تاثیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بر الگوی پروتئولیز پنیر سفید ایرانی فراپالایش

شهین زمردی[1*]، اصغر خسروشاهی اصل[2] و نفیسه موسوی ملکی[3]

تاریخ دریافت: ۹۰/٤/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/٦/۳

[1] استادیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، ارومیه، ایران

[2] استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[3] کارشناس دانشگاه آزاد صوفیان، صوفیان، ایران

[*]مسئول مکاتبه: E-mail: shahinzomorodi@gmail.com

چکیده

در این تحقیق، تاثیر لاکتوباسیلوس پلانتاروم (ATCC 8014) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (ATCC 29521) به عنوان دو باکتری پروبیوتیک بر شدت پروتئولیز در طول رسیدن پنیر سفید ایرانی فراپالایش به مدت ٦۰ روز در دمای ۸-۱۰ درجه سانتی‌گراد بررسی گردید. سه تیمار از نمونه‌های پنیر در سه تکرار تهیه شد که شامل: C (کنترل) حاوی فقط استارتر تجارتی، تیمارLP و BB به ترتیب حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم همراه با استارتر تجارتی بودند. نتایج حاصل نشان داد که لاکتوباسیلوس پلانتاروم بیشتر از بیفیدوباکتریوم بر مقدار ازت محلول در pH=٤/٦ و ازت محلول در تری کلرواستیک اسید نمونه‌های پنیر موثر بود. نتایج الکتروفوروگرام نیز حاکی است که پروبیوتیک‌های افزوده شده در شکستن α_{s1} کازئین در پنیر سفید ایرانی به مقدار جزیی موثر بود. همچنین مقدار اسیدهای آمینه تیروزین و تریپتوفان در پنیرهای حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم بطور معنی‌داری ($P < 0.01$) بیشتر از نمونه‌های دیگر بود.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، پروتئولیز، پنیر سفید ایرانی، فراپالایش

Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium bifidum* on the proteolysis profile of the Iranian white cheese produced by ultrafiltration

Sh Zomorodi[1*], A Khosrowshahi Asl[2] and N Mousavi Maleki[3]

Received: July 14, 2011 Accepted: August 24, 2012

[1]Assistant Professor, Department of Engineering, Agricultural Research Center, West Azarbijan, Urmia, Iran
[2] Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
[3] Instructor, Islamic Azad University of Sofiyan, Sofiyan, Iran
[*]Corresponding author: E-mail:shahinzomorodi@gmail.com

Abstract

In this study, effect of probiotic strains of *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014) and *Bifidobacterium bifidum* (ATCC 29521) on proteolysis in Iranian white cheese produced by ultrafiltration technique was evaluated at 8-10 ^{o}C during 60 days ripening. Three batches of cheese were produced using different bacterial culture composition including: C (control containing only commercial starter), LP and BB containing *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium bifidum* respectively, beside commercial starter. The results showed that *Lactobacillus plantarum* was more effective than *Bifidobacterium bifidum* on primary proteolysis. Electrophorotic results also showed that adding probiotics were slightly effective in the α_{s1}-casein breaks down in Iranian white chesses produced by ultrafiltration technique. Free Tyrosine trypotophan in samples containing *Lactobacillus plantarum* was significantly ($P<0.01$) higher than others.

Keywords: Iranian White Cheese, Probiotic, Proteolysis, Ultrafiltration

مقدمه

افزایش تقاضا برای مصرف غذاهای سلامت بخش موجب نوآوری و توسعه محصولات جدید در صنعت غذایی در سراسر دنیا شده است. از این محصولات می‌توان به غذاهای حاوی باکتری های پروبیوتیک که تحت عنوان غذاهای عملگرا نامیده می‌شود، اشاره کرد. در حال حاضر اغلب فراورده‌های پروبیوتیک موجود در بازار را فراورده‌های لبنی پروبیوتیک یا دست کم با پایه شیر تشکیل می‌دهد. در این میان پنیر یکی از مهمترین مواد غذایی عملگرا محسوب می‌شود. برخی انواع پنیر به عنوان حامل سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج این تحقیقات ثابت کرد که اکثر پنیرها پتانسیل بسیار خوبی به عنوان حامل پروبیوتیک به مصرف کننده دارد (دیناکار و میستری ۱۹۹٤؛ برگامینی و همکاران ۲۰۰٦؛ قاسم اوغلی و همکاران ۲۰۰٤؛ زمردی و همکاران ۱۳۸۸). استفاده از پروبیوتیک‌ها در تهیه پنیر نه تنها آثار سویی ندارد بلکه اثرات مثبت نیز بر کیفیت آن می‌گذارد (روس و همکاران ۲۰۰۲؛ دی کاکنو و همکاران ۲۰۰۳؛ زمردی و همکاران ۱۳۸۹).

مازلی اسکو کاپیتیا و همکاران (۲۰۰۷) *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را به پنیر نرم اضافه کردند. نتایج آنها نشان داد گرچه در انتهای زمان نگهداری تعداد پروبیوتیک بین ۱۰^{٦} و ۱۰^{٧} واحد کلنی در گرم بود ولی پنیرهای حاوی این سویه‌ها امتیاز حسی کمتری کسب کردند.

یکی از واکنش‌های بیوشیمیایی مهمی که در طول رسیدن پنیر اتفاق می‌افتد، پروتئولیز است. طی این

واکنش محصولات غیر فرار مانند اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدها تولید می‌شود که اجزای ازت محلول را تشکیل می‌دهد و در بافت و طعم محصول نهایی موثر است. پروتئازها و پپتیدازهای حاصل از منابع مختلف از جمله آنزیم‌های باقی مانده از انعقاد شیر، باکتری‌های لاکتیک استارترها و غیر استارتر و کشت‌های افزوده شده این فرایند را کاتالیز می‌کند (مکسوینی ۲۰۰٤). تحقیقات زیادی نشان داده است که پروبیوتیک‌ها در پروتئولیز پنیر شرکت دارند مخصوصا آنهایی که خاصیت پپتیدولیتک دارند و موجب افزایش میزان پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد می‌شوند (مادکور و همکاران ۲۰۰۰؛ پوویدا و همکاران ۲۰۰۳).

انق و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *بیفیدوباکتریوم لانگوم* و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* را در پروتئولیز پنیر چدار در طی ۹ ماه نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که غلظت نیتروژن محلول و سرعت هیدرولیز کازئین در پنیرهای پروبیوتیک بالاتر بود اما افزایش پروتئولیز در خواص حسی پنیرها تاثیر معنی‌داری نداشت. برگامینی و همکاران (۲۰۰٦) نیز نشان دادند که در پنیر نیمه سفت آرژانتینی حاوی پروبیوتیک، α_{s1}-کازئین به مقدار زیادی تجزیه شد و فقط یک باند کمرنگ در انتهای دوره رسیدن مشاهده گردید (٦۰ روز). ناپدید شدن α_{s1}-کازئین همراه با افزایش α_{s1} (f24-199)، پپتید حاصل از شکسته شدن α_{s1}-کازئین توسط کیموزین می‌باشد.

میناگاوا و همکاران (۱۹۸۵) سیستم اگزوپپتیدازهای بسیاری از سویه‌های *بیفیدباکتریوم* را تشریح نمودند. آنها وجود آنزیم‌های آمینوپپتیدازها، ایمنوپپتیدازها و کربوکسی‌پپتیداز در *بیفیدوباکتریوم‌ها* را ثابت کردند.

در روش اولترافیلتراسیون، بدلیل الحاق پروتئین‌های آب پنیر به محصول، علاوه بر افزایش راندمان، ارزش تغذیه‌ای پنیر نیز بهبود می‌یابد. به همین دلیل فن آوری اولترافیلتراسیون بخصوص در صنعت تولید پنیر سفید ایرانی رو به گسترش است.

در مطالعات قبلی مولف (زمردی و همکاران ۲۰۱۱) نشان داده شد که در طول نگهداری پنیر سفید ایرانی تهیه شده به روش فراپالایش، تعداد کلنی‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به ترتیب *در حدود ۱ و ۰/۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافت. همچنین تعداد* پروبیوتیک‌های زنده مانده بالاتر از حداقل میزان توصیه شده برای خواص درمانی بود (10^7 cfu g^{-1}). لذا در این مقاله هدف بررسی تاثیر باکتری‌های پروبیوتیک بر الگوی پروتئولیز پنیر سفید ایرانی تهیه شده به روش فراپالایش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

شیر گاو تهیه شده از دامداری‌های ارومیه، استارتر مزوفیل شامل *لاکتوکوکوس زیر گونه کرموریس* و *لاکتوکوکوس دی‌استیلاکتیس* بیو واریته *دی استیلاکتیس* متعلق به شرکت دنیزکوی فرانسه، رنت میکربی از شرکت DSM استرالیا، باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (ATCC 8014 یا PTCC 1616) که بر اساس منابع (تومولا و سالمینین ۱۹۹۸؛ لاش و همکاران ۲۰۰۵) و باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* (ATCC 29521 یا PTCC 1644) که بر اساس منابع (سان و گریفتیس ۲۰۰۰؛ وانق و همکاران ۲۰۰٦) از سویه های پروبیوتیک هستند از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران[1] تهیه شدند.

آماده کردن باکتری‌های پروبیوتیک

محتویات آمپول‌های حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* جهت تکثیر به محیط کشت مایع MRS (شرکت شارلو اتحادیه اروپا) و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به محیط کشت مایع MRS تقویت شده با ۰/۰۵ درصد

1. Persian Type Culture Collection (PTCC)

ال- سیستین کلراید منتقل شدند. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در شرایط هوازی و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* تحت *شرایط* بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. این عمل ۲ تا ۳ بار تکرار شد تا تعداد باکتری‌ها به حد لازم برسد. سلول‌های میکروبی توسط سانتریفوژ یخچالدار (اپاندروف ساخت آلمان) با دور ۱۵۰۰g و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه برداشت شدند و دو بار با آب پپتون ۰/۱ درصد استریل شستشو گردیدند (کراسیکوپ و همکاران ۲۰۰٤).

پنیر سفید ایرانی فراپالایش

نمونه‌های پنیر در کارخانه آیناز ارومیه در مقیاس صنعتی تهیه شد (زمردی و همکاران ۱۳۸۹). مدول‌های دستگاه UF از نوع مارپیچی (no UFPH20 دانمارک)، قدرت جداسازی غشاهای آن تقریبا ۲۰ کیلوگرم بر مول، سطح آن ۱٦/۹ متر مربع و فشار ورودی و خروجی دستگاه به ترتیب ۳/۵ و ۷/۱ بار بود. شیر در دستگاه اولترافیلتراسیون در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد تا ماده خشک حدود ٤۰ درصد تغلیظ گردید. تعداد حدود 10^{8}–10^{9} واحد کلنی در گرم از باکتری‌های پروبیوتیک در هنگام پر شدن رتنتیت در ظروف بسته بندی به آن اضافه شد. تیمارها در ۳ تکرار تهیه شدند که عبارت بودند از: کنترل **C** (کنترل) حاوی استارتر تجارتی و بدون باکتری پروبیوتیک، **LP** دارای استارتر تجارتی همراه با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و **BB** حاوی استارتر تجارتی همراه با *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*. نمونه‌های تولیدی به مدت ٦۰ روز در سردخانه با دمای ۱۰–۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در طول نگهداری در فواصل زمانی ۱، ۱۵، ۳۰، ٤۵ و٦۰ روز آزمایشات لازم انجام گرفت. جدول ۱ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شیر خام و رتنتیت مصرفی را نشان می‌دهد.

ارزیابی پروتئولیز

ارزیابی پروتئولیز در پنیرها با اندازه‌گیری نیتروژن ازت محلول در pH=٤/٦، ازت محلول در تری کلرواستیک اسید، اندازه‌گیری اسیدهای آمینه آروماتیک و الکتروفورز انجام گرفت.

نیتروژن محلول در pH=٤/٦ با روش اصلاح شده کوچرو و فاکس (۱۹۸۲) و نیتروژن محلول در تری کلرواستیک اسید ۱۲ درصد، نیز با روش برگامینی و همکاران (۲۰۰٦) از فراکسیون محلول در pH=٤/٦، استخراج گردید. نیتروژن محتوی هر یک از محلول‌های استخراجی با استفاده از روش کلدال تعیین شد.

الکتروفورز اجزای نامحلول **در** pH=**۴/۶** با استفاده از ژل‌های اوره- پلی آکریل آمید (Urea-PAGE) با استفاده از دستگاه الکتروفورز (بیو راد ساخت انگلیس) با ژل عمودی انجام شد (آندرو ۱۹۸۳). رنگ آمیزی ژل‌ها با استفاده از کماسی بلو G-250 طبق روش توضیح داده شده توسط بلاکسیلی و بویزی (۱۹۷۷) صورت گرفت.

اسیدهای آمینه تیروزین و تریپتوفان آزاد محلول در تری کلرواستیک اسید ۱۲درصد با استفاده از اسپکتروفتومتر (بیکمن ساخت امریکا) در طول موج ٦۵۰ نانومتر اندازه گیری شد (خسروشاهی اصل و همکاران ۲۰۰٦).

آنالیز آماری

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی می‌باشد. فاکتور اول زمان آزمایش در ۵ سطح و فاکتور دوم نوع تیمار در ۳ سطح و در ۳ تکرار می‌باشد (۳×۳×۵). نتایج با استفاده از نرم افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین‌ها با آزمون مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شیر خام و رتنتیت مصرفی

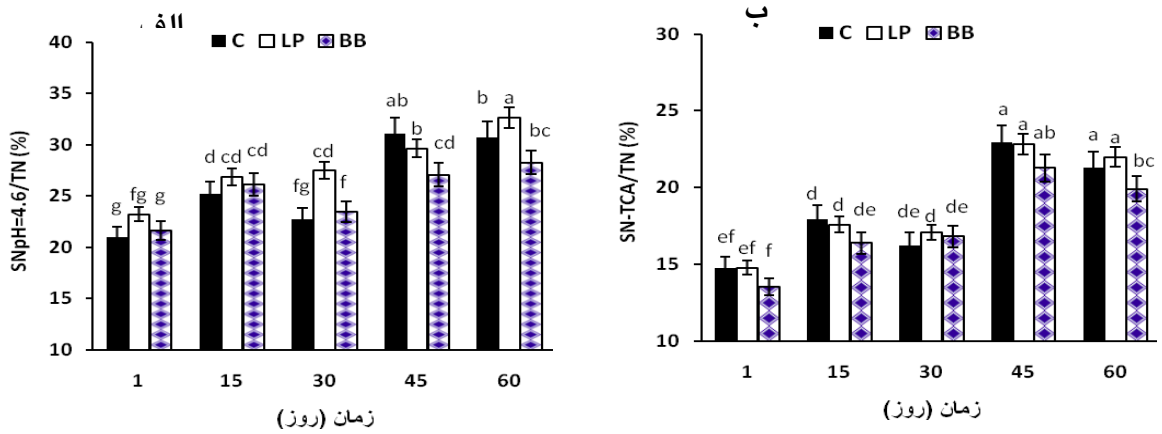
نام نمونه	چربی (٪)	پروتئین (٪)	ماده خشک (٪)	اسیدیته (^{o}D)	pH
شیر خام	۳/۱۷±۰/۲۱	۳/۰۶±۰/۱۱	۱۱/۷۸±۰/۲۷	۱٤/٥۱±۰/۹۸	٦/۷±۰/۱۰
رتنتیت	۳۷/۱۲±۰/٤٥	۱۱/٥۱±۰/۱۹	۳۷/۲۸±۱/۲۱	۳۲/٤٥±۰/٥۰	٦/٦۲±۰/۰۳

نتایج و بحث

ارزیابی پروتئولیز در پنیر

در شکل ۱ نسبت نیتروژن محلول در pH =٤/٦ به نیتروژن کل (pH=4.6-SN/TN) و نسبت نیتروژن محلول در تری‌کلرواستیک اسید به نیتروژن کل (SN-TCA/TN)، در طول رسیدن پنیر به مدت ٦۰ روز آورده شده است.

نسبت نیتروژن محلول در pH =٤/٦ به نیتروژن کل در طول زمان نگهداری بتدریج افزایش پیدا کرد (شکل۱ الف). اما اختلاف در مقدار این اندیس در روزهای اول (۱۵-۱ روز) در بین نمونه‌ها معنی‌دار (P>۰/۰۵) نبود. زیرا در مراحل اولیه پروتئولیز پپتیدهای محلول در آب در اثر فعالیت مواد منعقد کننده و پلاسمین تولید می‌شود (ویسر ۱۹۷۷؛ انق و همکاران ۲۰۰٦). اما بعد از ۳۰ روز مقدار آن در تیمار LP بالاتر بود زیرا این سویه دارای فعالیت پروتئولیتیکی بیشتری بود در نتیجه با هیدرولیز بیشتر CN، موجب آزاد شدن پپتیدهای محلول در آب شده است. در انتهای دوره رسیدن مقدار نسبت نیتروژن محلول در pH =٤/٦ به نیتروژن کل در پنیر پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بطور معنی‌داری بیشتر از پنیر کنترل (P<۰/۰۵) بود اما پنیر پروبیوتیک حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) با پنیر کنترل نداشت.



شکل ۱- الف) نسبت نیتروژن محلول در pH ۴/۶ به نیتروژن کل (SNpH=4.6/TN) و ب) نسبت نیتروژن محلول در تری-کلرواستیک اسید به نیتروژن کل (SN-TCA/TN) در طول رسیدن پنیر سفید ایرانی فراپالایش نگهداری شده در دمای ۸-۱۰°C به مدت ۶۰ روز (P<۰/۰۵). C پنیر کنترل حاوی استارتر تجارتی و LP و BB به ترتیب پنیرهای پروبیوتیک دارای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*

لذا می‌توان گفت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* دارای آنزیم‌های پپتیدولیتیک بیشتری بوده است که منجر به افزایش این اندیس نسبت به کنترل گردیده است. در طول رسیدن پنیر مقدار SN-TCA نیز بتدریج افزایش یافت

(شکل ۱ ب) که این افزایش بعد از ٤٥ روز شدت بیشتری داشت. پروتئازهای باکتری‌های استارتر و غیراستارتر مسئول اصلی تشکیل SN-TCA هستند (فاکس ۱۹۹۳؛ انق و همکاران ۲۰۰٦) که نشان می‌دهد وقتی پپتیدهای محلول توسط رنت و استارترها تولید می‌شود پپتیدازها و پروتئازهای پروبیوتیک‌ها توانایی هیدرولیز آنها را داشته و موجب آزاد شدن بیشتر پپتیدهای متوسط و کوچک ملکول می‌گردد (برگامینی و همکاران ۲۰۰٦). شیهاتا و شاه (۲۰۰۰) نشان دادند که *بیفیدوباکتریوم‌ها* دارای فعالیت پروتولیتیک کمتری هستند که نتایج این بررسی را تایید می‌کند.

پنیرهای حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نیز دارای بیشترین مقدار TCA-SN بودند اما با پنیر کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. در مراحل انتهایی رسیدن اکثر محصولات حاصل از پروتئولیز اولیه قابل دسترس به عنوان سوبسترا برای پروتئولیز بعدی توسط پپتیدازهای پروبیوتیک مصرف می‌شوند لذا مقدار SN-TCA در پنیرهای پروبیوتیک افزایش می‌یابد (انق و همکاران ۲۰۰٦). اختلاف در مقدار این اندیس شاید ناشی از تفاوت در فعالیت پروتئولتیکی استارتر و باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده باشد (توانتان و همکاران ۱۹۹۳).

برگامینی و همکاران (۲۰۰٦) گزارش کردند در پایان زمان نگهداری *لاکتوباسیلوس اسیدفیلوس* در مقدار SN-TCA موثر بوده اما *پاراکازئی* تاثیری در مقدار آن نداشت. آنها خاطر نشان کردند که چون تعداد *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در طول نگهداری تغییری نداشته در حالیکه تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در حدود ۰/۵ سیکل لگاریتمی کاهش داشت، بنابراین در اثر لیز شدن سلول‌ها، پپتیدهای داخل سلولی در پنیر آزاد شده و در اثر فعالیت پپتیدولتیک موجب افزایش مقدار نیتروژن محلول گردید. در مطالعه حاضر نیز کاهش تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در طول نگهداری بیشتر از بیفیدیوم بود که شاید علت اختلاف بین دو پروبیوتیک باشد.

الگوی الکتروفورز اجزای نامحلول در pH=٤/٦ در روزهای ۱، ۳۰ و ٦۰ در شکل ۲ آمده است. همان طوریکه از شکل ۲ مشخص است با گذشت زمان شدت باندهای α_{s1}- کازئین کاهش و غلظت ترکیبات حاصل از شکستن α_{s1}- کازئین توسط کیموزین باقی مانده، افزایش پیدا کرد (باشچ و همکاران ۱۹۸۹).

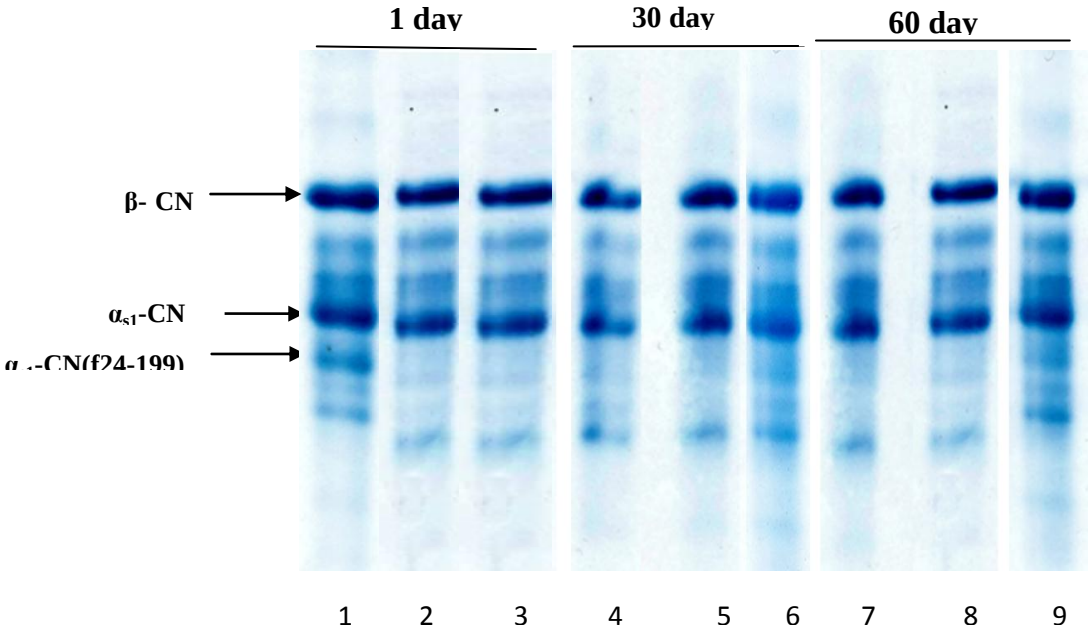
این محصولات سوبسترای پروتئازها و پپتیدازهای میکروبی هستند که منتج به تشکیل پپتیدهای کوچک ملکول و اسیدهای آمینه می‌گردد. میزان هیدرولیز باندهای α_{s1}- کازئین موجب اختلاف بین نمونه‌های پنیر شده است.

هیدرولیز α_{s1}- کازئین در پنیرها با ناپدید شدن باندهای α_{s1}- کازئین در مراحل اولیه رسیدن همراه بود. باندهای α_{s1}- کازئین در پنیرهای پروبیوتیک تقریبا مشابه نمونه کنترل بود که نشان می‌دهد این سویه‌ها خاصیت پروتئولیتیک زیادی ندارد. دیناکار و میستری (۱۹۹٤) نشان دادند که اختلاف معنی‌داری بین بین الکتروفورز در پنیر حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و پنیر کنترل وجود نداشت. نتایج مشابهی نیز توسط کربو و همکاران (۲۰۰۱) در پنیر سخت تهیه شده با *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *بیفیدوباکتریوم لانگوم* گزارش گردید. همچنین میلسی و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند که افزودن *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در پنیر کریموسو[1] در شکستن α_{s1}- کازئین موثر نبود. نتایج این تحقیقات نتایج مطالعه حاضر را تایید می‌کند.

با گذشت زمان شدت باندهای β- کازئین نسبت به α_{s1}- کازئین تغییری پیدا نکرد. میستری و کاسپرسون (۱۹۹۸) و براندسما و همکاران (۱۹۹٤) نشان دادند که پپتیدهای باکتریایی قادرند α_{s1}-کازئین را سریعتر از β- کازئین هیدرولیز کنند.

1. Cremoso

انق و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که افزایش پروبیوتیک‌ها به پنیر چدار در حدود ۵ درصد β -کازئین را هیدرولیز نمود اما این کاهش معنی‌دار نبود.



شکل ۲- الکتروفوروگرام ژل‌های اوره- پلی آکریل آمید پنیرهای سفید ایرانی فراپالایش بعد از ۱، ۳۰ و ۶۰ روز نگهداری در دمای ۱۰- ۸ درجه سانتی‌گراد. باندهای ۱، ۴ و ۷ پنیر C (فقط استارتر تجارتی)، باندهای ۲، ۵ و ۸ پنیر LP (استارتر تجارتی و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) و باندهای ۳، ۶ و ۹ پنیر BB (استارتر تجارتی و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*)

کلیچ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که پروتئولیز مهمی در طول ۱۲۰ روز نگهداری پنیرهای پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس صورتنتاتوم*[1] صورت نگرفت. فقط β-کازئین به میزان کمتری کاهش نشان داد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (فنولین و همکاران ۲۰۰۰؛ اوماهنی و همکاران ۲۰۰۳؛ زمردی و همکاران ۱۳۸۹).

نتایج الکتروفورز با میزان اجزای محلول در pH=٤/٦، شاخص پروتئولیز اولیه، نمونه‌های پنیر مطابقت ندارد (شکل ۲). به دلیل اینکه الگوی الکتروفورز به صورت کمی بررسی شده است دقیقا نمی‌توان گفت که تغییرات الگوی الکتروفورز معنی‌دار بود یا نه.

اسیدهای آمینه تیروزین- تریپتوفان

اختلاف در مقدار اسیدهای آمینه آزاد تیروزین- تریپتوفان در پنیرهای پروبیوتیک و پنیر کنترل تا روز ٤٥ معنی‌دار نبود (شکل ۳). اما در انتهای دوره رسیدن (بعد از ٦٠ روز) پنیرهای حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* موجب افزایش معنی‌دار مقدار اسیدهای آمینه تیروزین- تریپتوفان گردید ($P<۰/۰۵$).

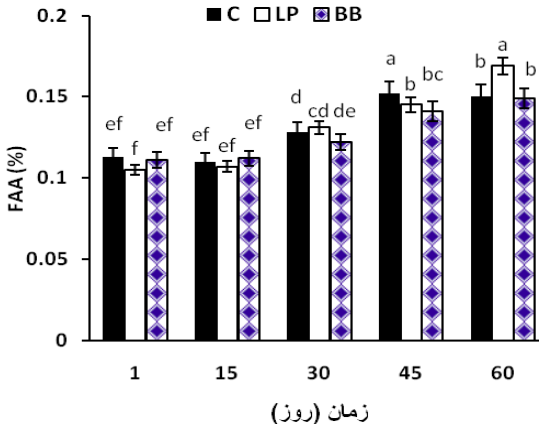
در پایان زمان نگهداری *لاکتوباسیلوس. پلانتاروم* بطور معنی‌داری دارای بیشترین مقدار اسیدهای آمینه آروماتیک آزاد بود در حالیکه از نظر خواص حسی مشابه پنیر کنترل بود (نتایج ذکر نشده است).

میلسی و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند که اختلاف در مقدار اسیدهای آمینه آزاد در پنیر پیگرس (پنیر نیمه سفت) حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* موجب افزایش

1. *Lactobacillus sortantium*

مقدار اسیدهای آمینه آزاد شد اما با نمونه کنترل اختلاف معی‌داری نداشت.

لنچ و همکاران (۱۹۹٦)، مادکار و همکاران (۲۰۰۰) و گارنر و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که لاکتوباسیلوس-های الحاقی به پنیر چدار در طول رسیدن موجب افزایش مقدار اسیدهای آمینه آزاد شد که نتایج این بررسی را تایید می‌کند. شیهاتا و شاه (۲۰۰۰) نشان دادند که بیفیدوباکتریوم‌ها فعالیت امینوپپتیداز بیشتری دارند. اما در این بررسی مقدار اسیدهای آمینه‌های آروماتیک تیمار حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بطور معنی‌داری کمتر از تیمار حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود.



شکل ۳- تغییرات اسیدهای آمینه آروماتیک پنیرهای تولیدی در طول نگهداری. LP و BB به ترتیب پنیرهای پروبیوتیک دارای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*

باکتری‌های پروبیوتیک معمولا در پروتئولیز اولیه پنیر موثر نیستند (سوزا و همکاران ۲۰۰۱). اما این باکتری‌ها در پروتئولیز ثانویه موثرند که موجب افزایش اسیدهای آمینه آزاد می‌گردند که در طعم پنیر موثرند (آردو ۲۰۰٦؛ مکسوینی ۲۰۰٤).

نتیجه‌گیری

پنیر پتانسیل بسیار خوبی به عنوان غذاهای حامل پروبیوتیک دارد و یکی از گزینه‌های با ارزشی در صنایع شیر محسوب می‌گردد. اما برای توسعه و افزایش تولید پنیر پروبیوتیکی در مقیاس صنعتی نیاز به اطلاعات کافی در مراحل مختلف فرایند تهیه پنیر است. لذا در این مطالعه، تاثیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به عنوان دو باکتری پروبیوتیک بر پروتئولیز پنیر سفید ایرانی فراپالایش بررسی گردید. نتایج نشان داد که *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* تاثیری بر پروتئولیز اولیه و ثانویه نداشت اما *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در پروتئولیز اولیه و ثانویه موثر بود.

سپاسگزاری

از مدیریت کارخانه لبنیات آل‌پایلا ارومیه و سازمان صنایع کوچک و شهرک‌های صنعتی آذربایجان غربی بدلیل همکاری در اجرای این پایان نامه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

زمردی ش، رضوی روحانی س م، خسروشاهی اصل ا، احسانی ع، ۱۳۸۸. ماندگاری باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و تاثیر آن بر خواص کیفی و حسی پنیر سفید ایرانی فراپالایشی. پژوهش‌های صنایع غذایی ۱۹: ۷۹-۹۲.

زمردی ش، خسروشاهی اصل ا، رضوی روحانی س م، تاجیک ح، میرآقایی س. ۱۳۸۹. تاثیر *لاکتوباسیلوس کازئی* به عنوان مایه کشت الحاقی به دو صورت آزاد و کپسوله بر الگوی پروتئولیز و لیپولیز در پنیر سفید ایرانی فراپالایش. پژوهش های صنایع غذایی ۲۰: ۱۱۷-۱۳۳.

Andrew AT, 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on casein. Journal Dairy Research 50: 45-55.

Ardo Y, 2006. Flavour formation by amino acid catabolism. Biotechnology Advances 24: 238-242.

Basch JJ, Farrell HM, Walsh RA, Konstance RP and Kumosinski TF, 1989. Development of a quantitative model for enzyme-catalysed, time dependent changes in protein composition of Cheddar cheese during storage. Journal of Dairy Science 72: 591-597.

Bergamini CV, Hynes E and Zalazar CA, 2006. Influence of probiotic bacteria in the proteolysis profile of a semi-hard cheese. International Dairy Journal 16: 856–866.

Blakesley RW and Boezi JA, 1977. A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Coomassie Brilliant Blue G250. Annual Review of Biochemistry 82: 580-581.

Brandsma RL, Mistry VV, Anderson DL and Baldwin KA, 1994. Reduced fat Cheddar cheese from condensed milk 3. Accelerated ripening. Journal of Dairy Science 77: 897–906.

Corbo MR, Albenzio M, DeAngelis M, Sevi A and Gobbetti M, 2001. Microbiological and biochemical properties of Canestro Pugliese hard cheese supplemented with Bifidobacteria. Journal of Dairy Science 84: 551–561.

Di Cagno R, De Angelis M, Upadhyay VK, McSweeney PLH, Minervini F and Gallo G, 2003. Effect of proteinases of starter bacteria on the growth and proteolytic activity of *Lactobacillus plantarum* DPC2741. International Dairy Journal 13: 145–157.

Dinakar P and Mistry VV, 1994. Growth of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. Journal of Dairy Science 77: 2854–2864.

Fenelon MA, O'Connor P and Guinee TP, 2000. The effects of fat content on Microb and proteolysis in Cheddar cheese during ripening. Journal Dairy Science 83: 2173-2183.

Fox PF, 1993. Cheese: An overview. Cheese: Chemistry, physics and microbiology (Vol. 1), pp. 1–36. London: Chapman and Hall.

Grappin R, Rank TC and Olson NF, 1985. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening. A review. Journal of Dairy Science 68: 531–540.

Guarner F and Schaafsma GJ, 1998. Probiotics. International Journal of Food Microbiology 39: 237–238.

Kasımo&glu A, Goncuoglu M and Akgun N, 2004. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. International Dairy Journal 14: 1067–1073.

Kılıç BG, Kuleashan H, Eralp I and Karahan A, 2009. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. LWT - Food Science Technology 42: 1003-1008.

Khosrowshahi A, Madadlou A, Erahimzadeh Mousavi and Emam-Djomeh Z, 2006. Monitoring the chemical and textural change during ripening of Iranian white cheese made with different concentrations of starter. Journal Dairy Science 89: 3318-3325.

Krasaekoopt W, Bhandari B and Deeth H, 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. International Dairy Journal 14: 737-743.

Kuchroo CN and Fox PF, 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft 37: 331-335.

Madkor SA, Tong PS and El-Soda M, 2000. Ripening of Cheddar cheese with added attenuated adjunct cultures of Lactobacilli. Journal of Dairy Science 83: 1684–1691.

McSweeney PLH, 2004. Biochemistry of cheese ripening. International Journal Dairy Technology 57: 127–144.

Milesi MM, Vinderola G, Sabbag N, Meinardi CA and Hynes E, 2009. Influence on cheese proteolysis and sensory characteristics of non-starter lactobacilli strains with probiotic potential. Food Research International 42: 1186–1196.

Minagawa E, Kaminogawa S, Tsukaski F, Motoshima H and Tamaushi K, 1985. Exopeptidase profiles of bifidobacteria. Journal of Nutritional Science and Vitaminology 31: 599–606.

Mistry VV and Kasperson KM, 1998. Influence of salt on the quality of reduced fat Cheddar cheese. Journal of Dairy Science 81: 1214–1221.

Modzelewska–kapitula M, klebukowska L and kornacki K, 2007. Influence of inulin and potentially probiotic *lactobacillus plantarum* strain on microbiological quality and sensory properties of soft cheese. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences 57: 143-146.

O'Mahony JA, Sousa MJ and McSweeney PLH, 2003. Proteolysis in miniature Cheddar-type cheeses made using blends of chymosin and Cynara cardunculus proteinases as coagulant. International J of Dairy Technology 56: 234–242.

Ong L, Henriksson A and Shah NP, 2006. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. International Dairy Journal 16: 446–456.

Ong L, Henriksson A and Shah NP, 2007. Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* or *Bifidobacterium* sp. International Dairy Journal 17: 67–78.

Poveda JM, Sousa MJ, Cabezas L and McSweeney PLH, 2003. Preliminary observations on proteolysis in Manchego cheese made with a defined-strain starter culture and adjunct starter (*Lactobacillus plantarum* or a commercial starter. International Dairy Journal 13: 169–178.

Ross RP, Fitzgerald G, Collins K and Stanton C, 2002. Cheese delivering biocultures-probiotic cheese. Australian Journal of Dairy Technology 57: 71–78.

Shihata A and Shah NP, 2000. Proteolytic profiles of yoghurt and probiotic bacteria. International Dairy Journal 10: 401–408.

Sousa MJ, Ardo¨Y and McSweeney PLH, 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. International Dairy Journal 11: 327–345.

Sun W and Griffiths MW, 2000. Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan–xanthan beads. International Journal of Food Microbiology 61: 17–25.

Tjwantan PS, Poolman B and Konings WN, 1993. Proteolytic enzymes of *Lactococcus lactis*. Journal of Dairy Research 60: 286-269.

Tuomola EM and Salminen SJ, 1998. Adhesion of some probiotic and dairy Lactobacillus strains to Caco-2 cell cultures. International Journal of Food Microbiology 41: 45–51.

Wang Y, Han F, Hu B, Li J and Yu W, 2006. In vivo prebiotic properties of alginate oligosaccharides prepared through enzymatic hydrolysis of alginate. Nutrition Research 26: 597–603.

Visser FMW, 1977. Contributions of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda Cheese. 3. Protein breakdown: Analysis of the soluble nitrogen and amino nitrogen fractions. Netherlands Milk and Dairy Journal 56: 1238–1240, 1254.

Zomorodi SH, Khosrowshahi Asl A, Razavi Rohani SM and Miraghaei S, 2011. Survival of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium bifidum* in free and microencapsulated forms on Iranian white cheese produced by ultrafiltration. International Journal of Dairy Technology 64: 84-91.