدول ۴).

بحث

عددهای اسیدی بدست آمده در این پژوهش بیشتر ازمقادیرگزارش شده برای پنیر تلم[1] ساخته شده از شیر گاو (Mallatoua *et al*., 2003) و پنیر یورفا[2] ساخته شده از شیر گاو (Ferit Atasoy *et al*., 2009) در طی رسیدن بوده است. مقدار عدد اسیدی و اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای دارای پروبیوتیک اینکپسوله در طول دوره رسیدن بیشتر از تیمارهای کنترل بوده است (Zomorodi *et al*., 2010). نتیجه مشابهی در مقایسه بین تیمارهای لیپازهای اینکپسوله و شاهد در این پژوهش بدست آمده است. آنزیم لیپاز فعالیت لیپولیتیکی تشدید شونده‌ای ایجاد می‌کند ولی فعالیت لیپازهای اینکپسوله با افزودنی‌هایی که به ژل اضافه می‌شود تغییر می‌کند و باعث متفاوت شدن تجمع آنزیم و توزیع آن در ژل می‌شود.

لیپازهای اینکپسوله بدون افزودنی دارای ضخامت کمتری نسبت به لیپازهای اینکپسوله به همراه صمغ عربی هستند و فعالیت لیپولیتیکی تدریجی و مناسبی در پنیر ایجاد می‌کنند ولی لیپازهای اینکپسوله با تترا متوکسی سیلان و متیل تری متوکسی سیلان به همراه صمغ عربی تولید ژل‌هایی با منافذ ریز می‌کنند که انتقال سوبسترا را محدود می‌کند و فعالیت لیپولیتیکی کمتری ایجاد می‌کند (Soares Cleide *et al*., 2006).

در پنیر فتای فراپالایش با انجام هموژناسیون و کوچک شدن اندازه گلبول‌های چربی میزان عدداسیدی بالاتر از پنیر سنتی است. لیپولیز در پنیر تحت تأثیر لیپازهای طبیعی و میکروبی صورت می‌گیرد. در پنیرهای تهیه شده از شیرهای پاستوریزه از آنجا که لیپاز طبیعی شیر حساس به حرارت می‌باشد، غیر فعال می‌شود، عامل اساسی لیپولیز در این پنیرها، لیپازهای اینکپسوله و آنزیم‌های استارترها خواهد بود. افزایش مقدار اسیدهای چرب آزاد و غلظت نمک لخته احتمالاً اثر بازدارنده روی فعالیت لیپاز و درنتیجه اثر محدود کننده بر لیپولیز دارند. تغییرات نامنظم عدد اسیدی و پایین آمدن آن به دلیل تبدیل شدن اسیدهای چرب به ترکیباتی مانند متیل کتون‌ها و یا برای تامین انرژی مورد نیاز کپک‌ها است (Madkor *et al*., 1986). عدد اسیدی و لیپولیز پایین به علت نگهداری در دمای

[1] Teleme [2] Urfa

Archive of SID

www.SID.ir

پایین است. نتیجه مشابهی برای پنیر سفید پیکلد[1] گزارش شده است (Abd El-Salam *et al*., 1993). موقعیت فیزیکی چربی شیر در مدت رسیدن، جذب کازئینات و پروتئین‌های آب پنیر در سطح گلبول‌های چربی در طی تولید پنیر باعث محدود شدن فعالیت لیپولیتیکی آنزیم لیپاز در برابر سوبسترای چربی می‌شود (Michalski *et al*., 2001).

pH در تیمارهای لیپاز اینکپسوله و لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی در پنیرسنتی (سفید آب نمکی) بالاتر از تیمار آنزیم لیپاز آزاد بود.در پنیر سنتی با افزایش لیپولیز به صورت تشدید شونده در تیمار دارای آنزیم آزاد توسط آنزیم لیپاز و استارترهای اضافه شده منجر به تولید H^+ بیشتر و pH پایین‌تر شده است.ولی در پنیر فراپالایش بدلیل حضور پروتئین‌های آب پنیر، تیمار دارای آنزیم لیپاز آزاد نسبت به تیمارهای دارای لیپاز اینکپسوله و لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی در پایین آوردن pH فعالیت کمتری نشان داد، در حالی که دو تیمار دیگر به دلیل ترکیبات سیلانی موجود در ساخت لیپازهای اینکپسوله با مهار پروتئین‌های آب پنیر و فعالیت لیپولیتیکی تدریجی pH را به مقدار بیشتری کاهش دادند. وقتی از آنزیم استفاده شود مقدار تغییرات pH ۰/۰۴ تا ۰/۰۵ واحد نسبت به حالتی که آنزیم وجود ندارد، بالاتر است (Omar *et al*., 1986).

کاهش رطوبت لخته در طی دوره رسیدن به طور عمده می‌تواند ناشی از دو عامل باشد: خروج رطوبت از دلمه در نتیجه پدیده انتشار وانتقال نمک به داخل دلمه که در ۱۰ تا ۱۵ روز اول در طی رسیدن انجام می‌شود (Mistry, 2001). Pastorino و همکاران (۲۰۰۳) بیان کرده‌اند که میزان نمک، بر رشد میکروارگانیسم‌ها (تولید اسید لاکتیک و pH) و تولید فراورده‌های لیپولیز و پروتئولیز یعنی آزاد شدن اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب آزاد پپتیدها، گروه های آمینی و کربوکسیل تأثیر دارد.

فرایند رسیدن بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر ممانعت کننده دارد زیرا رقابت میکروبی باکتری‌های مولد تولید آب اکسیژنه بدلیل تولید اسیدلاکتیک، کاهش سیستم لاکتوپراکسیداز، رقابت در به دست آوردن مواد غذایی و تولید ترکیباتی مثل نایسین (*et al*., 2000 Cetinkaya) و تولید اسید های چرب طی رسیدن عنوان کرد. نتایج مشابه در تیمارهای پنیر فراپالایش وسنتی در پژوهش‌هایی که بر پنیر گریک[2] (Psoni *et al*., 2003)، پنیرپورت سالیوت آرژانتینی[3] (Iurlina *et al*., 2004) انجام شد، بدست آمده است.

در تیمارهای پنیر فراپالایش وسنتی که به آنها آنزیم لیپاز اضافه شده به خصوص در تیمار لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی در هر دو نوع پنیر کمترین میزان کلی فرم وجود داشته است که به علت افزودن هیدروکلوئید صمغ عربی، باعث کاهش باکتری‌های مولد گاز مانند کلی فرم‌ها شده است.

نتایج مشابه تیمارهای پنیر فراپالایش و سنتی در پژوهش‌های پنیر کیوفلو[4] (Hayaloglu *et al*., 2007)، پنیر آب نمکی[5] ترکی (Anonymous, 2001) بدست آمده است. وجود مقدار زیادی کلی فرم در شیر پنیر سازی منجر به تورم زودرس و ایجاد منافذ در بافت پنیر می‌شود (Chapman *et al*., 1990). کلی فرم‌ها در اثر پاستوریزاسیون از بین می‌روند. بالا بودن pH در رنت مورد استفاده باعث باقی ماندن میزان زیادی از کلی فرم‌ها و باکتری‌های غیر اسید لاکتیکی می‌شود. بر اثر رشد میکروب‌ها بافت و بوی پنیر تغییر می‌کند (*et al*., 2007 Hayaloglu). در مقایسه با تیمار شاهد میزان اسپور در سایر تیمارهای پنیر فراپالایش و سنتی که حاوی آنزیم لیپاز هستند، کمتر بوده است. کمترین میزان اسپور در پنیر سنتی در تیمار لیپاز اینکپسوله مشاهده شده است. ترکیباتی مانند الکل، پراکسید، اسیدهای آلی که با پیشرفت واکنش‌های لیپولیز و پروتئولیز تولید می‌شود باعث بازداری از رشد میکروب‌ها می‌شوند (Jay, 1992). شیر خام حاوی اسپورهای باسیلوس‌ها مانند باسیلوس سرئوس است، پاستوریزاسیون باعث کشته شدن میکروب‌ها می شود و گرم کردن شیر باعث تبدیل شدن اسپورها به فرم رویشی می‌شود (Pirttijarvi *et al*., 1998). آلودگی‌های میکروبی شیرخام بویژه آلودگی شیر پنیرسازی به باکتری‌های مولد اسپور بی‌هوازی، خصوصاً کلستریدیوم‌ها که حتی در تعداد کم در اثر تخمیر بوتیریکی، قادر به تولید گاز و ایجاد بوهای نامطلوب هستند امکان ایجاد تورم دیر

[1] White Pickled [2] Greek [3] Port Salut Argentino [4] Kuflu White Pickled [5] Brine Turkish

Archive of SID

www.SID.ir

رس را در پنیر میسر می‌نمایند. برخی از کپک‌ها تولید متابولیت ثانویه مانند مایکوتوکسین (سموم) را دارند که خطری برای سلامت عمومی هستند.

در اثر پاستوریزاسیون کپک و مخمر موجود در شیر خام از بین می‌روند و حضور آنها به علت آلودگی ثانویه است (Jodral *et al*., 1993). با تولید فراورده‌های لیپولیز و کاهش رطوبت، شرایط مطلوب برای رشد کپک و مخمرها از بین رفت، زیرا کپک و مخمر برای فعالیت نیاز به فعالیت آبی بالای ۰/۸ (Jay, 1992) دارند. نتایج مشابهی در پژوهش‌های بر پنیر پورت سالیوت (Iurlina *et al.,* 2004)، پنیر کیوفلو (Hayaloglu *et al*., 2007)، پنیر چدار[1] دارای آمینوپپتید نوترکیب اینکپسوله (Azarnia *et al*., 2011) بدست آمده است. در روز ۳۰ تنها نمونه شاهد پنیر سنتی حاوی ۳۰ تا مخمر بوده است و سایر موارد منفی شده است.نتایج مشابهی توسط Govaris و همکاران (۲۰۰۲) و Atamer و همکاران (۱۹۹۷) گزارش شده است. رشد کپک‌ها زیان‌های اقتصادی و کاهش کیفیت پنیر را بدنبال دارند (Kure *et al*., 2001). با پاره شدن سلول مخمرها ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه آزاد می‌شود که پیش‌ساز ترکیبات طعمی در پنیر می‌شود و اسیدهای چرب آزاد شده از آنها مانع رشد برخی میکروب‌های نامطلوب می‌شود (Jacobsen *et al*., 1996). احتمال می‌رود آب نمک پنیرسازی (pH=۴/۵) دارای مخمر باشد (Beresford *et al*., 2001). در طی رسیدن بار میکروبی کاهش می‌یابد. نمک به دلیل کاهش فعالیت آب واثربازدارندگی نسبت به حضورو فعالیت باکتری‌ها ماده محافظت کننده وبرای سالم سازی پنیر استفاده می‌گردد. در طی رسیدن پنیر جمعیت میکروب‌ها به شدت کاهش می‌یابد. حساسیت به نمک و تأثیر بسیار مخرب کاهش pH ناشی از فعالیت باکتری‌های لاکتیکی موجود در محیط باعث پاکسازی میکروب‌ها می‌شود. عوامل بازدارنده‌ای که توسط میکروب‌ها تولید می‌شوند مانع فعالیت سایر میکروب‌ها می‌شود (نوعی فعالیت رقابتی) مثل نیسین، لاکتوسین که توسط باکتری‌های لاکتیکی ترشح می‌شود یا آنتی‌بیوتیک‌هایی که توسط کپک‌ها تولید می‌شود (Jay, 1992). درجه حرارت، تولید اسید لاکتیک و تولید H^+، افزایش ماده خشک، از دست دادن آب و افزایش محتوی کلرید در پنیر باعث کاهش جمعیت میکروبی است (Caridia *et al*., 2003).

لیپولیز بالاتر در تیمارهای دارای لیپاز و لیپاز اینکپسوله باعث افزایش گروه‌های اسیدی نسبت به تیمار لیپاز اینکپسوله به همراه صمغ عربی شد. یکی از عوامل مهم در تغییرات ماده خشک پنیر جذب آب پروتئین‌ها می‌باشد. هرچه گروه‌های قطبی در شبکه پروتئینی بالا باشد میزان جذب آب بالا خواهد بود. در نتیجه میزان ماده خشک پایین می‌آید (Fox *et al*., 2000). صمغ از طریق تاخیر در فرایند آبگیری، مانع از خروج گلبول های کوچک چربی از طریق آب پنیر می‌شود با افزایش غلظت آن و برهم کنش با شبکه پروتئینی، بافت پنیر، متراکم‌تر و میزان جذب ماده خشک پنیر بیشتر می‌شود (Kavas *et al*., 2004). بنابراین جمعیت میکروبی در اثر اضافه کردن آنزیم لیپاز و فرایند لیپولیز، کاهش می‌یابد.

در تیمار لیپاز اینکپسوله پنیر سنتی بدلیل لیپولیز تدریجی نسبت به سایر تیمارها و داشتن امتیاز لیپولیزی بالاتری نسبت به پنیر فراپالایش امتیاز بوی بالاتری بدلیل تولید اسیدهای چرب بیشتر حاصل شد. در تیمار لیپاز اینکپسوله پنیر فراپالایش در اثر عمل کردن تدریجی، طعم، بافت و ظاهر با توجه به بافت خاص پنیر فراپالایش بدلیل pH پایین‌تر نسبت به پنیرسنتی امتیاز بالاتری بدست آورد. فرآیند هموژنیزاسیون (در پنیر فتای فراپالایش) و کاهش سایز گلبول‌های چربی باعث شد، خصوصیات حسی بهبود یابد. پذیرش کلی تیمارهای دارای آنزیم لیپاز آزاد و دارای لیپاز اینکپسوله پنیر فراپالایش بالاترین امتیاز را بدست آورد. تجزیه و تبدیل ترکیبات شیمیایی به طور مستقیم بر خواص حسی مؤ ثر است. تولید ترکیبات طعمی بستگی به پارامترهای فیزیکوشیمیایی مانند رطوبت، نمک، pH، شرایط رسیدن، واکنش‌های تبدیل و تغییر پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و واکنش‌های شیمیایی مانند میلارد (واکنش استرکر) که میان اسیدهای آمینه و کربونیل‌ها است، بستگی دارد (Fox *et al*., 2000). پنیرهای آب نمکی در اوایل دوره رسیدگی در نتیجه پدیده انتشار آب رطوبت از دلمه خارج شده و نمک وارد دلمه می‌شود که در

[1] Cheddar

Archive of SID
www.SID.ir

نتیجه باعث افزایش سختی بافت پنیر می‌گردد، ولی در اواخر دوره رسیدن بدلیل پروتئولیز و شکستن پروتئین‌ها بافت پنیر نرم‌تر می‌گردد. مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهند که رطوبت و چربی حاضر در ماتریکس پروتئینی باعث نرمی پنیر می‌شوند (Kaya, 2002). با تجزیه اسیدهای چرب آزاد کوتاه زنجیر طی زمان رسانیدن، ترکیبات طعم‌دار آزاد شده و این طعم از نظر مصرف کنندگان بهتر بوده است. به نظر می‌رسد که با افزایش زمان رسانیدن و با پیشرفت لیپولیز، عطر و طعم پنیر در بهتر شده باشد.

نتیجه‌گیری

پیشرفت لیپولیز با استفاده از عدد اسیدی، نشان داد که اختلاف معنی‌داری $P<0/05$ میان پنیر سنتی، پنیر فراپالایش و تیمارهای آنها در طی رسیدن وجود داشته است. تفاوت در روند پنیرسازی باعث متفاوت شدن الگوی لیپولیز و تغییرات ترکیبات شیمیایی شده است. لیپولیز تشدید شونده‌ای در تیمارهای دارای آنزیم لیپاز وجود داشته است در حالی که در تیمارهای دارای لیپازهای اینکپسوله بدلیل وجود ترکیبات پیش ساز کپسول و صمغ عربی لیپولیز به صورت تدریجی بوده است. در روز ۱۵ بیشترین مقدار لیپولیز صورت گرفته است، به همین دلیل بعد از روز ۱۵ همزمان با تولید وتبدیل اسیدهای چرب بدلیل اضافه کردن آنزیم لیپاز از میزان بار میکروبی در هر دو نوع پنیر کاسته شده است. ارزیابی حسی نشان داد که ارزیاب‌ها، تیمارهایی که به آنها آنزیم لیپاز اضافه شده را نسبت به تیمار شاهد ترجیح داده‌اند، به خصوص تیمار لیپاز اینکپسوله پنیر فراپالایش و تیمار دارای آنزیم لیپاز آزاد که امتیاز بالاتری نسبت به سایر تیمارها بدست آوردند.

منابع

Abd El-Salam, M. H., Alichanidis, E. & Zerfiridis, G. K. (1993). Domiati and feta type cheese, in Cheese: Chemistry, physics and microbiology, edithed by Fox, P.F. Elsevier Applied Science, London, UK, pp. 301–335.

Alais C. (1984). Science du Lait. Sep, Paris.

Anonymous. (2001). Turk Gida Kodeksi. Mikrobiyolojik kriterler tebligi, No. 2001/19. Resmi Gazete, 02.09.2001, Sayi: 24511.

Atamer, M., Yamaner, N., Odabasi, S., Tamucay, B. & Cimer, A. (1997). Laktoperoksidaz / tiyosiyanat / hidrojen peroksit (LP) sisteminin aktivasyonuyla korunmus sutlerile bunlardan uretilen teleme ve kashar peynirlerinin mikrobiyolojik ozellikleri. Gida Derg, 22, 317-325.

Azarnia, S., Lee, B., St-Gelais, D., Kilcawley, K. & Noroozi, E. (2011). Effect of free and encapsulated recombinant aminopeptidase on proteolytic indices and sensory characteristics of Cheddar cheese. LWT - Food Science and Technology, 44, 570-575.

Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L. & Cogan, T. M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. International Dairy Journal, 11, 259–274.

Bylund, G. (1995). Dairy processing handbook. Tetra Pak processing systems AB. S-221 86 Lund, Sweden.

Caridia, A., Micarib, P., Caparrab, P., Cufaria, A. & Sarullo, V. (2003). Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. International Dairy Journal, 13 ,191–200.

Castillo, I., Calvo, M. V., Alonso, L., Jua´rez, M. & Fontecha, J. (2007). Changes in lipolysis and volatile fraction of a goat cheese manufact ured employing a hygienized rennet paste and a defined strain starter. Journal of Food Chemistry, 100, 590–598.

Cetinkaya, F. & Soyutemiz, G. E. (2006). Microbiological and Chemical Changes throughout the Manufacture and Ripening of Kashar: a Traditional Turkish Cheese. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 30(4), 397-404.

Chapman, H. R. & Sharpe, M. E. (1992). Microbiology of cheese, in Dairy microbiology, edited by Robinson , R. K. The microbiology of milk products. Elsevier Applied Science, London, pp. 203–289.

Cheftel, J. C. (1992). Effects of high hydrostatic pressure on food constituents an overview, in Pressure and Biotechnology, edited by Balny, C. Hayashi, R. Heremans, K. &Masson, P. Colloque INSERM, London, pp.195–209.

El-Soda, M., Korayem, M. & Ezzat, N. (1986). The esterolytic and lipolytic activities of lactobacilli. III. Detection and characterization of the lipase system. Milchwissenschaft, 41,353–355.

Archive of SID

www.SID.ir

Evert-Arriagada, K., Herndez-Herrero, M. M., Juan, B., Guamis, B. & Trujillo, A. J. (2012). Effect of high pressure on fresh cheese shelf-life. Journal of Food Engineering, 110, 248–253.

Ferit Atasoy, A. & Turkog˘lu, H. (2009). Lipolysis in Urfa cheese produced from raw and pasteurized goats' and cows'milk with mesophilic or thermophilic cultures during ripening .Food Chemistry, 115, 71–78.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2000). Fundamentals of cheese science. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc.

Govaris, A., Papageorgiou, D. K. & Papatheodorou, K. (2002). Behavior of Escherichia coli O157:H7 during the manufacture and after. Journal of Food Protection, 4, 609–615.

Gripon, J. C. (1987). Mould-ripened cheeses, in Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Major Cheese Groups, edited by Fox, P.F. Elsevier Applied Science, London, pp. 121–149.

Guisan, J. M. (2006). Immobilization of Enzymes and Cells. Humana Press Inc.

Hayaloglu, A. A. & Kirbag, S. (2007). Microbial quality and presence of moulds in Kuflu cheese. International Journal of Food Microbiology, 115 ,376–380.

Hossini, Z. (1998). Current Methods in Food Stuff Analyze. Shiraz University Press, pp. 52-53.

Hesari, J., Ehsani, M. R., Khosroshahi, A. & McSweeney, P. L. H. (2006). Contribution of rennet and starter to proteolysis in Iranian UF white cheese. LeLait, 86,291–302.

IDF. (1982). Determination of the total solids content. Cheese and processed cheese. IDF Standard 4a. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

Iurlina, M. O. & Fritz, F. (2004). Microbiological quality of Port Salut Argentino cheese stored at two temperature treatments. Lebensm.-Wiss. U.-Technol, 37, 739–748.

Jacobsen, N. & Narvhus, J. (1996).Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. International Dairy Journal, 6, 755–768.

Jay, J. M. (1992). Madern Food Microbiology. Van Nostrand, New York.

Jodral, M., Lin˜an, E., Acosta, I., Gallego, C., Rojas, F. & Bentabol, A. (1993). Mycoflora and toxigenic Aspregillus flavus in Spanish milk . International journal of food microbiology, 18(2), 171-174.

Karim, G. (1999). Microbiological examination of foods. 2nd ed. Tehran University. Press, pp. 401-422.

Kavas, G., Oysun, G., Kinik, O. & Vysal, H. (2004). Effects of some fat replacer on chemical, physical and sensory attributes of low-fat white pickled cheese. Food Chemistry, 88,381-388.

Kaya, S. (2002). Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining. Journal of Food Engineering, 52, 155-159.

Kure, C. F. Wasteson, Y., Brendehaug, J. & Skaar, I. (2001). Mould contaminants on Jarlsberg and Norvegia cheese blocks from four factories. International Journal of Food Microbiology, 70, 21–27.

Madkor, S., Fox, P. F., Shalabi, S. I. & Metwalli, N. H. (1986). Studies on the ripening of Stilton cheese. Food Chemistry, 25, 93-109.

Mallatoua, H., Pappaa, E. & Massouras, T. (2003). Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes', goats', cows' or a mixture of ewes' and goats' milk. International Dairy Journal, 13, 211–219.

Marshall, R. J. (1990). Composition, structure, rheological properties and sensory texture of processed cheese analogues. Journal of Science and Food Agriculture, 50, 237–252.

Michalski, M. C., Michel, F., Sainmont, D. & Briard, V. (2001). Apparent ζ-potential as a tool to assess mechanical damages to the milk fat globule membrane. Colloids Surf. B Biointerf, 23, 23–30.

Mistry, V. (2001). Low-fat cheese technology. International Dairy Journal, 11, 413-422.

McSweeny, P.L.H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. International Journal of Dairy Technology, 57 (2/3), 127-140.

Omar, M. M., E1-Zayatt, A. I. & Ashour, M. (1986). Flavor Enhancement, by Lipase Addition, of Ras Cheese Made from Reconstituted Milk.J. Food Chemistry, 19, 277-286.

Pastorino, A. J., Hansen, C. L. & McMaahon, D. J. (2003). Effect of salt on structure-function relationships of cheese. Journal of Dairy Science, 86, 60-69.

Pirttijarvi, T. S. M., Ahonen, L. M., Maunuksela, L. M. & Salkinoja-Salonen, M. S. (1998). Bacillus cereus in a whey process.

Archive of SID

www.SID.ir

International Journal of Food Microbiology, 44, 31–41.

Psoni, L., Tzanetakis, N. & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2003). Microbiological characteristics of Batzos, a traditional Greekcheese from raw goat's milk. Food Microbiology, 20 ,575–582.

Salari, R. & Mortazavi, S. A. (2008). Determining the Optimum Ripening Time of Iranian White Cheese by Response Surface Method, JFST 5(2), 17-26.

Soares Cleide, M. F., dos Santtos On´elia, A., de Castro Heizir, F., de Moraes Flavio, F. & Zanin Gisella, M. (2006). Characterization of sol–gel encapsulated lipase using tetraethoxysilane as precursor. J Molecular Catalysis B: Enzymatic, 39, 69–76.

Steele, J. L. (1995). Contribution of lactic acid bacteria to cheese ripening, in Chemistry of structure-function relationships in cheese, edithed by Malin, E. L. & Tunick, M. H. Plenum Press, New York, USA, pp.209–220.

Vai Vaidya, B. K., Ingavle, G. C., Ponrathnam, S., Kulkarni, B. D. & Nene SN dya, B. K. (2008). Immobilization of Candida rugosa lipase on poly (allyl glycidyl ether-co-ethylene glycol dimethacrylate) macroporous polymer particles. Journal of Bioresource technology, 99, 3623–3629.

Zomorodi, S. H., Khosrowshahi Asl, A., Razavi Rohani, M., Tajik, H. & Miraghaei, S. (2010). The Effect of Free and Encapsulated Lactobacillus casei as Adjunct Culture on the Proteolytic and Lipolitic Patterns of the Iranian White Cheese Produced by Ultrafiltration Technique. Research of food Technology, 117-133.

Archive of SID

www.SID.ir