نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد نهم، شماره دوم، ۹۶
۱-۱۶
http://ejfpp.gau.ac.ir

اثر افزودن اسیدهای آمینه آزاد کازئینی بر پروتئولیز و ویژگی‌های حسی پنیر فتای فراپالایشی

راحله نژاد رزمجوی اخگر[۱و۲*]، جواد حصاری[۳]، صدیف آزاد مرد دمیرچی[۳]

[۱]دانش‌آموخته دکتری صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[۲]استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، ارومیه، ایران
[۳]استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۳

چکیده

سابقه و هدف: علیرغم مزایای بالای پنیرهای فتای فراپالایشی به ویژه راندمان بالای آن‌ها، فرایند رسیدن و توسعه عطر و طعم در این پنیرها کندتر از پنیرهای سنتی صورت می‌گیرد. رسیدن پنیر فرآیندی پیچیده و اجتناب ناپذیر جهت دستیابی به محصولی با خصوصیات بافتی و ارگانولپتیکی منحصر به فرد می‌باشد. در طی رسیدن، پنیر دستخوش تغییراتی شامل گلیکولیز، لیپولیز و پروتئولیز می‌گردد. پروتئولیز مهمترین و پیچیده‌ترین رویدادی است که در اغلب واریته‌های پنیر در طی رسیدن رخ می‌دهد و شدیداً بر روی خواص حسی پنیر تأثیر می‌گذارد. لذا در این مطالعه اثر افزودن اسیدهای آمینه آزاد کازئینی بر روی تسریع پروتئولیز و توسعه عطر و طعم در این پنیرها در طول ۶۰ روز رسیدن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های پنیر در ۳ تکرار در ۳ روز متوالی تهیه شدند. تیمار کنترل طبق روش معمول کارخانه تولید شد. در تیمار آزمایشی اسیدهای آمینه کازئینی علاوه بر استارتر و مایه پنیر، به رتنتیت اضافه گردید. ترکیب شیمیایی، ازت محلول در pH= ۴/۶، اوره- الکتروفورز، پروفایل‌های پپتیدی، اسیدهای آمینه آزاد کل و اختصاصی و ویژگی‌های حسی در طول ۶۰ روز دوره رسیدن در نمونه‌های پنیر مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین پنیرهای آزمایشی و کنترل یک روزه از نظر ترکیب شیمیایی و pH وجود ندارد. ازت محلول در pH=۴/۶ در تمام دوره، جز روز اول در تیمار حاوی اسیدهای آمینه آزاد به طور معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) بالاتر بود. اوره- الکتروفورز با ژل پلی‌آکریل‌آمید جزء نامحلول در pH= ۴/۶ تفاوت معنی‌داری از نظر میزان هیدرولیز α_{s1}- کازئین بین تیمارهای کنترل و آزمایشی در طول رسیدن نشان نداد. میزان هیدرولیز β- کازئین در طول رسیدن در هر دو تیمار آهسته‌تر بود. در کروماتوگرام‌های بدست‌آمده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا-فاز معکوس[۱] جزء محلول در pH= ۴/۶ نمونه‌های ۶۰ روزه نسبت پپتیدهای هیدروفیل به هیدروفوب در تیمار آزمایشی بالاتر از تیمار کنترل بود. در تمام طول رسیدن، غلظت‌های اسیدهای آمینه آزاد کل در تیمار آزمایشی به طور معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) بالاتر بود. سطوح اسیدهای آمینه آزاد اختصاصی شاخص نیز در پنیر آزمایشی به طور قابل‌توجهی در روز ۶۰ ام بالاتر بود. از نظر ویژگی‌های حسی، تیمار حاوی اسیدهای آمینه آزاد کازئینی اختلاف معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) با نمونه کنترل داشت و امتیازات بیشتر طعم، عطر و پذیرش کلی را کسب کرد.

* مسئول مکاتبه: razmjooi@yahoo.com

1. RP-HPLC

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی افزودن اسیدهای آمینه آزاد کازئینی به رتنتیت اثر مثبت در تسریع پروتئولیز و در نتیجه رسیدن و بهبود عطر و طعم و پذیرش کلی پنیر فتای فراپالایشی داشت.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای آمینه آزاد کازئینی، پروتئولیز، پنیر فتای فراپالایشی

مقدمه

پنیر فراپالایشی یکی از پرمصرف‌ترین پنیرهای سفید آب نمکی تولیدی در ایران است که از شیر گاو تغلیظ شده تهیه می‌گردد. علی‌رغم مزایای بسیار بالای این پنیرها از جمله راندمان تولید بالا، معایبی نیز در مورد این پنیرها گزارش شده است. رسیدن در پنیرهای فراپالایشی کندتر از پنیرهای سنتی صورت می‌گیرد (۱۶). چندین دلیل جهت تأخیر در رسیدن این پنیرها گزارش شده است. مهمترین دلیل ظرفیت بافری بالای پنیرهای فراپالایشی تهیه شده از شیر تغلیظ شده در pH=۴/۶ می‌باشد که سرعت اتولیز باکتری‌های مزوفیل اسید لاکتیک را به تأخیر انداخته یا به‌طور کلی متوقف می‌کند و در نتیجه هیدرولیز شبکه پروتئینی به تعویق می‌افتد (۱۹). پنیرهای فتای فراپالایشی حاوی مقادیر بالایی از بتالاکتوگلوبولین بوده که از فعالیت پروتئولیتیکی رنت و پلاسمین ممانعت می‌کند، بنابراین، پروتئولیز به تعویق افتاده و برخی معایب بافتی و حسی می‌تواند در محصول نهایی مشاهده گردد (۱۶). رسیدن پنیر فرآیند پیچیده و اجتناب‌ناپذیر جهت دستیابی به محصولی با خصوصیات بافتی و ارگانولپتیکی منحصر به فرد می‌باشد. در طی رسیدن، پنیر دستخوش تغییرات میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی مهم می‌گردد، این تغییرات شامل گلیکولیز، لیپولیز و پروتئولیز می‌باشد که تغییرات مزبور با تعدادی از تغییرات کاتابولیک ثانوی شامل دآمیناسیون، دکربوکسیلاسیون، دسولفوراسیون و برخی تغییرات سنتتیکی نظیر استریفیکاسیون همراه است (۵). پروتئولیز مهمترین و پیچیده‌ترین رویدادی است که در اغلب واریته‌های پنیر رخ می‌دهد (۴) و شدیداً بر روی خواص حسی پنیر رسیده تأثیر می‌گذارد. امروزه از انواع روش‌های تسریع رسیدن به منظور بهبود ویژگی‌های حسی و بافتی پنیر استفاده می‌گردد. این روش‌ها شامل افزایش درجه حرارت رسیدن، توسعه کشت‌های آغازگر، استفاده از کشت‌های الحاقی، افزودن دوغاب یا اسیدهای آمینه آزاد، استفاده از آنزیم‌های خارجی و فراوری با فشار بالا می‌باشد (۴). در مورد استفاده از اسیدهای آمینه کازئینی جهت تسریع پروتئولیز و رسیدن پنیر و بهبود عطر و طعم آن تنها یک منبع علمی به چشم می‌خورد. والاس و فاکس (۱۹۹۶) مطالعه‌ای به‌منظور ارزیابی امکان تسریع توسعهٔ عطر و طعم در پنیر چدار با اضافه کردن اسیدهای آمینهٔ آزاد به دلمه در هنگام نمک زنی، انجام دادند. در این مطالعه، اسیدهای آمینهٔ آزاد کازئینی به همراه نمک به دلمهٔ پنیر چدار آسیاب شده در غلظت‌های ۰، ۱/۴، ۲/۸، ۵/۷ و ۸/۵ گرم بر کیلوگرم اضافه شدند. پروتئولیز مورد بررسی قرار گرفت و پنیرها بر اساس طعم و بافت درجه‌بندی شدند. ترکیب شیمیایی پنیرهای آزمایشی و کنترل مشابه و در محدودهٔ مورد انتظار پنیر چدار بودند. تفاوت‌هایی در غلظت ازت محلول در آب بین پنیرهای کنترل و آزمایشی در سراسر دورهٔ رسیدن مشاهده شد. الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید اوره هیچ تفاوتی را چه کمی و چه کیفی، بین پنیرهای کنترل و آزمایشی در هر مرحله از رسیدن نشان نداد. کروماتوگرافی مایع با فاز معکوس نشان داد که پنیر کنترل و پنیر آزمایشی حاوی بالاترین مقدار اسیدهای آمینه به طور قابل ملاحظه ای سطوح پایین‌تری از همهٔ پپتیدهای عمده را نسبت به سایر پنیرها دارا بودند. زمانی که پنیرها امتیاز داده شدند، پنیر حاوی بیشترین میزان اسیدهای آمینه آزاد، عطر و طعم بسیار پیشرفته در ۳ ماه را نشان داد، اما در ۶ ماه بیش از حد رسیده و دارای طعم نامطلوب و بافت خمیری و ضعیف بود. کیفیت پنیرهای محتوی سطوح متوسط اسیدهای آمینه بسیار بالا بود. نتیجه‌گیری شد که افزودن سطوح متوسطی از اسیدهای آمینهٔ آزاد به دلمهٔ پنیر چدار در طول تولید، اثرات مفیدی در

توسعهٔ عطر و طعم پنیر دارد اما سطوح بالای آن نقش مهارکنندگی پروتئولیز را دارند. به نظر می‌رسد افزودن اسیدهای آمینه در سطوح متوسط پروتئولیز را تحریک کنند، به خصوص پروتئولیز ثانویه که شامل شکستن پپتیدهای کوچک به اسیدهای آمینه آزاد می‌باشد که به‌دلیل فعال شدن پپتیدازها، افزایش تجزیه سلولی یا افزایش رشد باکتری‌های اسید لاکتیک غیراستارتر می‌باشد (۲۳).

هدف از اجرای این تحقیق، ارزیابی اثر افزودن اسیدهای آمینه آزاد کازئینی، بر روی ترکیب شیمیایی، پروتئولیز و ویژگی‌های حسی پنیر فتای فراپالایشی از طریق اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی، ازت محلول در pH=۴/۶، اوره- الکتروفورز، پروفیل‌های پپتیدی، اسیدهای آمینه آزاد کل و اختصاصی و ارزیابی حسی در طول ۶۰ روز دوره رسیدن در نمونه‌های پنیر فتای فراپالایشی بود.

مواد و روش‌ها

مواد: کشت آغازگر مرکب از کشت‌های مزوفیل (*لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *کرموریس*[1] و *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیرگونه *لاکتیس*[2]) و ترموفیل (*استرپتوکوکوس سالیواریوس* زیرگونه *ترموفیلوس*[3]) از شرکت دنیسکوی دانمارک، مایه پنیر قارچی فروماز بدست‌آمده از *رایزوموکور میهی*[4] (دی اس ام، شرکت سیلین فرانسه)[5] و اسیدهای آمینه آزاد کازئینی شامل اسید گلوتامیک، والین، لوسین، فنیل آلانین و لیزین از شرکت سیگما آلدریچ امریکا تهیه شدند.

روش تهیه پنیر: نمونه‌های پنیر در ۳ تکرار در ۳ روز متوالی در شرکت شیر پگاه ارومیه تهیه شدند. پس از استاندارد کردن چربی شیر خام (۳/۵ ٪)، میکروفیلتراسیون با غشاهای لوله‌ای از جنس سرامیک در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و تحت فشار ۲-۱ بار به‌مدت حدود ۴۰ دقیقه انجام گرفت و سپس به مدت ۱۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد پاستوریزه شد و وارد دستگاه اولترافیلتراسیون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گردید. با استفاده از صافی‌های غشایی مارپیچی از جنس استات سلولز (KMS HpHT ^{TM}- HFK ^{TM} -131، انگلستان) آب، املاح و لاکتوز شیر گرفته شد و ماده خشک شیر افزایش یافت. فشارهای ورودی و خروجی واحد اولترافیلتراسیون به ترتیب ۵/۶ و ۱/۸ بار بود. فاکتور تغلیظ ۱ به ۴/۸، فاکتور جدایش وزن مولکولی[6] حدود ۲۰mol.Kg^{-1} و مساحت سطح ۱۵/۵متر مربع بود. رتنتیت مجدداً در دمای ۷۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه پاستوریزه و سپس تا دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد جهت مایه‌زنی سرد گردید. تیمار کنترل طبق روش معمول کارخانه با اضافه کردن کشت آغازگر (۱ درصد) و مایه پنیر قارچی (۲۸ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم رتنتیت) تولید شد. به تیمار آزمایشی علاوه بر آغازگر و مایه پنیر، اسیدهای آمینه کازئینی شامل اسید گلوتامیک، والین، لوسین، فنیل آلانین و لیزین (۰/۸ گرم از هر اسید آمینه به ازای کیلوگرم رتنتیت) در حدود ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شده و به رتنتیت اضافه شد. رتنتیت به میزان ۴۰۰ گرم به لیوان‌ها منتقل و سپس وارد تونل انعقاد با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ دقیقه جهت تشکیل دلمه گردید. با رسیدن لیوان‌ها به انتهای تونل، کاغذ مخصوص پارچمنت بر روی آنها قرار گرفته، مقدار ۲/۵ درصد نمک گرانولی بر روی آنها پاشیده شد و در نهایت درب‌بندی با فویل آلومینیومی صورت گرفت. جهت رسیدن pH پنیرها به پایین‌تر از ۴/۸، بسته‌های پنیر به‌مدت ۲۴ ساعت در

1- *Lc.lactis subsp. Cremoris*
2- *Lc. Lactis subsp. Lactis*
3- *Str.salivarius subsp. thermophilus*
4- *Rhizomucor miehei*
5- DSM Food Specialities, Seclin, France

6- Nominal molecular weight cut-off

دمای ۲۸-۲۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته، و پس از آن به سردخانه با دمای ۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ روز جهت مطالعه و انجام آزمایشات منتقل شدند.

آنالیز نمونه‌های پنیر: ترکیب شیمیایی نمونه‌های پنیر: pH، رطوبت، چربی و نمک به روش مارشال (۱۳) و پروتئین کل به روش کلدال (۸) اندازه‌گیری شدند.

ارزیابی پروتئولیز: ارزیابی پروتئولیز در نمونه‌های پنیر با اندازه‌گیری ازت محلول در pH = ۴/۶، پلی آکریل آمید ژل الکتروفورز، کروماتوگرافی فاز معکوس، اسیدهای آمینه آزاد کل و اختصاصی انجام گرفت.

ازت محلول در pH=٤/٦: اندازه‌گیری ازت محلول در pH = ۴/۶ با استفاده از روش میکروکلدال کوچرو و فاکس (۱۹۸۲)، اصلاح شده توسط سوسا و مکسوئینی (۲۰۰۱) انجام گرفت (۱۲و ۲۱). بدین صورت که۲۰ گرم نمونه پنیر با ۴۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۵ دقیقه با استفاده از هموژنایزر (مدل IKA ساخت آلمان) همگن گردید و سپس pH آن با استفاده از محلول اسید کلریدریک یک مولار در ۶ /۴ تنظیم گردید و در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه به حال خود گذاشته شد. pH نمونه مجددا به صورت فوق تنظیم گردید. محلول همگن شده حاصله در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱ ساعت نگهداری شد و مواد غیر محلول در pH= ۴/۶ به وسیله دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار (RC5C, Sorvall, Wilmington) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه جداسازی گردید. محلول قسمت فوقانی نمونه سانتریفوژ شده که محتوی بخش محلول در pH= ۴/۶ است با استفاده از پشم شیشه و کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف گردید.

الکتروفورز با استفاده از ژل اوره پلی اکریل آمید: الکتروفورز اجزای نامحلول در pH= ۴/۶ با استفاده از ژل‌های اوره- پلی اکریل آمید با استفاده از دستگاه الکتروفورز با ژل عمودی و مطابق روش توضیح داده شده توسط شلابی و فاکس (۱۹۸۷) انجام شد (۲۰). برای اندازه‌گیری سطح باندهای α_{s1}- و β- کازئین در ژل، از نرم افزار ایمیج جی[1] نسخه ۴، استفاده گردید. بدین منظور سطح باندها را در روز اول، ۱۰۰ در نظر گرفته و سطح باندها در هر تیمار نسبت به آن سنجیده شد.

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا- فاز معکوس[2]: پروفیل‌های پپتیدی فراکسیون محلول در pH= ۴/۶ نمونه‌های پنیر به وسیلهٔ کروماتوگرافی مایع فاز معکوس، با استفاده از یک سیستم Varian HPLC طبق روش توضیح داده شده توسط هیال اوغلو و همکاران (۲۰۰۵) تعیین شدند. ستون‌های آنالیزی نوکلئوزیل RP-8 (۴×۲۵۰ میلی‌متر، اندازه ذرات ۵ میکرون و اندازه منافذ ۳۰۰ آنگستروم) و محافظ (۱۰×۴/۶ میلی‌متر) مورد استفاده قرار گرفتند. حلال‌ها عبارت بودند از: (A)، تری فلوراستیک اسید ۰/۱٪ (حجمی/حجمی) در آب دیونیزه با درجه HPLC و (B) تری فلوراستیک اسید ۰/۱٪ (حجمی/حجمی) در استونیتریل و سرعت جریان ۰/۷۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود. نمونه‌های جزء محلول در pH=۴/۶ که به روش انجمادی خشک شده بود در حلال A حل شده (۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و از بین یک صافی استات سلولزی صاف شد. ۴۰ میکرولیتر از محلول صاف شده به داخل ستون تزریق شد. نمونه‌ها در ابتدا با ۱۰۰ درصد حلال A به مدت ۵ دقیقه، شسته شدند. سپس با یک سیستم گرادیانی از ۰ تا ۵۰ درصد حلال B (حجمی/حجمی) بیش از ۵۵ دقیقه شسته شده، در

1- Image J
2- RP-HPLC

۵۰ درصد حلال B (حجمی/حجمی) به مدت ۶ دقیقه نگهداری شدند و به دنبال آن با یک گرادینت خطی از ۵۰ تا ۶۰ درصد حلال B (حجمی/حجمی) به مدت بیش از ۴ دقیقه و در نهایت با ۶۰ درصد حلال B (حجمی / حجمی) به‌مدت ۳ دقیقه شستشو انجام گرفت. ستون با ۹۵ درصد حلال B (حجمی/حجمی) به مدت ۵ دقیقه و سپس با ۱۰۰ درصد حلال A به مدت ۵ دقیقه قبل از تزریق بعدی شسته شد. جذب جزء خروجی در طول‌موج ۲۱۴ نانومتر خوانده شد (۶).

اسیدهای آمینه آزاد کل و اختصاصی: غلظت اسیدهای آمینه آزاد کل به وسیله تری‌نیتروبنزن سولفونیک اسید[1] مطابق روش توضیح داده شده توسط کایلاساپاتی و لم (۲۰۰۵) انجام گرفت (۹). نتایج به صورت میلی‌گرم گلایسین در گرم پنیر گزارش شد. اسیدهای آمینه آزاد اختصاصی مطابق روش توضیح داده شده توسط هیال اوغلو و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از آمینو اسید آنالایزر ۶۳۰۰ مدل بکمن[2] مجهز به ستون ۱۲۰× ۴ میلی‌متری تبادل کاتیونی (Na^+) آنالیز شدند (۶). نتایج به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم پنیر بیان شدند.

ارزیابی حسی: آنالیز حسی نمونه‌ها در روز ۳۰ و ۶۰ ام رسیدن توسط ۱۰ نفر ارزیاب ماهر با محدوده سنی بین ۴۰- ۲۳ سال و شامل ۵ زن و ۵ مرد انتخاب شده از بین مسئولین فنی و کارشناسان شرکت پگاه ارومیه انجام گرفت. نمونه‌های پنیر به شکل مکعب‌های ۲۰ گرمی آماده شده و در داخل ظروف پلاستیکی که با کدهای ۳ رقمی کدگذاری شده بودند، قرار گرفتند و در دمای ۲۰- ۱۸ درجه سانتی‌گراد همراه با آب و بیسکوئیت بدون نمک، در اختیار ارزیابان قرار گرفتند. برای جلوگیری از تأثیرگذاری در امتیازدهی یکدیگر، ارزیابان در اتاق‌های جداگانه عمل خوردن و امتیازدهی را انجام دادند. پنیرها از ۰ تا ۱۰ برای خواص شدت طعم، شدت عطر، بافت و پذیرش کلی امتیاز داده شدند. شدت طعم (۰= نارس، ۱۰ = رسیده)، شدت عطر (۰= نارس، ۱۰ = رسیده)، بافت (۰= بسیار بد، ۱۰= بسیار خوب) و پذیرش کلی (۰= بسیار بد، ۱۰= بسیار خوب) (۳).

طرح آماری

طرح آزمایشی اسپلیت پلات در زمان، بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی بود. میانگین‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه[3] مورد مقایسه قرار گرفتند. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد و برای رسم نمودارها از اکسل ۲۰۰۷ استفاده گردید.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی و pH: ترکیب شیمیایی و pH نمونه‌های پنیر فتای فراپالایشی کنترل و آزمایشی در طول ۶۰ روز رسیدن در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که پنیر کنترل و پنیر آزمایشی در طول ۶۰ روز رسیدن از نظر درصد رطوبت، نمک، چربی، پروتئین و pH اختلاف معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) با یکدیگر نداشتند. درصد رطوبت و نمک در هر دو تیمار در طول رسیدن به مقدار جزئی افزایش یافت. تغییرات درصد چربی و پروتئین نیز در هر دو نمونه جزئی و نامنظم بود. pH در هر دو تیمار تا روز ۴۵ کاهش و پس از آن افزایش یافت. تغییرات pH این‌گونه توجیه می شود که در اوایل دوره رسیدن در اثر تخمیر لاکتوز طی پدیده گلیکولیز و تولید اسید لاکتیک و تولید اسیدهای

1- TNBS
2- Beckman Instruments – Ltd, High Wycombe, UK
3- ANOVA

چرب آزاد در اثر لیپولیز، pH نمونه‌های پنیر کاهش یافت. در انتهای دوره رسیدن، کاتابولیسم اسیدهای آمینه تولید شده در اثر پروتئولیز منجر به تولید مواد قلیایی مانند آمونیاک و آمین‌ها شده و کاهش میزان لاکتوز، کاهش باکتری‌های اسید لاکتیک به‌دلیل افزایش غلظت نمک، خنثی شدن اسید لاکتیک به‌صورت لاکتات کلسیم و تجزیه اسید لاکتیک باعث افزایش نسبی pH گردید (۱۴). نتایج حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی با گزارشات سایر محققان مطابقت دارد که بیان کردند اضافه کردن مواد افزودنی به پنیر تأثیر چندانی روی ترکیبات شیمیایی آن ندارد (۲، ۱۰ و ۲۳). دی‌کاگنو و همکاران (۲۰۱۲) از باکتری‌های اسید لاکتیک غیراستارتر تضعیف شده به عنوان کشت‌های الحاقی در تولید پنیر کاسیوکاوالو پوجلیس استفاده نمودند (۲). کرمی و همکاران (۲۰۰۹) لیپاز پیش معدهٔ تجاری (لیپاز گوساله) را برای تسریع لیپولیز به رتنتیت پنیر فتای فراپالایشی اضافه کردند (۱۰) و والاس و فاکس (۱۹۹۶) به دلمه پنیر چدار اسیدهای آمینهٔ آزاد کازئینی افزودند (۲۳). در این کارهای پژوهشی ترکیب شیمیایی پنیرهای آزمایشی و کنترل مشابه بودند.

جدول ۱: ترکیب شیمیایی پنیرهای فتای فراپالایشی یک روزه حاوی اسیدهای آمینه در مقایسه با کنترل

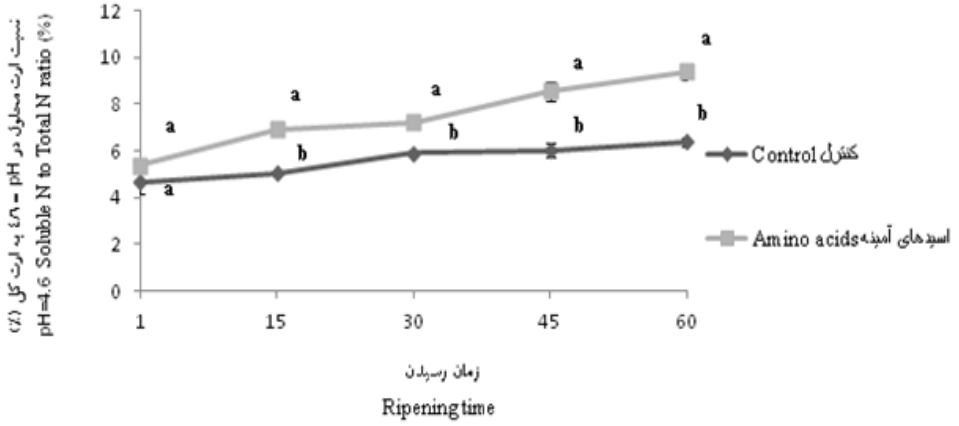
Table 1. Chemical composition of one-day-old UF-Feta cheese containing amino acids compared to the control

pH	پروتئین (٪) Protein (%)	چربی (٪) Fat (%)	نمک (٪) Salt (%)	رطوبت (٪) Moisture (%)	تیمارهای پنیر Cheese treatments
4.71±0.045[a]	13.23 ±0.41[a]	14.80±0.1[a]	2.24±0.01[a]	64.51±0.29[a]	پنیر کنترل Control cheese
4.71±0.05[a]	13.76±0.25[a]	14.33±0.57[a]	2.22±0.01[a]	64.45±0.77[a]	پنیر حاوی اسیدهای آمینه amino acids-added Cheese

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) است.

[a]Different letters in each column indicate significant (P< 0.05) difference.

سطوح ازت محلول در pH= ٤/٦: سطوح ازت محلول در pH=۴/۶ به‌صورت درصدی از ازت کل در طول ۶۰ روز دوره رسیدن در شکل ۱ نشان داده شده است. درصد ازت محلول در pH=۴/۶ به ازت کل یکی از شاخص‌های رسیدن پنیر است و عمدتاً توسط رنت و پلاسمین تولید می‌گردد (۱۷).



شکل ۱- تغییرات ازت محلول به ازت کل در طول ٦٠ روز رسیدن

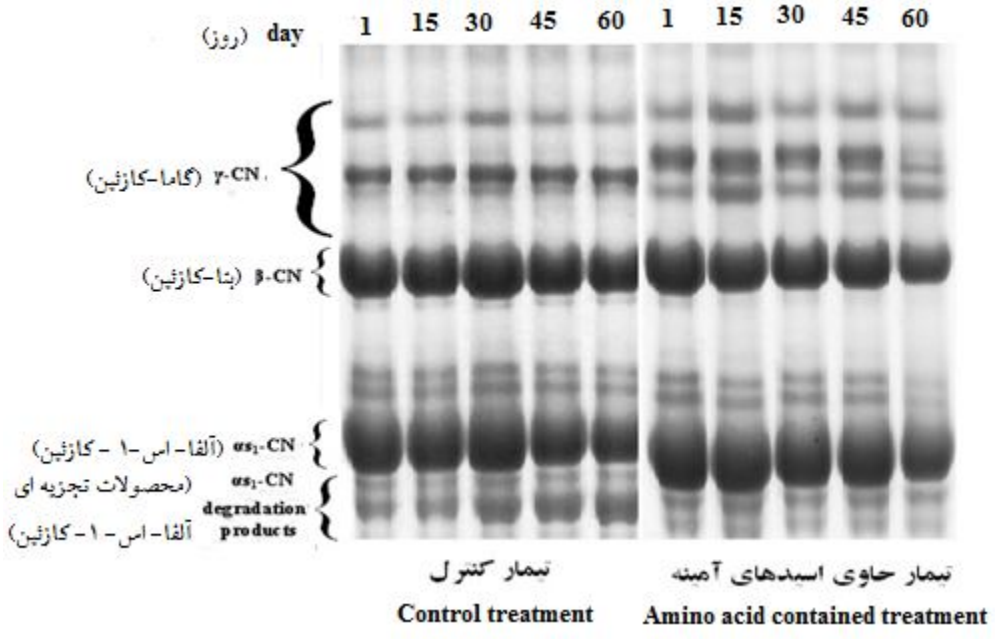
Figure 1. Changes in water soluble nitrogen as a percentage of total nitrogen during 60 days ripening

حروف غیرمشابه در هر روز، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) در همان روز بین تیمار کنترل و تیمار آزمایشی می‌باشد.

[a]Different letters in each day indicate significant (P< 0.05) difference at the same day between control and experimental cheeses.

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود، مقدار ازت محلول در pH = ۴/۶ طی دوره رسیدن، در هر دو پنیر کنترل و آزمایشی افزایش تدریجی داشته است. همچنین در تمام طول رسیدن به جز روز ۱، درصد ازت محلول در پنیر آزمایشی به طور معنی‌داری (P< ۰/۰۵) بیشتر از پنیر کنترل بود. نتایج این آزمایش نشان داد که اسیدهای آمینه آزاد کازئینی افزوده شده، بر روی ازت محلول در pH = ۴/۶ اثر معنی‌دار افزایشی داشته است. با گذشت مدت زمان رسیدن ازت محلول در pH = ۴/۶ در هر دو تیمار افزایش پیدا کرد. میزان افزایش ازت محلول در pH = ۴/۶ در روز ۶۰ ام نسبت به روز اول، در تیمار کنترل ۳۶ درصد و در تیمار حاوی اسیدهای آمینه کازئینی ۷۴/۵ درصد بوده است. در مقایسه با نمونه کنترل میزان ازت محلول در pH = ۴/۶ در روز۶۰ ام رسیدن، در تیمار آزمایشی ۴۷ درصد بیشتر بوده است. نتایج حاصل از ازت محلول در pH = ۴/۶ با نتایج تحقیقات والاس و فاکس (۱۹۹۶) مطابقت دارد (۲۳).

پلی‌آکریل‌آمید ژل الکتروفورز: الکتروفورگرام‌های ژل اوره- پلی‌آکریل‌آمید در پنیر کنترل و آزمایشی در شکل ۲ نشان داده شده است. در پنیرهای رسیده α_{s1}-کازئین و β- کازئین توسط کیموزین و پروتئازهای دیواره سلولی باکتری‌های آغازگر به پپتیدهای متوسط و کوچک هیدرولیز می‌شود. این پپتیدها نیز توسط باکتری‌های آغازگر به پپتیدهای کوچک‌تر و اسیدهای آمینه تجزیه می‌شوند (۲۲). با سپری شدن زمان رسیدن، تجزیه α_{s1}- کازئین افزایش یافت و به α_{s1}-کازئین (۱۹۹ - f۲۴) هیدرولیز شد، در نتیجه باعث کاهش سطح باندهای مربوط به α_{s1}- کازئین و کم‌رنگ شدن آنها در ژل‌های الکتروفورز گردید. اما تفاوت معنی‌داری از نظر میزان هیدرولیز α_{s1}- کازئین بین تیمار کنترل و تیمار آزمایشی تا انتهای دوره رسیدن مشاهده نگردید. سطح باندهای α_{s1}- کازئین از ۱۰۰ درصد در روز اول به ۸۲/۹۳ و ۸۳/۲۶ درصد در روز ۶۰ام به ترتیب در پنیر کنترل و پنیر حاوی اسیدهای آمینه آزاد کازئینی کاهش یافت.



شکل ۲- الکتروفورگرام‌های نمونه‌های پنیر فتای فراپالایشی، تیمار آزمایشی حاوی آمینواسید در مقایسه با نمونه کنترل.

Figure 2. Eelectrophorograms of UF- Feta cheese samples: experimental treatment containing added amino acids compared to the control sample

میـزان هیـدرولیز β- کـازئین در طـول رسـیدن آهسته‌تر بوده و در این پنیر نیز مانند سـایر پنیرهـای آب نمکی به هیدرولیز مقاوم بـود (۱ و ۱۸). غلظـت بالای آب نمک و pH پـایین پنیـر فتـا بـه‌طـور قابـل توجهی از هیدرولیز β- کازئین به وسیله مـاده منعقـد کننده و پلاسمین جلوگیری مـی‌کنـد، ولـی هیـدرولیز α_{s1}- کازئین ممانعت نمـی‌شـود (۱). از طـرف دیگـر پـروتئین‌هـای آب پنیـر موجـود در پنیرهـای فتـای فراپالایشی در غلظت‌های بالا ممکن است از فعالیـت کیموزین، رنت‌های میکربی و احتمالاً سایر پروتئازهـا و پپتیدازها ممانعت کنند (۷). در این مطالعـه تفـاوت معنی‌داری در هیدرولیز β- کازئین بین تیمار آزمایشی و نمونـه کنتـرل مشـاهده نگردیـد. در انتهـای دوره رسیدن β- کازئین هیدرولیز نشده در پنیرهای کنتـرل و حاوی اسیدهای آمینه آزاد به‌ترتیب ۹۰/۲۸ و ۹۰/۶۱ درصد بود.

جدول ۲- میانگین α_{s1} - کازئین و β- کازئین در پنیرفتای فراپالایشی، پنیر کنترل در مقایسه با پنیر حاوی اسیدهای آمینه آزاد کازئینی (بر اساس تحلیل به دست آمده از نرم افزار ایمیج جی)

Table 2. Mean Values of α_{s1}- Casein and β-Casein in UF-Feta Cheese, control sample compared to cheese containing added-free cas- amino acids (On the basis of interpretation obtained from Image J software)

β- کازئین باقی‌مانده (٪) Residual β-casein (%)		α_{s1}- کازئین باقی‌مانده (٪) Residual α_{s1}-casein (%)		زمان (روز) Time (day)
پنیر حاوی اسیدهای آمینه Amino acids contained cheese	پنیر کنترل Control cheese	پنیر حاوی اسیدهای آمینه Amino acids contained cheese	پنیر کنترل Control cheese	
100	100	100	100	1
97.02[a]	97.69[a]	93.95[a]	94.23[a]	15
96.48[a]	96.82[a]	93.90[a]	93.62[a]	30
93.34[a]	93.01[a]	90.42[a]	90.76[a]	45
90.61[a]	90.28[a]	83.26[a]	82.93[a]	60

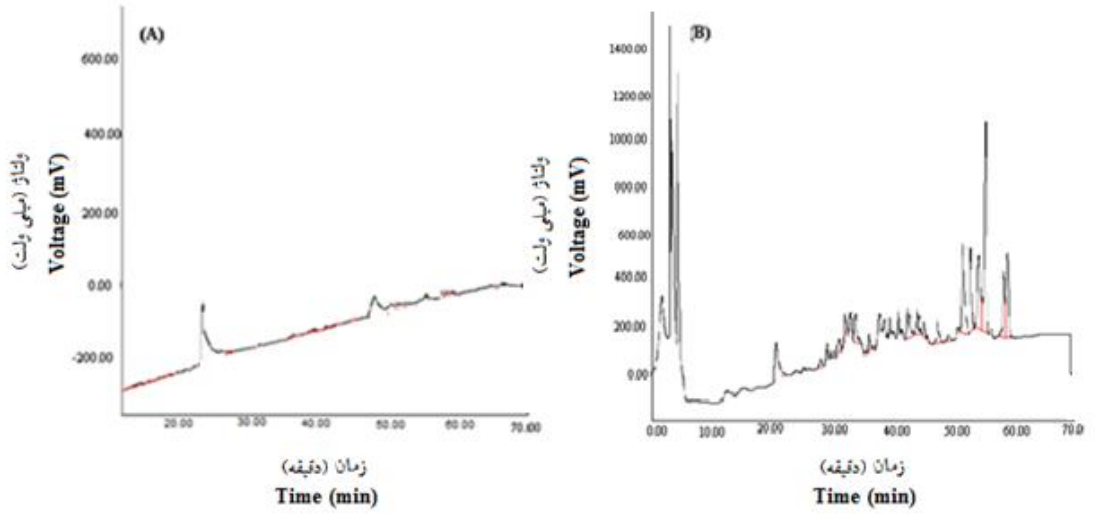
حروف غیر مشابه در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) بین تیمار کنترل و تیمار آزمایشی می باشد.

[a]Different letters in the same row indicate significant difference (P< 0.05) between control and experimental treatments.

مطـابق گـزارش والاس و فـاکس (۱۹۹۶) کـه اسیدهای آمینه کازئینی را به دلمه پنیـر چـدار افـزوده بودند، الکتروفورز بر روی ژل پلـی‌اکریـل‌آمیـد- اوره هیچ تفاوتی را چه کمی و چه کیفی، بین پنیر کنترل و آزمایشی نشان نداد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (۲۳).

پروفیل‌های کروماتوگرافی فاز معکوس جزء محلول در pH =٤/٦: کروماتوگرام‌هـای RP-HPLC جـزء محلول در pH=۴/۶ نمونه‌های پنیر فتـای فراپالایشـی در روز ۶۰ ام رسـیدن در شـکل ۳ نشـان داده شـده است. پروفیل‌های کروماتوگرافی فـاز معکـوس جـزء محلول در pH=۴/۶ الگوهای پروتئولیتیک مختلفی را در نمونه‌های پنیر نشان دادند. در تیمار کنتـرل (A)، ۷ پیک عمده در زمان ماند ۳/۴ -۲/۴، یک پیک متوسط در زمـان مانـد ۴۷ دقیقـه و دو پیـک نسـبتاً بلنـد در زمان‌های ماند ۲۳ و ۶۵ دقیقه، مشاهده گردید. به طور کلی پیک‌های اولیه در کروماتوگرام‌هـا عمـدتاً شـامل پپتیـدهای هیـدروفیل بـا وزن مولکـولی پـایین و اسیدهای آمینه و پیک‌هایی کـه در زمـان‌هـای مانـد دیـرتر مشاهـده مـی گردنـد، شـامل پپتیـدهای هیدروفوب هستند. نسـبت پپتیـدهای هیـدروفیل بـه هیدروفوب در تیمار کنترل (A)، ۰/۸۵ بـود. بـه نظـر می‌رسد، استارترها در تولید پپتیدهای هیدروفیل مـؤثر هستند (۶). در تیمار آزمایشی (B) حـاوی اسـیدهای

آمینه آزاد کازئینی پیک‌های کوتاهی در زمان‌های مانـد ۲۰، ۳۲، ۳۳ و ۴۲ مشاهده گردید. این پیک‌ها احتمالاً مربوط به پپتیدهای کوچک هیدورفیل بـوده اسـت. ۶ پیـک بلنـد نیـز در زمـان‌هـای مانـد ۵۱ و ۵۸ دقیقـه تشخیص داده شد. بلندترین پیک مربوط به زمان ماند ۵۵ دقیقه بود. سایر پیک‌های کوچک نیز در تمام زمان ماند قابل تشخیص بود. در این تیمار نسبت پپتیـدهای هیدروفیل به هیدروفوب ۱/۲۳ بـود. اسـیدهای آمینـه اضافه شده به رتنتیت، احتمـالاً پروتئـولیز ثانویـه را از طریق افـزایش رشـد آغازگرهـا و در نتیجـه افـزایش فعالیت آنزیمی آنها در شکسـتن پپتیـدهای متوسـط و تولید پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد تحریک نمود. نتایج حاصل از پروفیـل‌هـای پپتیـدی بـا نتـایج والاس و فـاکس (۱۹۹۶) مطابـت دارد. ایـن محققـان گزارش کردند کروماتوگرافی فاز معکوس نمونه‌هـای پنیـر چـدار نشـان داد کـه پنیـر کنتـرل و پنیـر دارای بالاترین غلظت اسیدهای آمینهٔ آزاد، محتـوی سـطوح بسیار پایین‌تری از پپتیدها نسبت بـه پنیرهـای حـاوی سطوح متوسط اسیدهای آمینهٔ آزاد بودنـد کـه بیـانگر این نکته است که در غلظت‌های پـایین‌تـر، اسـیدهای آمینه نقش فعال‌کننـدگی پروتئـولیز و در غلظـت‌هـای بالاتر نقـش مهـارکننـدگی پروتئـولیز را دارنـد (۲۳).



شکل ۳- پروفیل‌های کروماتوگرافی فاز معکوس جزء محلول در pH =٤/٦ نمونه‌های پنیر فتای فراپالایشی، تیمار کنترل (A)، تیمار حاوی اسیدهای آمینه آزاد (B).

Figure 3. RP-HPLC chromatogram profiles of pH 4.6-soluble fractions of experimental UF –Feta cheese samples: Control (A), sample containing added-Free amino acids (B).

اسـیدهای آمینـه آزاد کـل و اختصاصـی: غلظـت اسیدهای آمینه آزاد کل (بر حسب میلی‌گرم گلایسـین در گرم پنیـر)، در جـدول ۳ نشـان داده شـده اسـت. همانطور که از جدول قابـل مشـاهده اسـت، غلظـت اسـیدهای آمینـه آزاد کـل در هـر دو پنیـر کنتـرل و آزمایشـی در طـول ۶۰ روز دوره رسـیدن تـدریجاً افزایش پیدا کرد. پنیر آزمایشی بـه طـور معنـی داری ($P<۰/۰۵$) حاوی اسیدهای آمینه آزاد بیشتری در طول دوره رسیدن بود. در پایان دوره رسـیدن غلظـت‌هـای اسیدهای آمینه آزاد کل در پنیر کنترل و تیمار آزمایشی ۰/۵۴ و ۰/۸۱ (میلی‌گرم گلایسین در گرم پنیر) بود که در تیمار آزمایشی به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بالاتر بود.

جدول ۳- میانگین اسیدهای آمینه آزاد کل (میلی‌گرم گلایسین در گرم نمونه) در پنیرفتای فراپالایشی: پنیر کنترل و پنیر حاوی اسیدهای آمینه آزاد در طول ۶۰ روز رسیدن

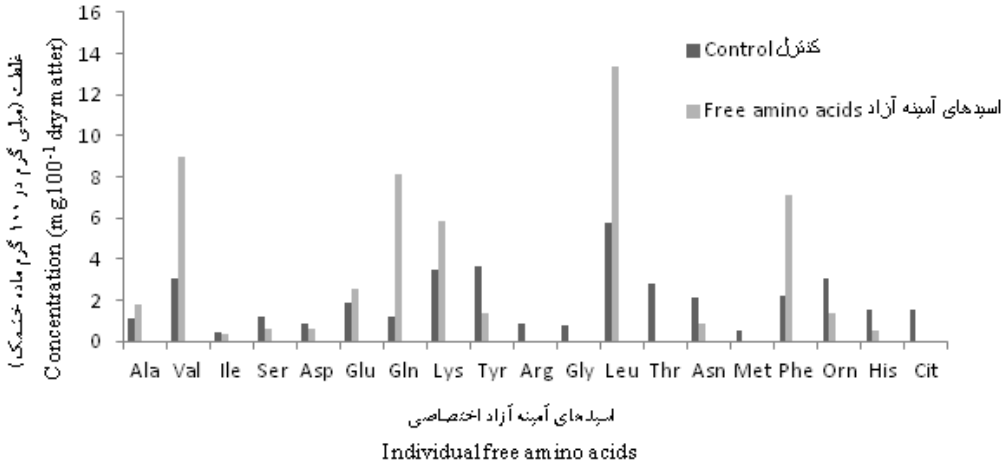
Table 3. Mean value of total free amino acids (mg Glycine g^{-1} sample) in UF-Feta cheese: cheeses containg added-free amino acids and control smple during 60 days ripening

روز۶۰ 60 days	روز ۴۵ 45 days	روز ۳۰ 30 days	روز ۱۵ 15 days	نمونه‌های پنیر Cheese samples
0.54±0.066[b]	0.36±0.042[b]	0.22±0.041[b]	0.1±0.005[b]	پنیر کنترل Control cheese
0.81±0.040[a]	0.64±0.035[a]	0.39±0.003[a]	0.35±0.007[a]	پنیر حاوی اسیدهای آمینه cheese with added amino acids

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) بین تیمار کنترل و تیمار آزمایشی در همان روز می‌باشد.

[a] Different letters in each column, at the same day, indicate significant difference (P< 0.05) between the samples.

در تیمار کنترل لوسین و به مقدار کم‌تر والین، لیزین و تیروزین اسیدهای آمینه آزاد غالب بودند (شکل ۴). در پنیرهای فراپالایشی، اسیدهای آمینه آزاد شاخص، لوسین، فنیل آلانین، والین و هیستیدین هستند (۷). در تیمار حاوی اسیدهای آمینه آزاد کازئینی اسیدهای آمینه غالب شامل لیزین، لوسین، گلوتامین، والین و فنیل آلانین بودند. در این تیمار با وجود این که اسیدهای آمینه آزاد اسید گلوتامیک، والین، لوسین، فنیل آلانین و لیزین به رتنتیت اضافه شده بود، سطوح این اسیدهای آمینه پایین‌تر از حد افزوده شده، بود. علت این امر به کاتابولیزه شدن سریع این اسیدهای آمینه به سایر محصولات بیوشیمیایی توسط میکروفلورای پنیر نسبت داده می‌شود (۲۳). سایر محققان پی بردند که لوسین، گلوتامین، والین و لیزین اسیدهای آزاد عمده در پنیر تولید شده از شیر گاو هستند (۱ و ۱۱).



شکل ٤- سطوح اسیدهای آمینه آزاد اختصاصی در نمونه‌های ٦٠ روزه، پنیر کنترل و پنیر حاوی اسیدهای آمینه آزاد

Figure 4. The levels of individual free amino acids in 60-day-old samples; cheeses containg added-free amino acids and control smple

آنالیز حسی: نتایج آنالیز حسی شامل طعم (تلخ، شوری و تندی)، عطر، بافت و پذیرش کلی تیمار کنترل و تیمار حاوی اسیدهای آمینه آزاد در روزهای ۳۰ و ۶۰ ام رسیدن در جدول ۵ آورده شده است. نمودار مربوط به روز ۶۰ ام رسیدن نیز در شکل ۵ نشان داده شده است. بین دو تیمار از نظر ویژگی‌های

حسی تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) مشاهده گردید. در هر دو روز ۳۰ ام و ۶۰ ام دوره رسیدن از نظر طعم و عطر و پذیرش کلی، تیمار حاوی اسیدهای آمینه آزاد کازئینی اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) با تیمار کنترل داشت و امتیازات بیشتر طعم، عطر و پذیرش کلی را به خود اختصاص داد که به غلظت‌های بالاتر معنی‌دار (P< ۰/۰۵) پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد در اثر شدت بیشتر پروتئولیز ثانویه در پنیر آزمایشی نسبت داده شد (۱۵). اسیدهای آمینه آزاد پیش‌ساز مواد طعم‌دار در پنیر می‌باشند. از نظر بافت با وجود اینکه تیمار آزمایشی امتیاز بیشتری را کسب کرد، ولی اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار مشاهده نگردید. والاس و فاکس (۱۹۹۶) نتیجه‌گیری کردند که در ارزیابی حسی، نمونه‌های پنیر چدار حاوی سطوح متوسطی از اسیدهای آمینهٔ آزاد امتیازات بالاتر عطر و طعم و پذیرش کلی را نسبت به نمونه کنترل و نمونه‌های حاوی سطوح بالاتر اسیدهای آمینه کسب کردند که به تحریک پروتئولیز به خصوص پروتئولیز ثانویه که شامل شکستن پپتیدهای کوچک به اسیدهای آمینه آزاد می‌باشد، نسبت داده شد (۲۳).

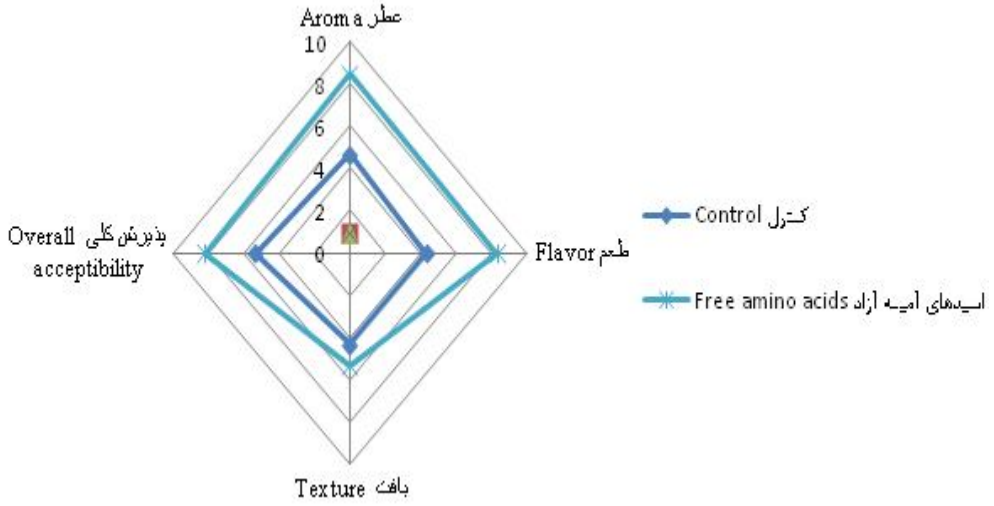
جدول ۵- ویژگی‌های حسی تیمار کنترل و آزمایشی پنیر فتای فراپالایشی در روز ۳۰ و ٦٠ ام دوره رسیدن

Table 5. Sensory properties of cheeses containg added-free amino acids and control smple at 30 and 60 days of ripening period

زمان (روز) Time (day)	تیمارهای پنیر Cheese treatments	ویژگی‌های حسی Sensory properties			
		طعم (تلخی، شوری، تندی) Flavor (bitterness, saltiness, rancidity)	عطر Aroma	بافت Texture	پذیرش کلی Overall acceptability
30	کنترل Control	4.67±0.57[b]	4.67±0.57[b]	4.67±0.57[a]	5.33±0.57[b]
	حاوی اسیدهای آمینه with added amino acids	6.83±0.28[a]	7.33±0.57[a]	5.00±0.00[a]	6.67±0.57[a]
60	کنترل Control	4.66±0.57[b]	4.33±0.57[b]	4.33±0.57[a]	5.33±0.57[b]
	حاوی اسیدهای آمینه with added amino acids	8.50±0.50[a]	8.33±0.57[a]	5.33±0.57[a]	8.16±0.28[a]

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P< ۰/۰۵) بین دو تیمار در همان روز می‌باشد.

[a,b]Different letters in each column, indicate significant difference (P< 0.05) between two samples at the same day.



شکل ۵- ارزیابی حسی در نمونه پنیرهای فتای فراپالایشی کنترل و حاوی اسیدهای آمینه آزاد کازئینی در روز ۶۰ ام رسیدن

Figure 5. Sensory evaluation of UF-Feta cheeses containg added-free amino acids and control smple at 60 days

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می‌توان بیان نمود که استفاده از اسیدهای آمینه آزاد کازئینی در تسریع رسیدن و بهبود و توسعه عطر و طعم مؤثر واقع گردید. پیشنهاد می‌گردد، جهت حصول بهترین نتیجه، سطوح مختلف اسیدهای آمینه آزاد و در مقیاس صنعتی در تولید این نوع پنیر مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

1. Alichanidis, E., Anifantakis, E. M., Polychroniadou, A., and Nanou, M. 1984. Suitability of some microbial coagulants for Feta cheese manufacture. Journal of Dairy Research. 51:141–147.
2. Di Cagno, R., De Pasquale, I., De Angelis, M., and Gobbetti, M. 2012. Accelerated ripening of Caciocavallo Pugliese cheese with attenuated adjuncts of selected nonstarter lactobacilli. Journal of Dairy Science. 95: 4784-4795.
3. Di Cagno, R., De Pasquale, I., De Angelis, M., Buchin, S., Calasso, M., Fox, P.F., and Gobbetti, M. 2011. Manufacture of Italian Caciotta-type cheeses with adjuncts and attenuated adjuncts of selected non-starter lactobacilli. International Dairy Journal. 21: 245-260.
4. Fox, P.F., O'Connor, T.P., McSweeney, P.L.H., Guinee, T.P., and O'Brien, N.M. 1996. Cheese: physical, biochemical and nutritional aspects. Advances in Food and Nutrition Research. 39: 164–328.
5. Gripon, J-C., Monnet, V., Lamberet, G., and Desmaze, M.J. 1991. Microbial enzymes in cheese ripening. In Fox, P.F. (Eds.), Food Enzymology, Elsevier Applied Science, London. Vol. 1, Pp: 131-169.
6. Hayaloglu, A. A., Guven, M., Fox, P.F., and McSweeney, P.L.H. 2005. Influences of starters on chemical, and sensory changes in Turkish White-brined cheese during ripening. Journal of Dairy Science. 88: 3460–3474.
7. Hesari, J., Ehsani, M.R., Khosroshahi, A., and MCSweeney, P. L. H. 2006. Contribution of rennet and starter to proteolysis in Iranian UF white cheese. Lait. 86: 291-302.
8. IDF.1993. Determination of nitrogen content, standard 20B. Brussels, Belgium: International Dairy Fedration.

9. Kailasapathy, K., and Lam, S.H. 2005. Application of encapsulated enzymes to accelerate cheese ripening. International Dairy Journal. 15: 929–939.
10. Karami, M., Ehsani, M.R., Mousavi, S.M., Rezaei, K., and Safari, M. 2009. Micro structural properties of fat during the accelerated ripening of ultra filtered-Feta cheese. Food Chemistry. 113: 424-434.
11. Katsiari, M.C., Alichanidis, E., Voutsinas, L.P., and Roussis, I.G. 2000. Proteolysis in reduced sodium Feta cheese made by partial substitution of NaCl by KCl. International Dairy Journal. 10: 635–646.
12. Kuchroo, C.N., and Fox, P.F. 1982. Soluble nitrogen in cheddar cheese: Comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft. 37: 331–335.
13. Marshall, T.R. 2005. Standard methods for the examination of dairy products. Washington, DC: Am, Public Health Assoc, 450p.
14. McSweeney, P.L.H. 2004. Biochemistry of cheese ripening: Introduction and overview. P 347-360, In PF. Fox (eds), Cheese: chemistry, physics and microbiology, Third edition, general aspects, Chapman and Hall, London.
15. Miocinovic, J., Radulovic, Z., Paunovic, P., Miloradovic, Z., Trpkovic, G., Radovanovic, M., and Pudja, P. 2014. Properties of low-fat ultra filtered cheeses produced with probiotic bacteria. Archives of Biological Sciences Belgrade. 66(1): 65-73.
16. Mistry, V. V., and Maubios, J. L. 2004. Application of membrane separation technology to cheese production. P 261-258 In: Fox, P.F. (third Eds.), Cheese: Chemistry, physics and microbiology, Chapman and Hall, London.
17. Molina, E., Ramos, M., Alonso, L., and Lopez-Fandino, R.1999. Contribution of low molecular weight water soluble compounds to the taste of cheeses made of cows, ewe's and goat's milk. International Dairy Journal. 9: 613-621.
18. Romeih, E.A., Michaelidou, A., Biliaderis, C.G., and Zerfiridis, G.K. 2002. Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: Chemical, physical and sensory attributes. International Dairy Journal. 12: 525–540.
19. Saboya, L.V., Goudédranche, H., Maubois, J.L., Lerayer, A.L.S., and Lortal, S. 2001. Impact of broken cells of lactococci and propionibacteria on the ripening of Saint Paulin UF cheeses: extent of proteolysis and GC–MS profiles. Lait. 81: 699–713.
20. Shalabi, S.I., and Fox, P.F. 1987. Electrophoretic analysis of cheese, comparison of methods. Irish Journal of Food Science and Technology. 11:135-151.
21. Sousa, M.J., and McSweeney, P.L.H. 2001. Studies on the ripening of Cooleeney, an Irish farmhouse Camembert-type cheese. Irish Journal of Agricultural and Food Research. 40: 83–95.
22. Vanden Berg, G., and Exterkate, F. A. 1993. Technological parameters involved in cheese ripening. International Dairy Journal. 3: 485–507.
23. Wallace, J.M., and Fox, P.F. 1996. Effect of adding free amino acids to Cheddar cheese curd on proteolysis, flavour and texture development. International Dairy Journal. 7:157-167.

EJFPP, Vol. 9 (2): 1-16
http://ejfpp.gau.ac.ir

Effect of free Cas-amino acids addition on proteolysis and sensory properties of UF-Feta cheese

R. Nezhad Razmjoui Akhgar[1,2*], J. Hesari[3] and S. Azadmard Damirchi[3]
[1]Ph.D. graduate of Food Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Assistant Professor, West Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, Uremia, Iran
[3]Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
Received: 2015/12/29 ; Accepted: 2016/12/03

Abstract

Background and objectives: In spite of high advantages of UF-Feta cheeses, especially their high yield, ripening and aroma and flavor development in theses cheeses occurs more slowly than traditional cheeses. Cheese ripening is a complex and inevitable process to obtain a product with unique organoleptic and textural characteristics. During the ripening, the cheese is subjected to changes, including glycolysis, lipolysis and proteolysis. Proteolysis is the most important and complex event that occurs in a great number of cheese varieties during ripening and strongly affects the sensory properties of the cheese. Therefore, in this study the effect of cas-amino acids addition on acceleration of proteolysis and flavor and aroma development in these cheeses during 60 days ripening period was investigated.

Materials and methods: Cheese samples were prepared in 3 trials on 3 consecutive days. Control treatment was produced according to the plant conventional method. In experimental treatment, in addition to starter and rennet, cas-amino acids were added into the retentate. Chemical composition, pH 4.6-soluble nitrogen, urea-PAGE, peptide profiles, total and individual amino acids and sensory properties of cheese samples during 60 days ripening period were evaluated.

Results: Results showed that there are no significant differences in terms of chemical composition and pH between one-day-old experimental and control cheeses. Soluble nitrogen in pH=4.6 was significantly ($P< 0.05$) higher during whole ripening period except for first day in treatment contained free amino acids. Polyacrylamide gel electrophoresis of the pH 4.6-insoluble fraction showed no significant difference in terms of the hydrolysis rate of αs_1-casein between control and experimental treatments during ripening. Rate of β-casein hydrolysis was more slowly in both treatments during ripening. In RP-HPLC chromatograms of the pH 4.6-soluble fractions of 60-day-old samples, the ratio of hydrophilic to hydrophobic peptides was higher in experimental cheese than that of control cheese. In experimental treatment, the concentrations of total free amino acids were significantly ($P<0.05$) higher in whole ripening period. Levels of index individual free amino acids also were considerably higher in experimental cheese at 60 day. In terms of sensory characteristics, free cas-amino acids containing treatment, had a significant difference ($P<0.05$) with the control sample, and obtained more scores for flavor, aroma and overall acceptability.

Conclusion: Generally, the addition of free cas-amino acids into retentate had positive effect on the proteolysis acceleration and as a result, ripening and flavor and aroma improvement as well as overall acceptability of UF-Feta cheese.

***Keywords*:** Free Cas-amino acids, Proteolysis, UF-Feta cheese

*Corresponding author; razmjooi@yahoo.com