



## Evaluation of quality characteristics of white brine cheese containing *Lactobacillus rhamnosus* strain

Roham Jalalvand<sup>1</sup>, Alireza Shahab Lavasani<sup>1\*</sup>, Nazanin Zand<sup>1</sup>, Bijan Khorshidpour Nobandegani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Food Science and Technology, VaP.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received Date:2025.04.21 Accepted Date:2025.07.09

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the protective effect of *Lactobacillus rhamnosus* on microbial contamination of white brine cheeses and to compare it with samples subjected to heat treatment through pasteurization. Treatments included white brine cheese prepared from raw and pasteurized milk both without *Lactobacillus rhamnosus* and containing indigenous and commercial strains of *Lactobacillus rhamnosus* GG. Experiments included measurement of moisture, salt and protein percentages, evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* viability, enumeration of mold and yeast, coliforms and total count of microorganisms Log CFU/g as well as sensory evaluation of color and overall acceptance during the 1, 30 and 60 days of the storage. Moisture and salt percentages in all treatments increased over time while protein percentage, pH and viability of *Lactobacillus rhamnosus* decreased during the 60-day period. No colonies were detected in the total count of microorganisms, molds, yeasts, and coliforms during the 60 days of storage at 4 °C refrigerator temperature. No significant differences were observed in terms of color and overall acceptance of different treatments,  $p>0.05$ . Based on physicochemical and sensory tests, treatments T2 and T3 (white brine cheese prepared from pasteurized milk without *Lactobacillus rhamnosus* and containing  $10^8$  CFU/g of *Lactobacillus rhamnosus* GG strain from Sacco Company) were recognized as superior treatments. In terms of the protective effect of *Lactobacillus rhamnosus*, treatments T5 and T6 (white brine cheese prepared from pasteurized milk with  $10^8$  CFU/g of *Lactobacillus rhamnosus* GG from Sacco Company and also the native strain of *Lactobacillus rhamnosus* GG), were the best among all treatments.

**Keywords:** White brine cheese, *Lactobacillus rhamnosus*, Physicochemical properties, Microbial properties, Sensory properties

\* alireza\_shahablavasani@iau.ac.ir

## EXTENDED ABSTRACT

**Introduction:** White brine cheeses are the most popular type of cheese made in the northeastern Mediterranean and Balkan regions. These cheeses are made from sheep, buffalo, cow or goat milk or a mixture of these milks. During the biochemical ripening of cheese, large amounts of degradation products are formed that are easily absorbed by the body. Technological conditions and indicators that strongly affect the formation of consistency, texture, aroma and taste of cheese are discussed. The safety and microbiological quality of white brine cheese are affected by other factors such as milk quality, the use of pasteurization or thermization, technological indicators and the level of microbial contamination occurring during the cheese production and storage stages.

**Objective:** To evaluate the protective effect of *Lactobacillus rhamnosus* on the microbial contamination of white brine cheeses and compare it with samples subjected to the thermal treatment of pasteurization.

**Materials and Methods:** The treatments studied included T1 (Control): White brine cheese made from raw milk without *Lactobacillus rhamnosus* strain; T2: White brine cheese made from pasteurized milk without *Lactobacillus rhamnosus* strain; T3: White brine cheese made from raw milk with  $10^8$  CFU/g of *Lactobacillus rhamnosus* GG strain from Saco Company; T4: White brine cheese made from raw milk with  $10^8$  CFU/g of native *Lactobacillus rhamnosus* GG strain; T5: White brine cheese made from pasteurized milk with  $10^8$  CFU/g of *Lactobacillus rhamnosus* GG strain from Sacco Company; T6: White brine cheese made from pasteurized milk with  $10^8$  CFU/g of native *Lactobacillus rhamnosus* GG strain. For each treatment, three replications were considered in three-time intervals of the first, thirtieth, and sixtieth days.

**Results and discussion:** The moisture and salt percentages of white brine cheese prepared with *Lactobacillus rhamnosus* increased with time in all treatments. The protein percentage, pH and viability of *Lactobacillus rhamnosus* in white brine cheese prepared with *Lactobacillus rhamnosus* treatments decreased over a period of sixty days. No colonies were detected in the search and enumeration of molds and yeasts, coliforms and total microbial counts of fresh white brine cheeses containing *Lactobacillus rhamnosus* during a 60-day storage period at a refrigerated temperature of 4 °C. *Lactobacillus rhamnosus* had no negative effect on the physicochemical, textural and sensory characteristics of the product. In terms of sensory color score and overall acceptance, no significant difference was observed between the different treatments ( $p>0.05$ ). Based on physicochemical tests, the closest treatment to the control treatment, T2 (white brine cheese prepared from pasteurized milk without *Lactobacillus rhamnosus* strain), was recognized as the superior treatment. In terms of sensory characteristics, the closest treatment to the control treatment was T3, and in terms of the most important characteristic, namely the protective effect of *Lactobacillus* on shelf life quality and microbiological evaluation, T5 (white brine cheese prepared from pasteurized milk with  $10^8$  CFU/g of *Lactobacillus rhamnosus* GG strain from Saco Company) and T6 (white brine cheese prepared from pasteurized milk with  $10^8$  CFU/g of indigenous *Lactobacillus rhamnosus* GG strain) were recognized as the superior treatments. Overall, in all treatments containing *Lactobacillus rhamnosus*, the protective effect against microorganisms that cause spoilage and disease was more evident. However, in the treatments prepared from pasteurized milk, the effect of the thermal process on microbial quality was significant ( $p<0.05$ ) and the commercial strain of *Lactobacillus rhamnosus* GG from Sacco Company used in treatments prepared from pasteurized milk was selected as the best treatment.



## ارزیابی ویژگی های کیفی پنیر سفید آب نمکی حاوی سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس

رهام جلالوند<sup>۱</sup>، علیرضا شهاب لواسانی<sup>۱\*</sup>، نازنین زند<sup>۱</sup>، بیژن خورشیدپور نوبندگانی

<sup>۱</sup> گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۱۸

### چکیده

هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر حفاظتی ایجاد شده توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر آلودگی میکروبی پنیرهای سفید آب نمکی و مقایسه آن با نمونه های تحت فراوری حرارتی پاستوریزاسیون می باشد. تیمارها شامل پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر خام و پاستوریزه فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس و نیز حاوی سویه های بومی و تجاری لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG می باشند. آزمایشات شامل اندازه گیری درصد های رطوبت، نمک و پروتئین، ارزیابی قابلیت زندمانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس، جستجو و شمارش کپک و مخمر، کلی فرم و شمارش کلی میکروارگانیزم ها Log CFU/g و نیز ارزیابی حسی رنگ و پذیرش کلی در طی روزهای یکم، سی ام و شصت ام از دوره ماندگاری می باشد. درصد های رطوبت و نمک در همه تیمارها با گذشت زمان افزایش و درصد پروتئین، pH و میزان قابلیت زنده ماننی لاکتوباسیلوس رامنوسوس در طی یک دوره شصت روزه کاهش یافت. در شمارش کلی میکروارگانیزم ها، کپک و مخمر و کلی فرم ها در طی نگهداری ۶۰ روزه در دمای یخچال ۴°C هیچ پرگنه ای شناسایی نشد. از نظر امتیاز حسی رنگ و پذیرش کلی تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری  $p > 0.05$  مشاهده نشد. بر مبنای آزمون های فیزیکوشیمیایی و حسی تیمار T2 و T3 به ترتیب (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر پاستوریزه فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس و دارای  $10^8$  CFU/g سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو) و از نظر تاثیر حفاظتی لاکتوباسیلوس رامنوسوس تیمار T5 و T6 به ترتیب پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر پاستوریزه دارای  $10^8$  CFU/g سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو و نیز سویه بومی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG، تیمار برتر شناخته شدند.

**کلید واژه ها:** پنیر سفید آب نمکی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، ویژگی های فیزیکوشیمیایی، ویژگی های میکروبی، ویژگی

حسی

\* : alireza\_shahablavasani@iau.ac.ir

پارامترهای تکنولوژیکی مختلف، مقدار و نوع آلودگی که در حین ساخت و نگهداری در پنیر رخ می دهد. پنیرهای سفید آب نمکی برای مدت طولانی در آب نمک رسانیده می شوند و بنابراین میکروفلورای غالب کمک قابل توجهی به فرایند رسانیدن می کند و تا یک حدی کیفیت محصول نهایی را تنظیم می کنند علاوه بر این ایمنی و مدت ماندگاری محصول نهایی به مقدار زیاد به میکروفلورای موجود وابسته است (۱). باکتری های اسپوردار متعلق به رده فیرمیکوت ها<sup>۷</sup> و شامل بیش از ۲۰۰ گونه هستند. باسیلوس ها (هوازی) و کلاستریدیوم ها (بی هوازی) غالب ترین و شایع ترین سویه ها در صنایع لبنی هستند. این باکتری ها کیفیت، ایمنی غذایی و اقتصاد (عرضه و تقاضا) را به وسیله قابلیت ایجاد فساد و به میزان کمتر قابلیت ایجاد بیماری تحت تاثیر قرار می دهند که در برابر شرایط محیطی سخت مانند فشار، گرما، سرما و تابش UV با تشکیل اسپور مقاومت می کنند (۲). باسیلوس (باسیلوس سابیلیس<sup>۸</sup>، باسیلوس مگاتریوم<sup>۹</sup>، باسیلوس لیچنیفرمیس<sup>۱۰</sup>، باسیلوس آمیلولیکوئی فاسینس<sup>۱۱</sup>) دارای قابلیت تولید آمین های بیوژنیک هستند. آمین ها سمی بوده و تشکیل آنها در پنیر با در دسترس بودن اسیدهای آمینه آزاد پس از پروتئولیز و وجود میکروارگانیسم های دکربوکیلاز مثبت تقویت می شود.

تعداد قابل قبول باسیلوس سرئوس در شیر خشک بین ۵۰-۵۰۰ CFU/g می باشد. در مورد شیر تخمیر شده مشکل اصلی تشکیل گاز و عیوب بافتی ناشی از پروتئولیز می باشد. از معایب مهم دیگر می توان به بادکردگی دیررس ناشی از اسپورهای کلاستریدیوم در پنیرهای سخت و نیمه سخت نام برد (۱). اگر چه میکروفلورای ثانویه ممکن است کمک مفیدی به توسعه طعم پنیر کنند. گاهی اوقات برخی از جنس های همان

## مقدمه

پنیرهای سفید آب نمکی محبوب ترین نوع پنیرهای ساخته شده در شمال شرقی مدیترانه و مناطق بالکان هستند. این پنیرها از شیر گوسفند، گاو میش، گاو یا بز و یا مخلوطی از این شیرها ساخته می شوند. پنیر فتا<sup>۱</sup> (در یونان)، دومیاطی<sup>۲</sup> (در مصر)، پنیر بیاض<sup>۳</sup> (در ترکیه) و پنیر هالومی<sup>۴</sup> (در قبرس) از معروفترین پنیرهای سفید آب نمکی می باشند. انواع دیگری از پنیرهای سفید آب نمکی کمتر شناخته شده از قبیل باتروس<sup>۵</sup> در یونان و برینزا<sup>۶</sup> در بلغارستان می باشند. این احتمال وجود دارد که منشاء این پنیرها یکسان باشد و اینکه با گذشت زمان بر طبق تقاضای مردم و شرایط آب و هوایی هر کشور متمایز شده اند. اغلب این پنیرها به صورت خشک نمک زنی می شوند و پس از این که فرایند رسیدن را طی نمودند در آب نمک نگهداری می شوند. به طور سنتی این پنیرها از شیرخام ساخته می شوند و سازندگان پنیر به میکروفلورای طبیعی شیر اتکا داشتند که عمدتاً باکتری های لاکتیکی بودند و عامل اسیدی کردن شیر محسوب می شوند. امروزه تقاضا برای پنیرهای سفید آب نمکی بشدت بالا رفته است و مقادیر زیادی پنیر سفید آب نمکی به وسیله واحدهای لبنی بزرگ تولید می شود. شیر گاو و یا مخلوط شیر گاو و گوسفند معمولاً به صورت پاستوریزه مورد استفاده قرار می گیرند و افزودن کشت های آغازگر برای تولید پنیر سفید آب نمکی یک مرحله رایج می باشد. کیفیت میکروبی پنیرهای سفید آب نمکی به وسیله عوامل مختلفی تحت تاثیر قرار می گیرد از جمله کیفیت شیر، استفاده از پاستوریزاسیون یا ترمیزاسیون،

<sup>7</sup> Firmicutes

<sup>8</sup> B. subtilis

<sup>9</sup> B. megaterium

<sup>10</sup> B. licheniformis

<sup>11</sup> B. amyloliquefaciens

<sup>1</sup> Feta Cheese

<sup>2</sup> Domiati Cheese

<sup>3</sup> Beyaz Peynir

<sup>4</sup> Halloumi Cheese

<sup>5</sup> Batzos Cheese

<sup>6</sup> Brinza Cheese

تشکیل قوام، بافت، عطر و بو و طعم پنیر را تحت تاثیر قرار می‌دهند. عواملی نظیر دما، رطوبت، بهداشت، فراوری، شرایط نگهداری پنیر و نیز سایر عوامل ویژگی محصول نهایی را سبب می‌گردند (۴). کیفیت ایمنی و میکروبیولوژیکی پنیر سفید آب نمکی به وسیله عوامل دیگری از جمله کیفیت شیر، بکار بردن پاستوریزاسیون و یا ترمیزاسیون، شاخص‌های تکنولوژیکی و نیز سطح آلودگی میکروبی رخ داده در طی مراحل تولید و نگهداری پنیر تحت تاثیر قرار می‌گیرد. پاستوریزاسیون شیر مورد استفاده برای تولید پنیر به طور گسترده‌ای فقدان باکتری‌های بیماری‌زا سل، بروسلاز، سالمونلوز، لیستریوز و سایر عفونت‌های مرتبط با مصرف لبنیات را تضمین می‌کند (۵). تهدیدهای اولیه و ثانویه آلودگی میکروبی شیرخام با انواع میکروارگانیسم‌های مرتبط با محیط و انسان رخ می‌دهد (۴). شیر معمولاً در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۵-۱۵ ثانیه به دلیل ایمنی میکروبی پاستوریزه می‌شود. فرایند پاستوریزاسیون در دمای بالای  $72^{\circ}\text{C}$  در تولید پنیر ترجیح داده نمی‌شود، زیرا دمای بالا تشکیل لخته و آب اندازی نامطلوب را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳). هنگامی که پاستوریزاسیون در دمای بالای  $70^{\circ}\text{C}$  انجام می‌شود، اکثر پروتئین‌های سرمی دناتوره می‌شوند و سپس بخش نامحلول پروتئین سرم (خصوصاً  $\beta$ -لاکتوگلوبولین) با اتصال کووالانسی به K-کازئین و برخی پروتئین‌های غشاء گلبول چربی شده و تشکیل محصولات پلیمری تجمع خودبه خودی می‌یابد. علاوه بر این حلالیت نمک کلسیم در طی پاستوریزاسیون در دمای بالا<sup>۴</sup> HPT به دلیل تغییر تشکیل به فاز کلوئیدی کاهش می‌یابد. هنگامی که پاستوریزاسیون با شدت حرارت بالایی انجام می‌شود، قابلیت رنت زنی شیر و سرعت آب اندازی ژل رنت زنی شده کاهش می‌یابد (۶). حرارت دهی در محدوده دمایی  $82-95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۸۰-۳۶۰ ثانیه سبب دناتوره شدن بیش از ۹۰ درصد پروتئین‌های آب پنیر در شیر پس چرخ می‌گردد، با این حال مطالعات در مورد تاثیرات

میکروفلورا سبب عیوبی در پنیر می‌شوند. رایج‌ترین عیب‌ها بادکردگی زودرس می‌باشد که به وسیله وجود سوراخ‌های بزرگ حاصل از خروج گاز در پنیر تشخیص داده می‌شود که علاوه بر این، چنین پنیرهایی دارای بافت اسفنجی می‌باشند. این نقیصه به دلیل رشد تعداد زیادی کلی‌فرم و مخمر ایجاد می‌شود. علاوه بر این فعالیت باکتری‌های آغازگر در کنترل نمودن کلی‌فرم‌ها از طریق کاهش دادن pH و مقدار لاکتوز موجود در پنیر حائز اهمیت است. وجود کلی‌فرم‌ها در پنیر خصوصاً *آئروباکتر آئروژنز*<sup>۱</sup> که مسئول بادکردگی قوطی‌های پنیر دو میاطی می‌باشد گزارش شده است. *کلبسیلا آئروژنز*<sup>۲</sup> دریافت شد مسئول بادکردگی زودرس و کیفیت ضعیف پنیرهای سفید آب نمکی می‌باشند. رشد بیش از حد مخمر سبب نرم شدن پنیر می‌شود که بوی نامطبوع مخمر یا بوی استر مانند و تشکیل گاز در پنیرهای سفید آب نمکی را به همراه دارد. بادکردگی قوطی‌ها به وسیله مخمرهایی که لاکتوز را تخمیر می‌کنند نظیر گونه‌های *کلاپورومایسس*<sup>۳</sup> می‌باشد. بد رنگی سطح پنیرهای حاصل از شیر میش پرتهالی به مخمرهای تولید کننده رنگ نسبت داده می‌شود. علاوه بر این مخمرها می‌توانند pH سطح پنیر را افزایش دهند. بنابراین رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و احتمالاً دیگر باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد را تحریک می‌کنند. بادکردگی دیررس عیب دیگری در پنیرها است و این مشکل معمولاً به باکتری‌های لاکتیکی ناجور تخمیر یا گونه‌های *کلاستریدا* (مانند *کلاستریدیوم بوتیریکوم* و *کلاستریدیوم تایروبووتیریکوم*) نسبت داده می‌شود (۳). پنیر سفید آب نمکی موجب عملکرد مناسب سیستم گوارشی بدن می‌شود. تولید پنیر بر مبنای فرایندهای بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی پیچیده است که این فرایندها منجر به تجزیه ترکیبات اصلی محصول می‌شوند. در رسیدن بیوشیمیایی پنیر مقادیر زیادی محصولات تجزیه شده تشکیل می‌شوند که به سادگی به وسیله بدن جذب می‌شوند. شرایط تکنولوژیکی و شاخص‌هایی که به شدت

<sup>3</sup> *Kluyveromyces spp.*

<sup>4</sup> High Pasteurization Temperature

<sup>1</sup> *Aerobacter aerogenes*

<sup>2</sup> *Klebsiella areogenes*

ازای کیلوگرم شیر به آن اضافه می گردد. پس از تلقیح مایه کشت آغازگر به مقدار ۰/۰۴ گرم به ازای هر کیلوگرم، شیر در حدود یک ساعت در این دما نگهداری شد، سپس رنت به میزان ۰/۰۲۵ گرم به ازای هر کیلوگرم شیر اضافه شد. لخته پس از سفت شدن (حدود ۴۵ دقیقه پس از رنت زنی) به صورت مکعب هایی با اضلاع  $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$  بریده و برای مدت ۱۵ دقیقه به حال خود رها گردید، سپس به طور ملایم مکعب ها به مدت ۱۵ دقیقه بهم زده شد تا آبگیری از لخته تسریع گردد. پس از تخلیه آب پنیر، لخته در داخل قالب های پنیر ریخته شد و به مدت ۳ ساعت پرس شدند. فشار پرس کردن در طی ساعت اول تا حدود ۳۰۰۰ پاسکال افزایش داده شد و تا پایان ساعت سوم این مقدار فشار حفظ شد. در مرحله بعد لخته های پرس شده به قطعات  $6 \times 10 \times 10 \text{ cm}^3$  بریده شد و برای افزایش اسیدیته و خروج بیشتر رطوبت و نیز یکنواخت شدن توزیع رطوبت در قطعات در دمای  $25^\circ \text{C}$  به مدت ۲۰ ساعت نگهداری شدند. سپس در ظروف پلاستیکی غیر قابل نفوذ به هوا قرار داده شد و سطح آنها با آب نمک ۱۲٪ پوشانیده شد. آب نمک مصرفی نیز از قبل در دمای  $80^\circ \text{C}$  به مدت ۱۵ دقیقه پاستوریزه و پس از خنک کردن با عبور دادن از یک پارچه صافی تمیز صاف شده و با افزودن اسید لاکتیک ۹۹٪، pH آن در حدود ۴/۵ تنظیم شد. سپس ظرف ها درب بندی شد و پس از نگهداری به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $25^\circ \text{C}$  تا پایان دوره رسیدگی ۶۰ روزه در دمای  $4^\circ \text{C}$  نگهداری شد ( نمونه های غیر پاستوریزه فراوری سالم سازی پاستوریزاسیون و افزودن کلرید کلسیم انجام نشد و بعد از افزایش دما تا  $37^\circ \text{C}$ ، تلقیح سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس به میزان  $10^8 \text{ CFU/mL}$  به شیر پنیرسازی صورت گرفت. در این مطالعه از دو نوع سویه لاکتوباسیلوس ( سویه بومی و سویه متعلق به شرکت Sacco ایتالیا ) استفاده شد (۱۰).

پاستوریزاسیون در دمای بالا نشان داد بازده پنیرسازی به دلیل افزایش مقدار رطوبت و بازیافت موثر پروتئین های آب پنیر افزایش یافته و ارزش غذایی نیز افزایش می یابد. تبدیلات لاکتوز (گلیکولیز)، چربی (لیپولیز) و کازئین (پروتئولیز) که سه فرایند بیوشیمیایی اصلی و مهم محسوب می شوند در طی فرایند رسیدن پنیر رخ می دهند. پروتئولیز احتمالاً مهمترین عامل برای عطر و بو و توسعه بافت است (۳). پاستوریزاسیون در دمای بالا در پنیر سفید آب نمکی منجر به مقدار کم فراکسیون های نیتروژنی محلول، کاهش شدید و مداوم  $\alpha_s^{-1}$  کازئین، هیدرولیز آهسته  $\beta$ -کازئین در طی رسیدن و مقدار بالای فرآورده های پروتئولیتیکی که بصورت محکم به ماتریکس ژلی متصل شده اند می گردد (۷). پاستوریزاسیون در دمای بالا سبب تسریع هیدرولیز  $\alpha_s^{-1}$  کازئین و تجزیه کند  $\beta$ -کازئین در پنیر چدار گردید (۸). با این حال Miloradovic و همکاران (۲۰۱۷) بیان داشتند پاستوریزاسیون شیر در دمای بالا سبب ممانعت از هیدرولیز  $\alpha_s^{-1}$  کازئین می شود و هیچ تاثیری روی هیدرولیز  $\beta$ -کازئین و پروتئولیز ثانویه در پنیر حاصل از شیر بز ندارد (۹). بنابراین هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر حفاظتی ایجاد شده توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر آلودگی میکروبی پنیرهای سفید آب نمکی و مقایسه آن با نمونه های تحت فراوری حرارتی پاستوریزاسیون می باشد تا در صورت کنترل و کاهش آلودگی های میکروبی توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس ضمن مهار اثرات منفی تیمار حرارتی پاستوریزاسیون با تولید یک فرآورده پروبیوتیک، در کنار بهبود کیفیت بهداشتی و افزایش ماندگاری محصول، ویژگی سلامت بخشی و ارتقاء کیفی نیز تقویت گردد.

۱- مواد و روش ها

۲-۱ تولید پنیر

مقدار ۱۰ کیلو گرم شیر پس چرخ درون وت هایی از جنس استیل ضد زنگ ریخته شد و به شیوه غیر مداوم در یک حمام آب در دمای  $65^\circ \text{C}$  به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه و سپس تا  $25^\circ \text{C}$  خنک گردید. در این دما کلرید کلسیم به میزان ۰/۱ گرم به

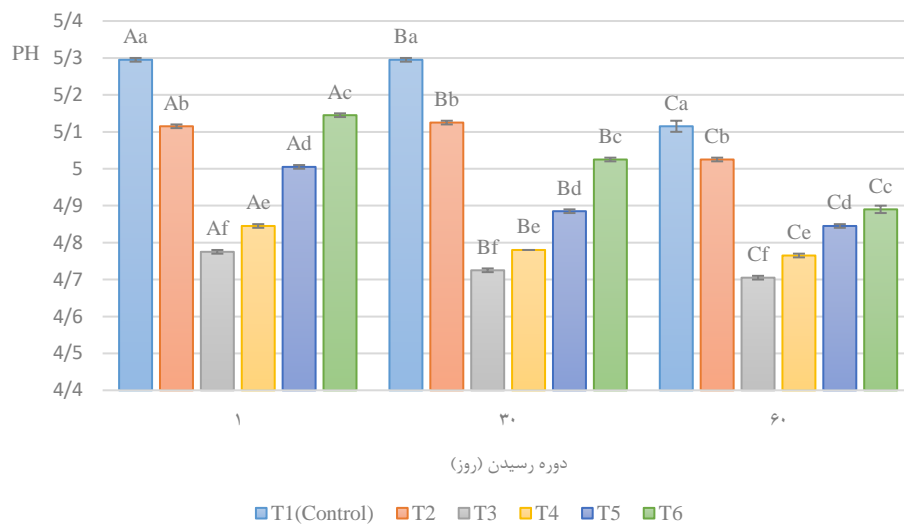


(پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرخام فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس) در روز یکم از دوره رسیدن و کمترین میزان pH مربوط به تیمار T<sub>3</sub> (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرخام دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو) در روز شصت ام از دوره رسیدن و نزدیک ترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار T<sub>2</sub> (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرپاستوریزه فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس) می باشد.

و فعال در بخش تحقیق و توسعه و کنترل کیفیت کارخانجات لبنی که در ارزیابی حسی فراورده های لبنی مجرب هستند انتخاب شدند. نمونه ها در بسته های ۱۰۰ گرمی و قبل از انجام آزمون از یخچال خارج می شوند و پس از رسیدن به دمای محیط در قطعات ۳۰ گرمی در اختیار ارزیاب ها قرار گرفت (۱۶).

## ۲- نتایج

pH تمام تیمارها در طی دوره نگهداری شصت روزه کاهش یافت (نمودار ۳-۱). بیشترین میزان pH مربوط به تیمار شاهد



### نمودار ۳-۱- تغییرات pH پنیر سفید\* آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس

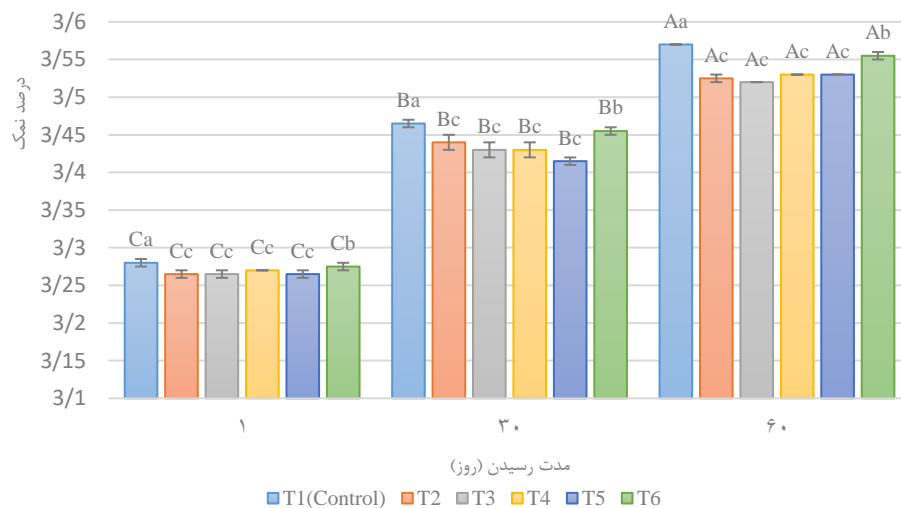
\*T<sub>1</sub> (Control): پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرخام فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس؛ T<sub>2</sub>: پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرپاستوریزه فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس؛ T<sub>3</sub>: پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرخام دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو؛ T<sub>4</sub>: پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرخام دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه بومی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG؛ T<sub>5</sub>: پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرپاستوریزه دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه بومی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو؛ T<sub>6</sub>: پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرپاستوریزه دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه بومی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG

رسیدن و کمترین میزان درصد نمک مربوط به تیمارهای T<sub>2</sub>) پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرپاستوریزه فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس) و T<sub>5</sub>) پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرپاستوریزه دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه لاکتوباسیلوس

درصد نمک تمام تیمارها در طی دوره نگهداری شصت روزه افزایش یافت (نمودار ۳-۲). بیشترین میزان درصد نمک مربوط به تیمار شاهد (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرخام فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس) در روز شصت ام از دوره

نمکی تهیه شده از شیر پاستوریزه دارای  $10^8$  CFU/g سویه بومی لاکتوباسیلوس رامنوسوس (GG) می باشد.

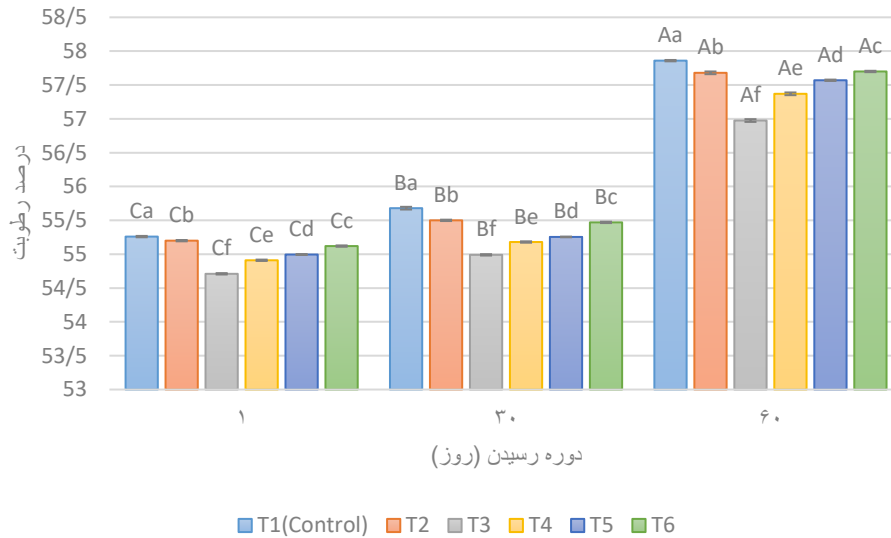
رامنوسوس GG شرکت ساکو) در روز یکم از دوره رسیدن و نزدیک ترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار T6 (پنیر سفید آب



نمودار ۳-۲- تغییرات درصد نمک پنیر سفید\* آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس

سفید آب نمکی تهیه شده از شیر خام دارای  $10^8$  CFU/g سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو) مربوط به روز اول از دوره رسیدن می باشد نزدیک ترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار T2 (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر پاستوریزه فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس) می باشد.

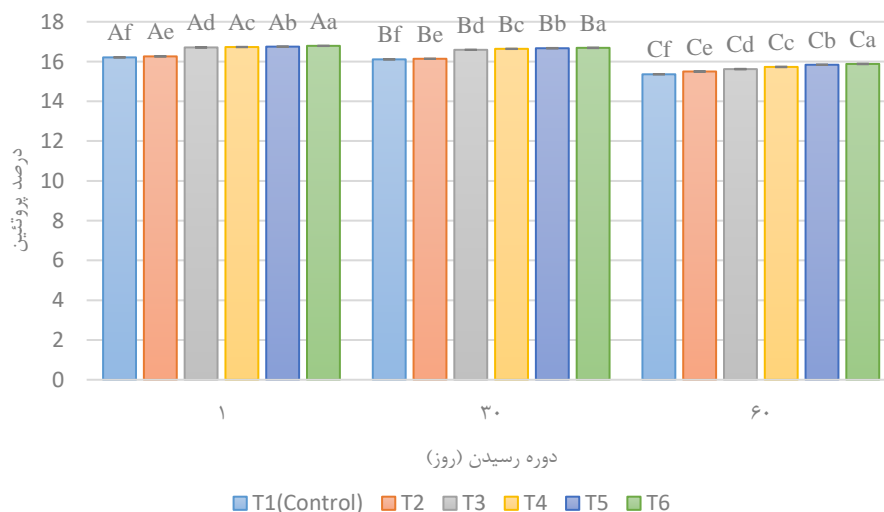
درصد رطوبت تمام تیمارها در طی دوره نگهداری شصت روزه افزایش یافت (نمودار ۳-۳). بیشترین میزان درصد رطوبت مربوط به تیمار شاهد (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر خام فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس) در روز شصت ام از دوره رسیدن و کمترین درصد میزان رطوبت مربوط به تیمار T3 (پنیر



نمودار ۳-۳- تغییرات درصد رطوبت پنیر سفید\* آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس Log CFU/g

پروتئین مربوط به تیمار شاهد T<sub>1</sub>(Control)، پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر خام فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس در روز شصت ام از دوره نگهداری می باشد نزدیک ترین تیمار به تیمار شاهد تیمار T<sub>2</sub>، پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر پاستوریزه فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس می باشد.

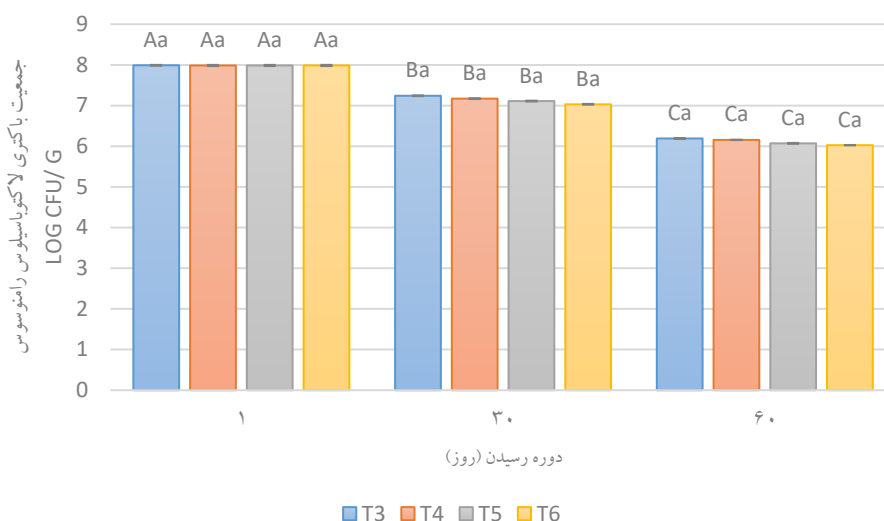
از نظر درصد پروتئین روند کاهشی در طول دوره نگهداری شصت روزه مشاهده شد (نمودار ۳-۴). بیشترین میزان پروتئین مربوط به تیمار T<sub>6</sub>، پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر پاستوریزه دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه بومی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG در روز اول از دوره رسیدن پنیر و کمترین میزان



نمودار ۳-۴- تغییرات درصد پروتئین پنیر سفید\* آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس Log CFU/g

باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس Log CFU/g مربوط به تیمار T<sub>6</sub> (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرپاستوریزه دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه بومی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG) در طی روزهای اول، سی ام و شصت ام از دوره رسیدن و نزدیک ترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار T<sub>2</sub> (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرپاستوریزه فاقد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس) می باشد.

جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس Log CFU/g در پنیر سفید آب نمکی در طی دوره نگهداری روند کاهشی نشان داد (نمودار ۳-۵)، با این حال بیشترین میزان جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس Log CFU/g مربوط به تیمار T<sub>3</sub> (پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیرخام دارای ۱۰<sup>۸</sup> CFU/g سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو) در طی روزهای اول، سی ام و شصت ام از دوره رسیدن و کمترین میزان جمعیت



### نمودار ۳-۵- تغییرات جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس Log CFU/g در پنیر سفید\* آب نمکی

تغییرات جمعیت شمارش کلی میکروارگانیزم ها در طی یک دوره شصت روزه در پنیر سفید آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس مطابق جدول ۳-۳، ارائه شده است.

تغییرات جمعیت کلی فرم ها در طی یک دوره شصت روزه در پنیر سفید آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس مطابق جدول ۳-۱، ارائه شده است. تغییرات جمعیت کپک و مخمر در طی یک دوره شصت روزه در پنیر سفید آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس مطابق جدول ۳-۲، ارائه شده است.

جدول ۳-۱- تغییرات جمعیت باکتری کلی فرم Log CFU/g در پنیر سفید\* آب نمکی

تیمار	زمان (روز)		
	۱	۳۰	۶۰
T <sub>1</sub> (شاهد)	۳/۸۱	۱/۵۶	<۱
T <sub>2</sub>	<۱	-	-
T <sub>3</sub>	۲/۸۵	۱/۲۶	<۱
T <sub>4</sub>	۳/۶۵	۱/۳۲	<۱
T <sub>5</sub>	<۱	-	-
T <sub>6</sub>	<۱	-	-

جدول ۳-۲- تغییرات جمعیت باکتری کپک و مخمر Log CFU/g در پنیر سفید\* آب نمکی

تیمار	دوره رسیدن (روز)		
	۱	۳۰	۶۰
T <sub>1</sub> (شاهد)	۲/۰۲	<۱	<۱
T <sub>2</sub>	<۱	-	-
T <sub>3</sub>	۲/۰۳	<۱	<۱
T <sub>4</sub>	۲/۷۲	<۱	<۱
T <sub>5</sub>	<۱	-	-
T <sub>6</sub>	<۱	-	-

جدول ۳-۳- تغییرات جمعیت شمارش کلی میکروارگانسیم ها/Log CFU/g در پنیر سفید\* آب نمکی

تیمار	زمان		
	۱	۳۰	۶۰
T <sub>1</sub> (شاهد)	۷/۶۹	۶/۹۷	۶/۴۹
T <sub>2</sub>	<۱	-	-
T <sub>3</sub>	۷/۵۹	۶/۷۹	۵/۴۵
T <sub>4</sub>	۷/۶۵	۶/۹۲	۵/۷۹
T <sub>5</sub>	<۱	-	-
T <sub>6</sub>	<۱	-	-

و کمترین امتیاز حسی پذیرش کلی مربوط به تیمارهای T<sub>2</sub>، T<sub>4</sub>، T<sub>5</sub> و T<sub>6</sub> و نزدیک ترین تیمار به تیمار شاهد، تیمار T<sub>3</sub> می باشد تیمار شاهد در تمام روزهای مشخص از دوره رسیدن دارای امتیاز یکسانی بود (جدول ۳-۴).

از نظر امتیاز حسی بافت بیشترین امتیاز مربوط به تیمارهای شاهد، T<sub>2</sub>، T<sub>4</sub> و T<sub>5</sub> در روز یکم از دوره رسیدن و کمترین امتیاز حسی بافت مربوط به تیمارهای T<sub>2</sub>، T<sub>4</sub>، T<sub>5</sub> و T<sub>6</sub> در روز شصت ام از دوره رسیدن و نزدیک ترین تیمار به تیمار شاهد از نظر امتیاز حسی بافت تیمار T<sub>3</sub> می باشد (جدول ۳-۴).

از نظر امتیاز حسی رنگ بیشترین امتیاز مربوط به تیمارهای شاهد، T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub> در روز یکم از دوره رسیدن و کمترین امتیاز حسی رنگ مربوط به تیمارهای T<sub>3</sub>، T<sub>4</sub>، T<sub>5</sub> و T<sub>6</sub> در روز شصت ام از دوره رسیدن می باشد همه تیمارها دارای امتیاز حسی رنگ نزدیک به هم و بالایی بودند و امتیاز حسی رنگ تیمارهای T<sub>5</sub> و T<sub>6</sub> در تمام روزهای مشخص از دوره رسیدن ثابت ماند (جدول ۳-۴).

از نظر امتیاز حسی پذیرش کلی بیشترین امتیاز مربوط به تیمارهای شاهد، T<sub>2</sub>، T<sub>3</sub>، T<sub>4</sub> و T<sub>5</sub> در روز یکم از دوره رسیدن

جدول ۳-۴- ویژگی های حسی پنیر سفید\* آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس

دوره رسیدن (روز)			تیمارها	ویژگی های حسی
۶۰	۳۰	۱		
Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۹/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۵±۸/۵۰</sub>	<b>T<sub>1</sub>(Control)</b>	رنگ
Aa <sub>۰/۵±۸/۵۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>2</sub></b>	
Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۵±۸/۵۰</sub>	Aa <sub>۰/۵±۸/۵۰</sub>	<b>T<sub>3</sub></b>	
Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۵±۸/۵۰</sub>	<b>T<sub>4</sub></b>	
Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>5</sub></b>	
Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>6</sub></b>	
Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>1</sub>(Control)</b>	پذیرش کلی
Ab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۵±۷/۵۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>2</sub></b>	
Aa <sub>۰/۵±۷/۵۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>3</sub></b>	
Ab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>4</sub></b>	
Ab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Ab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>5</sub></b>	
Bb <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۵±۷/۵۰</sub>	Ab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	<b>T<sub>6</sub></b>	
Ba <sub>۰/۵±۷/۵۰</sub>	Ba <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>1</sub>(Control)</b>	بافت
Bab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Bab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>2</sub></b>	
Ba <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	Ba <sub>۰/۵±۷/۵۰</sub>	Aab <sub>۰/۵±۷/۵۰</sub>	<b>T<sub>3</sub></b>	
Bab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Ba <sub>۰/۵±۷/۵۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>4</sub></b>	
Bab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Bab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Aa <sub>۰/۰۰±۸/۰۰</sub>	<b>T<sub>5</sub></b>	
Bab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Bab <sub>۰/۰۰±۷/۰۰</sub>	Aab <sub>۰/۵±۷/۵۰</sub>	<b>T<sub>6</sub></b>	

## ۴- بحث و نتیجه گیری کلی

افزایش اسیدیته و کاهش pH به سبب تولید اسیدلاکتیک ناشی از فعالیت باکتری های اسید لاکتیک و سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس در نتیجه مصرف لاکتوز و نیز تولید هیدروژن می باشد (۱۷). مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون و pH پنیر بر رشد میکروارگانیسم ها و فعالیت آنزیم ها در طی دوره رسیدن موثر است، از طرفی تغییرات سرعت رشد میکروارگانیسم ها و فعالیت آنزیم ها به عنوان عوامل مهم و موثر بر تغییرات ویژگی های رئولوژیکی و واکنشهای شیمیایی منجر به تولید عطر و طعم شناخته می شوند (۱۸، ۱۹). دوره رسیدن بر تغییرات مقادیر نمک و خاکستر نمونه ها موثر می باشد. غلظت نمک لخته پنیر به مقدار نمک موجود در آب نمک، گرادیان غلظت میان نمک و لخته پنیر، نوع نمک، دمای پنیر و pH وابسته است (۱۸، ۲۰). Hayaloglu و همکاران (۲۰۰۲) بیان داشتند میزان انتقال نمک به درون لخته به ویژگی های لخته از جمله مقادیر رطوبت، چربی و سطح لخته وابستگی دارد (۲۱)، سایر محققان نیز در مورد تغییرات نمک در طی دوره رسیدن پنیر سفید آب نمکی به نتایج مشابهی دست یافتند (۱۸). به دلیل تغییرات فشار اسمزی مولکول های نمک از داخل آب نمک به درون لخته نفوذ می کنند که این دیفوزیون از نوع دیفوزیون دو جزئی نامیده می شود. متناسب با تغییرات ماده خشک نمونه های پنیر سفید آب نمکی حاوی سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس میزان رطوبت نیز تغییر یافت و بر مبنای روند کاهش مقدار ماده خشک به همان نسبت درصد رطوبت نمونه های پنیر سفید آب نمکی حاوی سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس افزایش یافت که علت اصلی افزایش درصد رطوبت مهاجرت پپتیدها و پروتئینهای محلول در آب از قالب پنیر به سمت آب پنیر و نیز شکست یا تجزیه پیوندهای پپتیدی و رها شدن گروههای یونی جدید می باشد (۲۲). پنیرهای پروبیوتیک حاصل از شیر خام بدلیل فعالیت پروتئولیتیکی شدید تر کاهش بیشتری از نظر ماده خشک و متعاقبا به همان نسبت افزایش بیشتری در میزان درصد رطوبت نشان دادند. وقتی که به شیر رنت زده می شود،

کازئین های شیر، دلمه پاراکازئینات را تشکیل می دهند و دلمه پنیر شکل می گیرد، پروتئین های آب پنیر که محلول می باشند و قطعات کازئین خرد شده به همراه آب پنیر خارج می شوند. درصد بالاتر پروتئین مبین این موضوع است که پروتئین ها و شبکه پاراکازئینی با بیشترین تراکم کنار هم قرار گرفته اند و قسمت اعظم بافت پنیر را تشکیل داده اند و کمترین میزان بازیافت پروتئین نشان دهنده این است که قسمت اعظم پروتئین های آب پنیر محلول و قطعات کازئین خرد شده به همراه آب پنیر از دلمه خارج شده اند (۱۰). کاهش مقدار پروتئین پنیرهای سفید آب نمکی در طی دوره رسیدن به رخ دادن پدیده بیوشیمیایی پروتئولیز و متعاقبا تجزیه پروتئین ها به پپتیدهای درشت مولکول و سپس پپتیدهای کوچکتر نسبت داد در همین راستا فراهانی و همکاران در سال ۱۳۹۳ بیان داشتند میزان پروتئین پنیر سفید آب نمکی گلپایگان در طی دوره رسیدن روند کاهشی داشته است (۱۸). سویه های لاکتوباسیلوس رامنوسوس خصوصا نوع صنعتی (لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو) می توانند در طی فرایند تولید پنیر دوام بیاورند و نیز در طی دوره رسیدن و نگهداری بدون تاثیر منفی بر کیفیت پنیر زنده بمانند. برخی از محققان اظهار داشتند که غذاهای پروبیوتیک سلامت محور باید حداقل  $10^6$  CFU/mL باکتری پروبیوتیک در زمان انقضای مصرف محصول داشته باشند زیرا تعداد سلول باکتری پروبیوتیک دارای حداقل دز درمانی  $10^8-10^9$  CFU/mL در روز می باشد (۱). از آنجایی که بسیاری از محصولات لبنی تخمیر می شوند متداول است آن سطحی از میزان اسیدیته را پیدا کنیم که ممکن است بر زنده مانی باکتری های پروبیوتیک تاثیر بگذارد. پنیر یک محصول لبنی است که دارای پتانسیل خوبی برای تحویل میکروارگانیسم های پروبیوتیک به دستگاه گوارش انسان می باشد زیرا دارای ویژگی های شیمیایی و فیزیکی اختصاصی در مقایسه با شیرهای تخمیر شده می باشد از جمله می توان به مقدار pH بالاتر و اسیدیته قابل تیتراسیون پایین تر، ظرفیت بافری بیشتر، مقدار چربی بیشتر، قابلیت دسترسی به مواد مغذی بیشتر، مقدار اکسیژن پایین تر و ماتریکس متراکم بافت

اشاره داشت (۲۳). باکتری های پروبیوتیک در پنیر خصوصا لاکتوباسیل ها دارای پیتیدازهای متعددی هستند که می توانند پیتیدها را به الیگوپیتیدها و آمینواسید هیدرولیز کنند و تغییراتی در عطر و طعم و بافت و متعاقبا خصوصیات حسی پنیر ایجاد کنند (۲۳). در ایران مصرف کنندگان محصولات شیری تخمیر شده ترجیحا بیشتر مصرف کننده پنیر هستند بنابراین پنیر سفید آب نمکی تولید شده با استفاده از سویه های پروبیوتیک مناسب نظیر لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG شرکت ساکو دارای فواید سلامت بخشی و حسی مطلوبی است با توجه به این نکته که پنیرهای سفید آب نمکی از محبوبیت بالایی در کشور ایران و سایر کشورهای همسایه برخوردار می باشد. نتایج نشان داد که بیشترین رشد سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس در اوایل دوره رسیدن پنیر سفید آب نمکی مشاهده شد، این نتایج با نتایج بدست آمده توسط سایر محققان مطابقت داشت (۲۴، ۲۵، ۲۶ و ۲۷). و نیز نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد سویه های تجاری لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG در مقایسه با سویه های بومی زنده ماننی بیشتری را در طی دوره رسیدن پنیر سفید آب نمکی نشان دادند (۲۷، ۲۶، ۲۵، ۲۴) تعداد سلول های زنده لاکتوباسیلوس رامنوسوس باید در محصول بیش از  $10^6$  CFU/g در کل زمان نگهداری باشد (۲۸). بنابراین با توجه به تراکم سوسپانسیون تلقیح شده به داخل شیر پنیرسازی یعنی  $10^8$  CFU/mL تعداد سلول های لاکتوباسیلوس رامنوسوس در محصول در طی دوره نگهداری بالاتر از حد قابل قبول استاندارد برای محصولات پروبیوتیک یعنی  $10^6$  CFU/g بود. تلقیح لاکتوباسیلوس رامنوسوس هیچ اثر منفی روی ویژگی های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی محصول نداشت. کشت پروبیوتیک قادر به زنده ماننی در تعداد مناسب در طی دوره رسیدن پنیر سفید آب نمکی بود، علاوه بر این کشت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس می تواند دارای اثر بازدارندگی در مقابل سویه های پاتوژن و عامل فساد داشته باشد به همین دلیل سویه های پروبیوتیک دارای فعالیت ضد میکروبی در یک ماتریکس، مورد توجه صنعتی هستند (۲۸). لاکتوباسیلوس رامنوسوس می تواند یک سری

ترکیبات ضد میکروبی نظیر اسیدلاکتیک و اسیدهای آلی دیگر، پراکسید هیدروژن، اتانل و دی استیل تولید کند که این ترکیبات دارای تاثیر بازدارندگی در مقابل میکروارگانسیم های پاتوژن هستند علاوه بر این لاکتوباسیلوس رامنوسوس، میکروسین که یک باکتریوسین با وزن مولکولی  $1000 <$  دالتون است و پیتیدهایی تولید می کنند که فعالیت ضد باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی نشان می دهند این مهار می تواند به رقابت برای مواد مغذی بین کشت پروبیوتیک و پاتوژن مرتبط باشد (۲۸). لاکتوباسیلوس رامنوسوس ها به طور بالقوه می توانند قدرت تهاجمی پاتوژن ها را از طریق رقابت برای جذب در گیرنده های سلول میزبان، ترشح آنتی اکسیدان ها، یا تغییر بیان ژنی که مسئول کلونیزاسیون پاتوژن های باکتریایی روده است کاهش دهد (۲۸). مطابق با نتایج حاصل از جستجو و شمارش کلی فرم هادر پنیرهای سفید آب نمکی تازه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس در طی دوره نگهداری ۶۰ روزه در دمای یخچال  $4^{\circ}\text{C}$  هیچ پرگنه ای شناسایی نشد این موضوع بیانگر شرایط بهداشتی مطلوب تولید در طی فرایند پنیرسازی و دوره رسیدن در داخل آب نمک و نیز افزایش میزان اسیدیته در پنیرها زمانی که پنیرهای تولیدی دوره رسیدن را در داخل آب طی می کنند و تاثیر محافظتی و بازدارنده لاکتوباسیلوس رامنوسوس نسبت داده می شود نتایج تحقیق حاضر با نتایج بدست آمده توسط Mansour and Zaki در سال ۲۰۱۸ که از سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس در تولید پنیر سفید نرم آب نمکی استفاده شده بود مطابقت داشت. شمارش کلی فرم ها در پایان دوره رسیدن ۶۰ روزه ( $1 < \log \text{cfu/g}$ ) بود. در طی دوره رسیدن پنیر سفید آب نمکی حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس، شمارش کلی فرم ها کاهش یافت (۲۳). Kılıç و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند شمارش کلی فرم نمونه های پنیر بیاض پروبیوتیک پایین تر از حد استاندارد ( $\log \text{cfu/g}$ )  $2 <$  بود (۲۹) می توان به نوعی تاثیر بازدارندگی لاکتوباسیلوس رامنوسوس را در کاهش جمعیت کلی فرم ها حائز اهمیت دانست. در نمونه های تهیه شده از شیر پاستوریزه به طور کلی در طی دوره رسیدن ۶۰ روزه کلی فرمی مشاهده

نشد و در تیمارهای تهیه شده از شیر خام که حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس بودند در مقایسه با نمونه شاهد جمعیت کلی فرم ها پایین تر بود با این حال روند کاهشی جمعیت کلی فرم ها در طی دوره رسیدن ۶۰ روزه مشاهده شد به طوری که در نمونه های تهیه شده از شیر پاستوریزه در پایان روز سی ام از دوره رسیدن کلی فرمی مشاهده نشد و در پایان روز شصت ام از دوره رسیدن حتی در نمونه های تهیه شده از شیر خام نیز جمعیت کلی فرم ها ( $< 1 \log \text{ cfu/g}$ ) بود. Hemmatian و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند علت کاهش و ناپدید شدن کلی فرم ها در طی دوره رسیدن تاثیر بازدارندگی نمک، تغییرات سطح pH و غالب شدن جمعیت باکتری های اسیدلاکتیک می باشد (۳۰). کیفیت میکروبیولوژیکی پنیرهای آب نمک سفید را می توان تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله کیفیت شیر، استفاده از پاستوریزه کردن یا حرارت دادن، پارامترهای مختلف تکنولوژیکی و سطح و نوع آلودگی میکروبی که در طول تولید و نگهداری پنیر رخ می دهد، تحت تأثیر قرار داد. پنیرهای آب نمک برای مدت طولانی در آب نمک می رسند و بنابراین میکروفلورهای غالب سهم قابل توجهی در فرآیند رسیدن دارند و تا حدی کیفیت محصول نهایی را تنظیم می کنند. علاوه بر این، ایمنی و ماندگاری محصول نهایی به شدت به میکروفلور موجود بستگی دارد (۳۱). عیوب قابل مشاهده ناشی از رشد کپک ها در پنیرهای مختلف گزارش شده است. از آنجایی که پنیرهای سفید آب نمکی در حلب های قلعی حاوی آب نمک نگهداری می شوند رشد کپک ها به ندرت اتفاق می افتد مشروط بر این که قالب های پنیر کاملاً در آب نمک غوطه ور شوند (۳۱). تعداد کپک ها و مخمرهای جستجو و شمارش شده در نمونه های پنیر پاستوریزه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس بسیار کم بود به طوری که در طی دوره رسیدن ۶۰ روزه هیچ کپک و مخمری در نمونه های پنیر پاستوریزه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس مشاهده و شناسایی نشد و نمونه های پنیر تهیه شده از شیر خام حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس دارای کپک و مخمر بیشتری در مقایسه با نمونه های پاستوریزه بودند که به

تدریج با گذشت زمان و طی شدن مرحله رسانیدن با افزایش تدریجی اسیدیته و افزایش غلظت نمک در لخته و تاثیر محافظتی و بازدارندگی لاکتوباسیلوس رامنوسوس جمعیت کپک ها و مخمرها به شدت روند کاهشی نشان داد. جستجو و شمارش کپک و مخمر در نمونه های پنیر تهیه شده از شیر پاستوریزه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس نشان داد که کلیه نمونه های پاستوریزه بلافاصله پس از تولید ( $< 1 \log \text{ cfu/g}$ ) کپک و مخمر داشتند که در طی دوره رسیدن تا انتهای روز شصت ام از دوره رسیدن نمونه های پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر پاستوریزه و حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس فاقد کپک و مخمر بودند و در نمونه های پنیر سفید آب نمکی تهیه شده از شیر خام حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس نیز جمعیت کپک و مخمر در طی دوره رسیدن به شدت کاهش یافت به طوری که در پایان ماه اول از دوره رسیدن جمعیت کپک و مخمر ( $< 1 \log \text{ cfu/g}$ ) ارزیابی شد که می توان تاثیر بازدارندگی و محافظتی لاکتوباسیلوس رامنوسوس و افزایش تدریجی اسیدیته و نفوذ نمک به درون لخته در طی دوره رسیدن را از عوامل موثر بر کاهش جمعیت کپک و مخمر بر شمرد.

Guizani و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند کپک ها و مخمرها می توانند در پنیر در تمام طول دوره رسیدن یافت شوند (۳۲)، این حالت می تواند ناشی از این واقعیت باشد که مخمرها و کپک ها می توانند در فعالیت های آبی مختلف ( $a_w=0.65-0.90$ )، pH پایین ( $\text{pH}=3$ ) و درجات دمایی متفاوت رشد کنند (۳۳). بررسی شمارش کلی میکروارگانیسم ها نشان داد شمارش کلی میکروارگانیسم ها در پنیر سفید آب نمکی حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس در طی دوره رسیدن روند کاهشی داشته است یکی از دلایل مهم کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم ها تاثیر بازدارندگی افزایش تدریجی اسیدیته پنیر ناشی از تخمیر لاکتوز و تولید اسیدلاکتیک است علاوه بر این کیفیت شیر خام مورد استفاده در تولید پنیر سفید آب نمکی، شرایط تولید و رسیدن پنیر، عملیات حرارتی اعمال شده و کشت های اضافه شده همگی بر شمارش کلی میکروارگانیسم ها موثر می باشند از طرفی لاکتوباسیلوس

که سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس منجر به تغییر قابل توجه در بافت نمونه ها نشده است و یک همبستگی مثبت میان سفتی بافت و میزان ماده خشک مشاهده شد (۳۶).

Alkhalailah در سال ۲۰۲۵ گزارش داد ویژگی های بافتی و کیفی پنیر سفید آب نمکی به وسیله زمان رسانیدن و نوع شیر تحت تاثیر قرار گرفت (۳۶).

### نتیجه گیری کلی

در این مطالعه بر حسب آزمون های انجام شده در طی دوره رسیدن پنیر درصدهای رطوبت و نمک، پنیر سفید آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس در همه تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت. درصد پروتئین، pH و میزان قابلیت زنده مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس پنیر سفید آب نمکی تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس تیمارها با گذشت زمان در طی یک دوره شصت روزه کاهش یافت. مطابق با نتایج حاصل از جستجو و شمارش کلی فرم ها، کپک و مخمر و شمارش کلی میکروارگانیسم ها در پنیرهای سفید آب نمکی تازه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس در طی دوره نگهداری ۶۰ روزه در دمای یخچال ۴°C هیچ پرگنه ای شناسایی نشد این موضوع بیانگر شرایط بهداشتی مطلوب تولید در طی فرایند پنی سازی و دوره رسیدن در داخل آب نمک و نیز افزایش میزان اسیدیته در پنیرها زمانی که پنیرهای تولیدی دوره رسیدن را در داخل آب طی می کنند و تاثیر محافظتی و بازدارنده لاکتوباسیلوس رامنوسوس نسبت داده شد. تلقیح لاکتوباسیلوس رامنوسوس هیچ اثر منفی روی ویژگی های فیزیکی شیمیایی و حسی محصول نداشت. کشت پروبیوتیک قادر به زنده مانی در تعداد مناسب در طی دوره رسیدن پنیر سفید آب نمکی بود، علاوه بر این کشت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس می تواند دارای اثر بازدارندگی در مقابل سویه های پاتوژن و عامل فساد باشد و سویه های پروبیوتیک دارای فعالیت ضد میکروبی در یک ماتریکس، مورد توجه صنعتی هستند. از نظر امتیاز حسی رنگ و پذیرش کلی میان تیمارهای مختلف اختلاف معنی

رامنوسوس نیز دارای تاثیر حفاظتی و بازدارنده بر شمارش کلی میکروارگانیسم می باشد. نتایج بدست آمده از ارزیابی شمارش کلی میکروارگانیسم ها با نتایج بدست آمده توسط Yangilar and Özdemir در سال ۲۰۱۳ مطابقت داشت این محققان دریافتند شمارش کلی میکروارگانیسم ها در مورد پنیر بیاض ترکی<sup>۱</sup> در طی دوره رسیدن روند کاهشی داشته است (۳۴) سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس منجر به تغییر رنگ ظاهر نمونه های پنیر نشد و امتیاز حسی رنگ همه تیمارها به غیر از تیمارهای T5 و T6 در طی دوره رسیدن به میزان ناچیزی کاهش یافت نتایج این تحقیق با نتایج Kebary و همکاران در سال ۲۰۱۵ که بر روی پنیر فرآپالایش دومیاتی<sup>۲</sup> تهیه شده با لاکتوباسیلوس رامنوسوس تحقیق نمودند مطابقت داشت (۳۵). این واقعیت که ارزیابان حسی نمی توانند تفاوت معنی داری بین نمونه ها از لحاظ ویژگی های طعم و رنگ تعیین کنند می تواند برای عرضه پنیر پروبیوتیک در بازار مفید باشد در تیمارهایی که بیشترین امتیاز پذیرش کلی را دریافت نمودند می توان بیان داشت علت افزایش این امتیاز افزایش تجزیه پروتئین و هیدرولیز چربی است که به وسیله افزایش همه شاخص های رسیدن در سرتاسر دوره نگهداری در آب نمک اثبات می شود (۳۵). می توان نتیجه گیری کرد برای مصرف سریع پنیرهای سفید آب نمکی، افزودن سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس به عنوان کشت استارتر برای تسریع رسیدن پنیر و کوتاه شدن دوره رسیدن و نیز افزایش امتیاز ارگانولپتیکی پنیر توصیه می شود.

بافت پنیر به ترکیبات شیمیایی آن به ویژه چربی، پروتئین و ماده خشک مرتبط می شود، محتوای چربی بالا به نرمی بافت پنیر کمک می کند در حالی که محتوای پروتئین بالا باعث افزایش سفتی پنیر می شود فرایند رسیدن و انجام واکنش های بیوشیمیایی پروتئولیز، لیپولیز و گلیکولیز تا حد زیادی منجر به نرم شدن بافت پنیر در طی دوره رسیدن می شود. سطح بالایی از مواد جامد کل و اسیدیته بالا نیز منجر به افزایش سفتی پنیرها می شود. از نظر امتیاز حسی بافت نمونه های پنیر خیلی به هم نزدیک بودند و این بدین معنی است

<sup>1</sup> Beyaz Cheese

لاکتوباسیلوس رامنوسوس علاوه بر بهبود ویژگی های سلامت بخشی و تغذیه ای از نظر دارابودن فعالیت ضد میکروبی نیز در یک ماتریکس غذایی ، داری اهمیت و مورد توجه صنعت غذا می باشند.

داری  $p > 0.05$  مشاهده نشد. از نظر امتیاز حسی بافت نمونه های پنیر خیلی به هم نزدیک بودند و این بدین معنی است که سویه لاکتوباسیلوس رامنوسوس منجر به تغییر قابل توجه در بافت نمونه ها نشده است و یک همبستگی مثبت میان سفتی بافت و میزان ماده خشک مشاهده شد و می توان در نهایت اظهار داشت سویه های پروبیوتیک از جمله

## منابع

- 1- Liu DM, Li L, Yang XQ, Liang SZ, Wang JS. Survivability of *Lactobacillus rhamnosus* during the Preparation of Soy Cheese. *Journal of Food Technology and Biotechnology*. 2006; 44 (3): 417-422.
- 2- Zhang C, Yang L, Ding Z, Yin B, Chen D, Guan C, Gu R. New selective media for isolation and enumeration of *Lactobacillus rhamnosus* and *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2019; 13(2): 1-9.
- 3- Aydemir O. Proteolysis and lipolysis of white-brined (Beyaz) cheese during storage: Effect of milk pasteurization temperature. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018; 42: e13612
- 4- Beev G, Kolev T, Naydenova N, Dinev T, Tzanova M, Mihaylova G. Physicochemical, sanitary and safety indicators change during the ripening of Bulgarian white brined cheese from local farms. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2019; 25 (Suppl. 3), 109-115.
- 5- Enikova P. Microbiological processes and safety of Bulgarian white-brined cheese. *Opinion at the National Center for Public Health Protection*. 2010.
- 6- Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ. *Dairy science and technology* (2nd ed.). LLC, USA: Taylor & Francis Group. 2006.
- 7- Barac M, Smiljanic M, Zilic S, Pesic M, Stanojevic S, Vasic M, Vucic T. Protein profiles and total antioxidant capacity of water-soluble and insoluble fractions of white cow cheese at different stage of ripening. *Mljekarstvo*. 2016; 66: 187-197.
- 8- Rynne NM, Beresford TP, Kelly AL, Guinee TP. Effect of milk pasteurization temperature and in situ whey protein denaturation on the composition, texture and heat-induced functionality of half-fat Cheddar cheese. *International Dairy Journal*. 2004; 14: 989-1001.
- 9- Miloradovic Z, Kljajevic N, Miocinovic J, Tomic N, Smiljanic J, Macej O. High heat treatment of goat cheese milk. The effect on yield, composition, proteolysis, texture and sensory quality of cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 2017; 68: 1-8.
- 10- صیادی آ، خسروشاهی اصل ا، مددلو، ا. تاثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز بر ویژگی های شیمیایی، بافتی و ریز ساختار پنیر سفید آب نمکی کم چرب. نشریه پژوهش های صنایع غذایی. 1390؛ 22(1): 19-28.
- 11- بی نام (1385). روش اندازه گیری اسیدیته کل و pH در شیر و فراورده های آن، استاندارد ملی ایران. شماره 2852. سازمان ملی استانداردها و تحقیقات صنعتی ایران.
- 12- بی نام (1356). اندازه گیری مقدار کلرور در پنیر، استاندارد ملی ایران. شماره 1809. سازمان ملی استانداردها و تحقیقات صنعتی ایران.
- 13- بی نام (1387). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام، روش جامع برای شناسایی و شمارش کلی فرم ها، استاندارد ملی ایران. شماره 11166. سازمان ملی استانداردها و تحقیقات صنعتی ایران.
- 14- بی نام (1386). شیر و فراورده های آن، شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و مخمر - شمارش کلنی در پلیت در دمای 25 درجه سانتیگراد، استاندارد ملی ایران. شماره 10154. سازمان ملی استانداردها و تحقیقات صنعتی ایران.
- 15- بی نام (1393). میکروبیولوژی زنجیره غذایی، روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم ها، قسمت 1-شمارش کلنی در 30 درجه سلسیوس با استفاده از روش کشت آمیخته، استاندارد ملی ایران. شماره 5484. سازمان ملی استانداردها و تحقیقات صنعتی ایران.
- 16- بیگمی م، قدس روحانی م، محمدی فر م ا، هاشمی م، ولی زاده م، قناتی ک. بررسی ویژگی های بافتی و حسی پنیر سفید فرآپالایش شده ی تولیدی با پروتئاز گیاه پنیرباد (ویتانیا کوآگولانس) در مقایسه با مایه پنیر قارچی. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*. 1392؛ 8(1): 253-262.
- 17- Dervisoglu M, Yazici F. Ripening changes of Kulek cheese in wooden & plastic containers. *Journal of Food Engineering*. 2001; 3: 243-249.
- 18- فراهانی غ، عزت پناه ح، عباسی س. (1393). ارزیابی برخی ویژگی های فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و بافتی پنیر سفید آب نمکی (پنیر گلپایگان) طی دوره رسیدن. *مجله علوم غذایی و تغذیه*. 1393؛ 11(3): 20-5.
- 19- Pappa EC, Kandarakis I, Mallatou H. Effect of different types of milks and cultures on the rheological characteristic of Teleme cheese. *Journal of Food Engineering*. 2007; 79: 143-149.
- 20- Pavia M, Trujillo AJ, Guamis B, Ferragut V. Ripening control of saltreduced Manchego type cheese obtained by brine vacuum-impregnation. *Food Chemistry*. 2000; 70: 155-162.
- 21- Hayaloglu AA, Guven M, Fox PF. Microbiological, biochemical & technological properties of Turkish white cheese 'BeyazPeynir'. *International Dairy Journal*, 2002; 12: 635-648.
- 22- Shahab Lavasani A, Ehsani MR, Mirdamadi S, Ebrahim Zadeh Mousavi MA. Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese *Lighvan* during ripening. *International Journal of Dairy Technology*. 2012; 65(1): 64-70.
- 23- Mansour AIA, Zaki KG. Studies on the use of *Lactobacillus rhamnosus* in white soft cheese manufacture. *Archives of Agricultural Sciences Journal*, 2018; 1(1): 82-95.

- 24-Gomes AMP, Malcata FX. Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. *Journal of Dairy Science*. 1998; 81:1492-1507.
- 25-Badawi RM, Hussein SA. Survival of microentrapped bifidobacteria during storage of white cheese and their effect on cheese quality. *Minufiya Journal of Agricultural Research*. 1999; 24(2): 493-513.
- 26-Mahmoud SF, El-Sisi AS. Manufacture of Probiotic Yoghurt by Incorporation *Lactobacillus rhamnosus* GR-1. *Minufiya Journal of Agricultural Research*, 2011, 36(5):1213-1226.
- 27-Mahmoud SF, El-Halmouch Y, Montaser MM. Effect of probiotic bacteria on Karish Cheese production. *Life Science Journal*. 2013; 10(2):1279-1284.
- 28- Prezzi LE, Lee SHL, Nunes VMR, Corassin CH, Pimentel TC, Rocha RS, Ramos GLPA, Guimarães JT, Balthazar CF, Duarte MCKH, Freitas MQ, Esmerino EA, Silva MC, Cruz AG, Oliveira CAF. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on growth of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in a probiotic Minas Frescal cheese. *Food Microbiology*. 2020; 92(2020): 1-6.
- 29-Kılıç GB, Kuleasan H, Eralp I, Karahan AG. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. *LWT- Food Science Technology*. 2009; 42:1003-1008.
- 30-Hemmatian M, Aminifar M, Attar F. Characterization of Poosti Cheese, a Traditional Raw Sheep Cheese during Ripening: Physicochemical, Microbial and Micro-structural Aspects. *Nutrition and Food Sciences Research*. 2015; 2(2): 39-48.
- 31-Bintsis T, Papademas P. Microbiological quality of white-brined cheeses: a review. *International Journal of Dairy Technology*. 2002; 55(3):113-120.
- 32-Guizani N, Attabi ZA, Kasapis S, Gaafar OM. Ripening profiles of semi-hard standard goat cheese made from pasteurized milk. *International Journal of Food Properties*. 2006; 9(3): 523-532.
- 33-Montville TJ, Matthews KR. *Food Microbiology: An introduction* ASM Press, Washington, D.C.2005.
- 34-Yangilar F, Özdemir S. Microbiological properties of Turkish Beyaz cheese samples produced with different probiotic cultures. *African Journal of Microbiology Research*, 2013; 7(22): 2808-2813.
- 35- Kebary KK, El-Shazly HA, Youssef IT. Quality of Probiotic UF Domiati Cheese made by *Lactobacillus rhamnosus*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2015; 4(7):647-656.
- 36-Alkhalailah, NI. Textural Profile Characterizations of White Brined Cheese Manufactured from Sheep's, Goat's or Combination Milk Mixtures. *Asian Journal of Dairy and Food Research*. 2025; 44(1): 117-123.A.