



دانشگاه کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی

از این رساله دکتری توسط الناز میلانی دانشجوی مقطع دکتری رشته میکروبیولوژی

مواد غذایی در تاریخ در حضور هیات داوران دفاع گردید. پس از

بررسی های لازم، هیات داوران این پایان نامه را با نمره عدد حروف

و با درجه مورد تایید قرار داد / نداد.

عنوان رساله : ارزیابی تنوع زیستی پنیر سنتی کردی، گزینش سویه پروبیوتیک و تعیین پروفایل اسیدهای

چرب و اسیدهای آمینه آزاد در طول دوره رسیدگی

سمت در هیات داوران نام و نام خانوادگی مرتبه علمی گروه موسسه / دانشگاه امضاء
داور خارجی
داور



دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
گروه علوم و صنایع غذایی

رساله دکتری

**ارزیابی نوع زیستی پنیر سنتی کردی، گزینش سویه پروبیوتیک
و تعیین پروفایل اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه آزاد در طول
دوره رسیدگی**

الناز میلانی

مهر ۱۳۹۱



دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
رساله دکتری

**ارزیابی تنوع زیستی پنیر سنتی کردی، گزینش سویه پروبیوتیک
و تعیین پروفایل اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه آزاد در طول
دوره رسیدگی**

الناز میلانی

استادان راهنما
سرکار خانم دکتر فخری شهیدی

جناب آقای دکتر سید علی مرتضوی

استادان مشاور

جناب آقای دکتر حمید بهادر قدوسی

جناب آقای دکتر سید علیرضا وکیلی

مهر ۱۳۹۱

تعهد نامه

عنوان رساله: ارزیابی تنوع زیستی پنیر سنتی کردی، گزینش سویه پروبیوتیک و تعیین پروفایل اسیدهای چرب و اسید های آمینه آزاد در طول دوره رسیدگی سنتی

اینجانب الناز میلانی دانشجوی دوره دکتری رشته میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه کشاورزی مشهد تحت راهنمایی سرکار خانم دکتر فخری شهیدی و جناب آقای دکتر سید علی مرتضوی متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد دیگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

الناز میلانی

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.
- استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

پنیر کردی، بصورت سنتی در نواحی شرق ایران از شیر خام گوسفند، بز و گاو تولید می شود. این پنیر دوره رسیدگی خود را داخل مشک می گذرانند، در نتیجه اغلب دارای مجموعه ای از وارپته های گوناگون میکروارگانسیم بوده که به دلیل تولید اسیدها و آنزیم های متعدد لیپولیتیک، پروتئولیتیک و گلیکولیتیک نقش مهمی در نگهداری، توسعه عطر و طعم و ویژگی نهایی فراورده در طول دوره رسیدگی به عهده دارند. در این پژوهش، پروفایل تنوع زیستی میکروارگانسیم ها، تغییرات فیزیکوشیمیایی، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب و ویژگی های حسی نمونه های پنیر کردی در طول دوره رسیدگی (صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز) ارزیابی شد. باکتری های آغازگر بومی هر کشور جزو ذخایر ژنتیکی آن محسوب می شوند، لذا شناسایی مولکولی فلور لاکتیکی پنیر کردی با استفاده از آغازگرهای عمومی و اختصاصی در واکنش زنجیره ای پلیمرز پی گیری شد؛ سپس به منظور گزینش جدایه ای با قابلیت پروبیوتیکی از بین جدایه های *Lactobacillus* آزمایش های تکمیلی شامل آبگریزی سطحی، مقاومت به تنش اسید، صفرا، محیط شبیه سازی شده دستگاه گوارش و آنتی بیوتیک، در سیستم مدل مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج پژوهش نشان داد، در اوایل دوره رسیدگی، باکتری های انتروباکتر و اسید لاکتیک، از نظر جمعیت، مهمترین گروه بودند. سرعت کاهش جمعیت *coliform* ها و *Escherichia coli* در طول دوره رسیدگی بر خلاف کپک و مخمر بسیار زیاد بود. نتایج مطالعات حاکی از عدم حضور *Salmonella*، *coliform* و استافیلوکوک های کوآگولاز مثبت در انتهای دوره رسیدگی ۶۰ روزه در همه نمونه ها بود که به نظر می رسد ناشی از کاهش pH، فعالیت آب و افزایش جمعیت میکروفلور مفید باکتری های اسید لاکتیک بوده است. در مرحله شناسایی مولکولی جدایه های گزینش شده باکتری های اسید لاکتیک، گونه های غالب در پنیر تازه به ترتیب فراوانی شامل *Lactococcus lactis* (۲۴ درصد)، *Lactobacillus plantarum* (۱۴ درصد) و *Lactobacillus pentosus* (۱۰ درصد) بود. در حالیکه در پنیر رسیده، *Enterococcus faecium* (۳۷ درصد)، *Lactobacillus plantarum* (۳۵ درصد)، *Enterococcus faecalis* (۱۴ درصد)، *Lactobacillus paracasei* (۳/۲ درصد) به عنوان فراوان ترین گونه ها شناسایی شدند. ارزیابی ویژگی های تکنولوژیکی و پروبیوتیکی جدایه *Lactobacillus casei* در مقایسه با جدایه تجاری نشان داد که مقاومت آن به شیرۀ گوارشی شبیه سازی شده انسان و ویژگی ها سطحی با پروبیوتیک های تجاری قابل مقایسه می باشد. جنبه های ایمنی مصرف این باکتری، از نظر مقاومت به آنتی بیوتیک نشانگر این است که این باکتری واجد مقاومت طبیعی نسبت به آنتی بیوتیک ها می باشد. از این رو نتایج پژوهش به معرفی جدایه *Lactobacillus casei* (095) به عنوان میکروارگانسمی با قابلیت پروبیوتیکی منجر شد. نتایج پژوهش تاثیر مدت زمان رسیدگی بر پروفایل اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه، بیانگر تأثیر معنی دار زمان رسیدگی بر این دو پارامتر بود. در انتهای دوره رسیدگی، میزان اسید اولئیک و پالمیتوئیک در مقایسه با سایر اسیدهای چرب آزاد بیشینه بود. میزان کمی اسیدهای آمینه آزاد بویژه پرولین، اسید آلفا آمینوبوتیریک، لوسین، متیونین، گلیسین، آرژنین، ترئونین، فنیل آلانین و ایزولوسین نیز در طول دوره رسیدگی، افزایش معنی دار نشان داد. براساس نتایج ارزیابی حسی، فیزیکوشیمیایی و میکروبی، و با تاکید بر ایمنی مصرف فراورده، زمان بهینه مصرف پنیر کردی تولید شده از شیر خام، پس از اتمام دوره رسیدگی ۶۰ روز توصیه می شود.

کلید واژه ها: اسیدهای چرب و آمینو اسید آزاد، پنیر کردی، پروبیوتیک و روش مولکولی