Archive of SID

مجله پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد۱/ ۱۹ شماره ۲/ سال ۱۳۸۸

ماندگاری باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و تاثیر آن بر خواص کیفی و حسی پنیر سفید ایرانی فراپالایشی

شهین زمردی[۱*]، مهدی رضوی روحانی[۲] اصغر خسروشاهی اصل[۳] و علی احسانی[۴]

تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱/۱۷

۱- دانشجوی دوره دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه
۲- استاد گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه
۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
٤- استادیار گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه
*مسئول مکاتبه E-mail:shahinzomorodi@gmail.com

چکیده

قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* (ATCC 39392 Collection, Australia) در پنیر سفید ایرانی فراپالایشی بررسی گردید. چهار تیمار از پنیر تولید شد. کنترل I (C1) حاوی استارتر تجارتی شامل *لاکتوکوکوس کرموریس* و *لاکتوکوکوس دی‌استیلاکتیس* و بدون باکتری پروبیوتیک، کنترل II (C2) بدون استارتر تجارتی و حاوی *باکتری لاکتوباسیلوس کازئی* به عنوان استارتر)، تیمارLC دارای استارتر تجارتی همراه با *لاکتوباسیلوس کازئی* بفرم آزاد) و تیمار LCC دارای استارتر تجارتی و *لاکتوباسیلوس کازئی* بفرم کپسوله با استفاده از آلژینات سدیم به روش اکستروژن). پنیرهای تولیدی در دمای 8-10 درجه سانتی‌گراد به مدت 60 روز نگهداری شدند. قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک و نیز درصد رطوبت، نمک، پروتئین، چربی و pH نمونه‌ها هر 15 روز یکبار تعیین شد. در پایان دوره نگهداری، خواص حسی پنیرها نیز تعیین گردید. نتایج تجزیه آماری نتایج نشان داد که در روز اول، تعداد *ل. کازئی* در تیمارهای C2، LC و LCC به ترتیب عبارت از لگاریتم 8/61، 8/60 و 8/69 کلنی در گرم بود که پس از 60 روز نگهداری تعداد آنها به لگاریتم 6/57، 7/01 و 8/20 کلنی در گرم کاهش یافت (میزان کاهش به ترتیب حدود23/7%، 18/5% و 5/6 %) ($P<0.01$). در تمام نمونه‌های پنیر پروبیوتیک تعداد باکتری‌های زنده مانده بیش از حداقل مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات مفیدی در سلامتی انسان (10^7 - 10^6کلنی در گرم) بود. همچنین در طول رسیدن پنیر در تمام نمونه‌ها درصد رطوبت وpH بطور معنی‌داری کاهش و درصد نمک و پروتئین افزایش نشان داد اما درصد چربی بر پایه ماده خشک (FDM) تغییرات معنی‌داری نداشته است ($P>0.01$). بیشترین و کمترین مقدار کاهش رطوبت در پایان دوره نگهداری (پس از 60 روز) به ترتیب 6/1 و 3/3 درصد مربوط به پنیر LCC و C1 بود. بنابراین ممکن است نوع استارتر در میزان رطوبت پنیر موثر باشد. در پایان دوره نگهداری نیز بیشترین و کمترین pH به ترتیب مربوط به نمونه C1 و LC بود و نیز کاهش pH در LCC کمترین مقدار(9/26%) بود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که هیچکدام از نمونه‌ها از نظر طعم و بافت تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند اما نمونه C2 بطور غیر معنی‌داری بیشترین امتیاز طعم و بافت را به خود اختصاص داده است. نتایج نشان داد که می‌توان باکتری پروبیوتیک *ل. کازئی* را به هر دو فرم آزاد و کپسوله با موفقیت در پنیر سفید ایرانی فراپالایشی استفاده نمود بدون اینکه اثرات نامطلوبی بر کیفیت پنیر داشته باشد. همچنین به عنوان استارتر نیز می توان از این باکتری در پنیر سفید ایرانی فراپالایشی استفاده نمود.

کلمات کلیدی: ارزیابی حسی، پروبیوتیک، پنیر سفید ایرانی فراپالایشی، ترکیبات شیمیایی، قابلیت زیستی، کپسوله کردن ، *لاکتوباسیلوس کازئی* ATCC 39392

www.SID.ir

Archive of SID

Surviving of Probiotic Bacteria *Lactobacillus casei* and its Effect on the Quality and Sensory Evaluation of the Iranian White Cheese Produced by Ultrafiltration Technique

SH Zomorodi[1*], M Razavi Rohani[2], A Khosrowshahi Asl[3] and A Ehsani[4]

[1]Ph.D Student of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran
[2]Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University
[3]Professor, Faculty of Agriculture, Urmia University
[4]Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University
*Corresponding author: E-mail:shahinzomorodi@gmail.com

Abstract

The survival of the probiotic strains *Lactobacillus casei* (ATCC 39392 Collection, Australia) was investigated in the Iranian white cheese produced by ultrafiltration technique. Four treatments of UF Iranian white cheese were produced: control I (C_1), with a commercial starter culture mix including *Lactoccocus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis spp diacetylatis*), control II (C_2), with commercial starter culture mix and the probiotic *L. casei*, LC with a commercial starter culture mix and probiotic *L. casei* (uncapsulated) and LCC with commercial starter culture mix and probiotic *L. casei* capsulated with Sodium Alginate by extrusion method. The cheese samples were ripened at 8-12 ^{o}C for 60 days and the viability of cultures and also moisture, salt, protein, fat in solids, pH were determined biweekly. Cheese samples also were analyzed for sensory evaluation at the end of 60 days of ripening. At day 1, the log10 numbers of *L. casei* in the samples C_2, LC and LCC were 8.61, 8.60 and 8.69 cfu g^{-1} respectively. These figures reached to log10 6.57, 7.01 and 8.20 cfu g^{-1} after 60 days of storage, respectively. The reduction was significant ($P>0.01$). The final numbers of *L. casei*, in all of the cheese samples were greater than the minimum numbers of the recommended therapeutic products (10^6-10^7 cfu /g). Moisture content and pH of all cheeses were decreased and salt and protein content increased during ripping, while the fat in Dry matter (FDM) content of all cheese were not change significantly during storage ($P <0.01$). The maximum and minimum range of loss of moisture at the end of ripening period was 6.1 and 3.34 % which belonged to LCC and C_1 respectively. Therefore it was concluded that the type of starter affects the moisture content. The maximum and minimum range of loss of pH at the end of ripening period belonged to C_1 and LC respectively and the loss of pH in the LCC was the least (9.26%). The sensory evaluation showed that there was no significant difference between the experimental samples from a texture and flavor point of view. While C_2 acquired the high score of texture and flavor but not significantly. Therefore probiotic *Lb. casei* both form free and microencapsulated can be used successfully in Iranian white cheese produced by ultrafiltration technique without adversely affecting the cheese quality during ripening. Also *L. casei* can be use as starter culture in the Iranian white cheese produced by ultrafiltration technique.

Keywords: Probiotic, Iranian white cheese produced by ultrafiltration technique, Survival, Microencapsulate and *Lactobacillus casei* (ATCC 39392)

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در سالهای اخیر کیفیت و سالم بودن مواد غذایی توجه مصرف کنندگان را به خود معطوف ساخته است. امروزه اکثر مصرف کنندگان نه تنها به سالم بودن غذا و ارزش تغذیه‌ای آن توجه دارند بلکه در رابطه با تاثیر سلامت بخشی آن نیز علاقه مند هستند. چنین خصوصیاتی را در گروه جدیدی از غذاها تحت عنوان غذاهای عملگرا می‌توان پیدا کرد که حاوی محصولات پروبیوتیکی می‌باشند. بر اساس تعریف ارائه شده توسط دانشمندان و محققان، باکتری‌های پروبیوتیک عبارت از میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که پس از مصرف، در روده ساکن شده و اثرات مفیدی در سلامتی انسان بر جای می‌گذارند (گوآرنر و شاسمی 1998 و قاسم اوغلی و همکاران 2004) پروبیوتیک‌های رایج شامل گونه‌های مختلف باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم* و *لاکتوباسیلوس*ها می‌باشند. مطالعات نشان داده است که این باکتری‌ها موجب کاهش لاکتوز، کلسترول و فشار خون می‌شود. از سرطان روده بزرگ، روده کوچک و کبد، از التهابات روده ای، عفونت‌ها، اسهال حاد و از رشد و تکثیر باکتری‌های مضر جلوگیری می کند. موجب بهبود و تقویت سیستم ایمنی شده و به عمل گوارش، جذب مواد معدنی و ویتامین‌ها کمک می‌کنند (آویند و همکاران 2003، ساکسیلن و همکاران 2005، گلیلند 1990، شاه و جلین 1990 و بویلستن و همکاران 2004). فرآورده‌های تخمیری لبنی، بهترین حامل پروبیوتیک محسوب می‌شوند. در این میان، پنیر می‌تواند یکی از بهترین محصولات حامل باکتری‌های پروبیوتیک باشد. بالا بودن مقدار چربی پنیر و شبکه جامد آن شاید عامل افزایش زنده ماندن باکتری‌ها در طول نگهداری و عبور آن در بدن انسان باشد (ویندرولا و همکاران 2000، گومز و همکاران 1995، راس و همکاران 2002، بویلتن و همکاران 2004 و آنق و همکاران 2006) امکان استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در تهیه پنیرهای مختلفی از جمله پنیر چدار[1] (گاردینار و همکاران 1998، مک بریرتی و همکاران 2001)، پنیر گودا[2] (گومز و همکاران 1998)، پنیر کرسنز[3] (گوبیتی و همکاران 1997)، پنیر کاتیج[4] (بلانچت و همکاران 1996) و پنیر مینار[5] (برتای و همکاران 2005a) بررسی گردیده است. نتایج تحقیقات وندیرولا و همکاران (2000) نشان داد پنیر آرژانتینی حامل مناسبی برای باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد. برقامینی و همکاران (2006) تاثیر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* را در پنیر نیمه سفت در طول رسیدن بررسی نموده و نشان دادند که تعداد باقی مانده باکتری‌های پروبیوتیک در طول رسیدن بیش از 10^7 کلنی در گرم بوده است. برتانی و همکاران (2005b) تاثیر *ل. پاراکازئی* را بر خواص ارگانولپتیکی و خواص پنیر مینار در طول نگهداری در 5 درجه سانتی‌گراد به مدت 21 روز بررسی کردند و نشان دادند که تولید این نوع پنیر با *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*، به عنوان غذای عملگرا بهترین پتانسیل را دارد. فیلیپس و همکاران (2006) در تهیه پنیر چدار از انواع مختلف ارگانیسم‌های پروبیوتیک از جمله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس رامونوس* و *بیفیدوباکتریوم* به طور جدا و نیز بصورت ترکیب استفاده نمودند و تعداد ارگانیسم‌های زنده مانده را در طول مدت 32 هفته نگهداری بررسی کردند. نتایج نشان داد *ل. کازئی*، *ل. پاراکازئی* و *ل. رامونوس* بترتیب با داشتن تعداد 10^7 ×2، 10^7× 1/6 و 10^8 × 9 کلنی در گرم بسیار مناسب بودند. اما تعداد *بیفیدوباکتریوم‌های* زنده مانده 10^8 ×5 کلنی در گرم بیشتر از سایر باکتری‌ها بود و تعداد *ل. اسیدوفیلوس* در حدود 10^3× 3/6 کلنی در گرم کمترین مقدار بود. این مطالعه نشان داد که پنیر

[1]Cheddar
[2]Gouda
[3]Crescenz
[4]Cottage
[5]Minas

www.SID.ir

Archive of SID

چدار حامل خوبی برای باکتری‌های پروبیوتیک تجارتی است اما باید میزان زنده ماندن *ل. اسیدوفیلوس* اصلاح گردد. در یک مطالعه خواص حسی پنیر چدار پروبیوتیک تهیه شده با *ل. اسیدوفیلوس* 4962، *ل. کازئی* 279، بیفیدوباکتریوم لانگوم *1941*، *ل. اسیدوفیلوس* LAFTI، *ل. پاراکازئی* LAFTI L26 یا *باسیلوس لاکتیس* LAFTI B94 بعد از 9 ماه رسیدن در دمای 4 درجه سانتی‌گراد بررسی شد. امتیازات حسی پنیرهای پروبیوتیک به استثنای پنیرهای تهیه شده با *ل. اسیدوفیلوس* 4962، اختلاف معنی داری با پنیر کنترل داشتند. همچنین مقدار اسید استیک نیز در پنیرهای پروبیوتیک بیشتر از پنیر کنترل بود (آنق و همکاران 2007). گومز و همکاران (1995) نشان دادند زمانی که *ب. لاکتیس* همراه با *ل. اسیدوفیلوس* به عنوان استارتر در تهیه پنیر گودا استفاده می‌شود طعم پنیرها بعد از 9 هفته رسیدن بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد علت آن شاید در اثر تولید اسید استیک توسط، بیفیدوباکتریوم باشد.

مطالعات نشان داده است که قابلیت زیستی پروبیوتیک ها در فراورده های لبنی مانند ماست و پنیر محدود می باشد. روش‌های مختلفی برای حفاظت پروبیوتیک‌ها وجود دارد که یکی از این روش‌ها میکروکپسوله کردن است. میکروکپسوله کردن یک فرایند مکانیکی یا فیزیکوشیمیایی است که در آن ذرات محتوی اجزای فعال توسط سایر مواد پوشش داده می شود. در بین مواد مختلف مورد استفاده برای کپسوله کردن، در حد وسیعی از آلژینات سدیم استفاده می شود. آلژینات یک هتروپلی ساکارید خطی متشکل از D-مانورونیک و L-گالاکترونیک اسید استخراج شده از انواع مختلف دانه‌ها یاجلبکهای دریایی است. آلژینات سدیم محافظ خوبی برای پروبیوتیک های کپسوله در شرایط روده‌ای است (لی و هیو 2000 و چیندریمولی و همکاران 2004). استفاده از آلژینات به دلیل ارزان و ساده بودن و نیز سازگار بودن آن با موجودات زنده مطلوب است (کلاین و همکاران 1983 و مارتینسین و همکاران 1989).

کپسوله کردن را می‌توان برای افزایش قابلیت زیستی میکروارگانیسم‌ها هم در فراورده‌های لبنی و هم در دستگاه گوارش استفاده کرد. نتایج حاصل از تحقیقات نشان دادکه پنیر پروبیوتیک حاوی باکتری بیفیدوباکتریوم و *ل. پاراکازئی* میکروکپسوله شده از نظر میزان پروتئین محلول، طعم، ظاهر، بافت و میکروفلور طبیعی هیچ اختلافی با تیمار کنترل نداشت. بقای باکتری بیفیدوباکتریوم و *ل. پاراکازئی* کپسوله شده به ترتیب حداقل 6 و 3 ماه بود (لاگیز 2007). اوزر و همکاران (2009) در تهیه پنیر سفید آب نمکی از ب. بیفیدوم و *ل. پاراکازئی* کپسوله شده استفاده کردند. نتایج آنها نشان داد که این تکنیک موجب حفظ تعداد باکتری‌های پروبیوتیک بیش از مقدار لازم برای تامین سلامتی گردید. تعداد باکتری‌های پروبیوتیک غیرکپسوله تقریبا 3 لگاریتمی کاهش یافت در حالیکه تعداد باکتری-های کپسوله شده فقط یک سیکل کاهش داشت. پنیرهای حاوی باکتری‌های پروبیوتیک غیرکپسوله نسبت به پنیرهای کنترل دارای مقدار زیادی استالدئید و دی استیل بودند. پنیرهای حاوی باکتری‌های پروبیوتیک کپسوله شده دارای خواص ارگانولپتیکی مشابه کنترل بود و اختلافی نداشت (یلمازتیکین و همکاران 2004). کراسیکوپت و همکاران (2003) و ادیتای و همکاران (2000) نیز نشان دادند که قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک کبسوله شدن در ماست بیشتر از فرم آزاد بود.

نظر باینکه برای تامین سلامتی لازم است که تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده مانده در ماده غذایی حداقل 10^7 کلنی در گرم یا در میلی‌لیتر باشد (ایشیباشی و شیمامیر 1993)، لذا در این بررسی تاثیر باکتری پروبیوتیک *ل. کازئی* به دو فرم آزاد و کبسوله، نیز بدون استارتر تجارتی در خواص فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر

www.SID.ir

Archive of SID

سفید ایرانی فراپالایشی و نیز ماندگاری آن درپنیر مزبور مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد

شیر گاو تهیه شده از دامداری‌های ارومیه (که ویژگی‌های آن در جدول 1 آورده شده است)، استارتر مزوفیل شامل *لاکتوکوکوس کرموریس* و *لاکتوکوکوس دی‌استیلاکتیس* متعلق به شرکت دنیزکوی فرانسه، باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* ATCC 39392 (Collection, Australia)، رنت از شرکت DSM استرالیا، محیط کشت MRS[1] از شرکت شارلوت اتحادیه اروپایی، آلژینات سدیم از شرکت سیگما-آلدریچ استرالیا و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایش‌ها از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

تجهیزات

ترازو حساس ساتریوس با دقت 0/0001 گرم ساخت آلمان، pH متر متروم[2] ساخت سویس، فور و انکوباتور هر دو ممرت ساخت آلمان، اتوکلاو جی‌ام‌بی-اچ[3] ساخت آلمان، استومیکر سووارد[4] ساخت انگلیس، سانتریفوژ یخچالدار اپاندروف[5] ساخت آلمان.

آماده کردن باکتری‌های پروبیوتیک

آمپول لیوفیلیزه حاوی باکتری *ل. کازئی* در شرایط استریل شکسته شد و محتوی آن به لوله آزمایش دارای مقدار 10 میلی لیتر محیط کشت مایع MRS منتقل گردید و مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس به ارلن حاوی 95 میلی‌لیتر از محیط کشت فوق منتقل شد و تحت شرایط ذکر شده انکوبه گردید. این عمل 2 تا 3 بار تکرار شد تا تعداد باکتری‌ها به مقدار لازم برسد. سپس سلولهای میکروبی توسط سانتریفوژ یخچالدار با دور 1500g و دمای 25 درجه سانتی به مدت 15 دقیقه برداشت شد. باکتری‌های برداشت شده دو بار با آب پپتون 0/1 درصد استریل شستشو داده شدند (کراسیکوپ و همکاران 2004).

کپسوله کردن

کپسوله کردن به روش اکستروژن انجام گرفت (میندل و همکاران 2006 و کراسیکوپ و همکاران 2003). باکتری‌ها پس از شستشو، در 5 میلی لیتر آب پپتون 0/1 درصد (وزنی/حجمی) استریل بصورت سوسپانسیون در آورده شدند و با 20 میلی لیتر از محلول سدیم آلژینات 2 درصد (وزنی/حجمی) استریل (در دمای 121 درجه به مدت 15 دقیقه) مخلوط شدند. سوسپانسیون سلولی توسط سرنگ استریل با قطر 0/11 میلی متر به ظرف حاوی محلول 0/05 مولار کلرید کلسیم استریل تزریق شد. کپسول‌ها به مدت 30 دقیقه برای سفت شدن در محلول فوق نگهداشته شدند. سپس آبکشی گردید و تا زمان مصرف در آب پپتون 0/1 درصد استریل در دمای 4 درجه نگهداری شد.

پنیر سفید ایرانی فراپالایشی (UF)

نمونه‌های پنیر در کارخانه آیناز ارومیه به روش معمول آن کارخانه تهیه شد. شیر خام (جدول 2) بعد از عبور از پیش سردکن، کلاریفایر، دستگاه باکتریفوژ و دستگاه خلاء، وارد دستگاه پاستوریزاتور شد و در دمای 72 درجه سانتیگراد به مدت 15 ثانیه پاستوریزه گردید. در دستگاه اولترافیلتراسیون (UF) با استفاده از صافی-های غشایی لوله‌ای، آب، املاح و لاکتوز شیر پاستوریزه

[1] De Man, Rogosa, Sharpe
[2] 691-Metrohm
[3] Gmbh
[4] Seward
[5] Eppendorf

www.SID.ir

Archive of SID

گرفته شده و ماده خشک شیر افزایش یافت (جدول 1). رتنتات در دمای 55 درجه سانتی‌گراد هموژنیزه و در دمای 78 درجه به مدت 1 دقیقه پاستوریزه شد. سپس تا دمای 37 درجه جهت مایه زنی سرد و وارد بالانس تانک گردید. در مسیر به مقدار 1 درصد استارتر و مقدار 30 میلی‌گرم در کیلوگرم رنت اضافه شد و بلافاصله به میزان 300 گرم در لیوان‌های مخصوص پر گردید. همزمان با پر شدن رتنتات در لیوان‌ها، تقریبا تعداد 10^{9}-10^{8} کلنی درگرم از باکتری‌های پروبیوتیک بصورت آزاد و کپسوله شده بطور مجزا به لیوان‌ها اضافه شد. سپس لیوان‌ها از تونل انعقاد (به مدت 30 دقیقه با دمای 30 درجه سانتی‌گراد) عبور کردند تا لخته تشکیل شود. سپس با قرار گرفتن کاغذ مخصوص به نام پارچمنت، مقدار 3 درصد نمک گرانولی روی پارچمنت ریخته شده و دربندی گردید. پنیرهای تولیدی به مدت 24 ساعت در گرمخانه با دمای 25-30 درجه سانتی‌گراد و 48 ساعت در سردخانه با دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. تیمارها در 3 تکرار تهیه شدند که عبارت بودند از:

کنترل I (C1) حاوی استارتر تجارتی و بدون باکتری پروبیوتیک، کنترل II (C2) بدون استارتر تجارتی و دارای باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* به عنوان استارتر، تیمار LC، دارای استارتر تجارتی همراه با *لاکتوباسیلوس کازئی* بفرم آزاد و تیمار LCC حاوی استارتر تجارتی همراه با *لاکتوباسیلوس کازئی* بفرم کپسوله.

پنیر خروجی از سردخانه نمونه‌های روز اول بودند. سپس نمونه های تولیدی به مدت 60 روز در سردخانه با دمای 10-8 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در طول نگهداری در فواصل زمانی 1، 15، 30، 45 و60 روز از نمونه‌های پنیر به روش تصادفی نمونه‌برداری شد و آزمایشات لازم انجام گرفت.

آزمایش‌های میکروبی

برای تهیه رقت، مقدار 10 گرم پنیر تولیدی همگن شده در کیسه‌های زیپ دار استریل حاوی90 میلی لیتر تری سدیم سیترات (2 گرم در 100) استریل توزین شد و مدت 2 دقیقه توسط استومیکر همگن گردید. سری رقت‌ها با افزایش 1 میلی لیتر از هر رقت به 9 میلی لیتر آب پپتون استریل تهیه شد. سپس به صورت پور پلیت در محیط کشت MRS آگار کشت داده شد و مدت 72 ساعت در دمای 37 درجه انکوبه شد و سپس تعداد کلنی‌ها شمارش گردید (کراسیکوپ و همکاران 2004).

آزمایش‌های شیمیایی

تعیین مقدار نمک به روش ولهارد، چربی با روش ژربر، رطوبت و ماده خشک از طریق خشک کردن در آون 2± 102درجه سانتی‌گراد، پروتئین با استفاده از روش میکروکلدال، pH توسط pH متر (1997، AOAC) انجام شد.

ارزیابی حسی

در پایان دوره نگهداری (بعد از 60 روز) طعم و مزه و بافت نمونه‌های پنیر توسط گروه ارزیاب حسی با استفاده از آزمایش تمایل مصرف کننده و روش هدونیک 5 نقطه‌ای انجام گرفت. تعداد 15 داور از اعضای هیت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آربایجان غربی با استفاده از آزمایش تشخیص درجه یا سطح کیفیت انتخاب شدند تا نمونه ها را از لحاظ فاکتورهای کیفی که با حواس قابل درک هستند مثل رنگ، طعم و مزه مورد بررسی قرار دهند. از هر تیمار تعداد 15 نمونه یکسان (قطعاتی به ابعاد 1 سانتی‌متر معکب) تهیه و همراه با فرم مخصوصی که دارای مقیاس هدونیک 5 نقطه‌ای بود به داوران داده شد تا با توجه به ذائقه خود فرمها را تکمیل کنند. برای این منظور امتیاز 5 برای

www.SID.ir

Archive of SID

کیفیت مطلوب و امتیاز 1 برای کیفیت نامطلوب اختصاص داده شد. فرمهای تکمیل شده شامل ارزیابی کلی مصرف کننده بصورت یک ارزش عددی درآورده شد و تجزیه واریانس گردید.

روش طرح آماری

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی است. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS (10) تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام خواهد گرفت. برای رسم منحنی‌ها از نرم افزار (2007) Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها

تغییرات تعداد باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در پنیر سفید ایرانی تولید شده به روش UF در طول 60 روز نگهداری در شکل 1 آورده شده است. همانطوریکه از شکل مشخص است در طول زمان نگهداری در تمام نمونه‌های پنیر تعداد باکتری‌های *ل. کازئی* کاهش یافت ($P<0.01$). در روز اول، لگاریتم تعداد *ل. کازئی* در گرم در تیمارهای C2، LC و LCC به ترتیب عبارت از 8/61، 8/60 و 8/69 بود که پس از 60 روز نگهداری تعداد آنها به 6/57، 7/01 و 8/20 کاهش یافت (میزان کاهش به ترتیب حدود23/7%، 18/5% و 5/6 % بود) ($P<0.01$). میزان کاهش تعداد باکتری‌ها در نمونه C2 در حدود 2 سیکل لگاریتمی (بیشترین مقدار)، در LC 1/5 سیکل لگاریتمی و در LCC به مقدار 0/5 سیکل لگاریتمی (کمترین مقدار) بود. بالا بودن میزان نمک و پایین بودن نسبی pH پنیر سفید ممکن است علت اصلی کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طول نگهداری باشد که رشد پرویبوتیکهای حساس به نمک و اسید، که به صورت آزاد استفاده شده‌اند را محدود می‌سازد (قدوسی و رابینسون 1996 و یلمازتیکین و همکاران 2004).

نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج مطالعات انجام شده بر روی محصولات غذایی حاوی پروبیوتیک از جمله ماست (ادیتای و همکاران 2000 و کراسکوپ و همکاران 2003) و پنیر (اوزر و همکاران 2009، فیلیپ و همکاران 2009 و قاسم اوغلی و همکاران 2004) مطابقت دارد. اوزر و همکاران (2009) نشان دادند که در طول نگهداری پنیر سفید ترکیه به مدت 90 روز در دمای 4 درجه سانتی‌گراد تعداد باکتری‌های پروبیوتیک به فرم آزاد در حدود 3 سیکل لگاریتمی، و فرم کپسوله آنها در حدود 1 سیکل لگاریتمی کاهش پیدا کرد که تاییدی بر نتایج این بررسی است. همچنین نتایج ما با نتایج حاصل از تحقیقات برقامینی و همکاران (2005) مطابقت دارد آنها نشان دادند که پس از 60 روز نگهداری تعداد *ل. کازئی* در پنیر نیمه سفت آرژنتینی در حدود 10^9 کلنی در گرم بود.

بعد از 15 روز نگهداری تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در تمام نمونه‌های پنیر سریعا کاهش یافت که این کاهش در پنیرهای C2 بیشترین و در LCC کمترین مقدار بود. پس از 30 روز نگهداری تعداد پروبیوتیک‌ها در تمام نمونه‌ها افزایش نشان داد و سپس تا پایان دوره نگهداری تعداد آنها در پنیرهای LC و LCC به مقدار جزئی افزایش نشان داد که این افزایش در LCC بیشتر بود. این تغییرات شاید به دلیل آدابته شدن پروبیوتیک‌ها در نمونه‌های پنیر باشد. در طول 15 روز اول نگهداری، باکتری‌ها با شرایط محیطی آدابته نبودند در نتیجه تعداد آنها سریعا کاهش نشان داد سپس در اثر آدابته شدن تغییرات در تعداد باکتری‌ها کمتر بود.

یکی از دلایل محدود شدن کاهش تعداد پروبیوتیک‌های کپسوله شده مورد استفاده در پنیرها شاید به دلیل تجزیه آهسته میکروکپسول‌ها در طول

www.SID.ir

Archive of SID

رسیدن پنیر ناشی از تاثیر نمک وآب نمک باشد. تبادل یونهای نمک با یونهای کلسیم باند شده به کبسول آلژینات موجب تجزیه آهسته کبسول و آزادسازی پروبیوتیک‌ها در محیط می‌گردد. از طرفی علاوه بر تجزیه آهسته میکروکبسولها در طول رسیدن، نفوذ نمک به کبسول‌ها نیز در قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک موثر است (اوزر و همکاران 2009) بشارج و همکاران (2009) نشان دادند که در پنیرهای پروبیوتیک فاقد استارتر تجارتی تعداد لاکتوباسیلوس‌ها تا 90 روز ثابت ماند و سپس تا پایان 120 روز سریعا کاهش نشان داد.

لازم به توضیح است که در تمام نمونه‌های پنیر تعداد باکتری پروبیوتیک زنده مانده بیش از میزان پیشنهادی مورد نیاز برای تامین سلامتی می‌باشد (حداقل 10^7 کلنی در گرم). محققان اخیر خاطر نشان کردند که استفاده از تکنیک کبسوله کردن برای حفظ تعداد پروبیوتیک‌های ب. بیفیدوم و *ل. اسیدوفیلوس* به مقدار لازم در پنیر سفید نمکی ترکیه جهت خواص درمانی مناسب است (10^7 کلنی در گرم) که با نتایج این بررسی مطابقت دارد (برقامینی و همکاران 2005، بشارج و همکاران 2009 و اوزر و همکاران 2009).

ترکیبات شیمیایی

درصد رطوبت، نمک، پروتئین، چربی در ماده خشک و pH پنیرهای C1، C2، LC و LCC در طول رسیدن پنیر در جدول 2 آورده شده است. در طول رسیدن پنیر در تمام نمونه‌ها درصد رطوبت و درصد نمک به ترتیب بطور معنی‌داری کاهش و افزایش نشان داد ($P<0.01$). نتایج این بررسی با نتایج حاصل از تحقیقات سایر مطالعات مطابقت دارد (قاسم اوغلی و همکاران 2004 و برتای و همکاران 2005) کاهش رطوبت شاید به علت جریان اسمزی در طول رسیدن پنیر در آب نمک باشد. بطوریکه نمک از آب نمک به داخل پنیر منتقل شده و آب به بیرون از پنیر انتقال می یابد (کلهیم و فارستون 1984).

میزان رطوبت نمونه C1 بیشترین مقدار و نمونه C2 کمترین مقدار بود. اما میزان رطوبت پنیرهای LC و LCC در یک سطح آماری قرار داشت (در سطح 0/01). بیشترین و کمترین مقدار کاهش رطوبت در پایان دوره نگهداری (پس از 60 روز) به ترتیب 6/1 و 3/3 درصد مربوط به پنیر LCC و C1 بود. بطور کلی مقدار رطوبت C2 کمترین و C1 بیشترین مقدار بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است نوع استارتر در میزان رطوبت پنیر موثر باشد. همچنین نتایج تجزیه آماری نشان داد که درصد نمک نمونه‌های پنیر اختلاف معنی-داری با یکدیگر نداشتند و تمام آنها در یک سطح آماری قرار داشتند (جدول 2).

pH نیز همچون رطوبت در طول زمان رسیدن پنیر بطور معنی داری کاهش پیدا کرده است ($p<0.01$). یک روز بعد از تولید، pH تمام نمونه‌ها در یک سطح آماری قرار داشت. در طول نگهداری میزان کاهش pH در نمونه‌های پنیر C1 کمترین مقدار (5/4%) و در نمونه-های C2 و LC بیشترین مقدار (12/7%) و در نمونه LCC در حدود 9/3 درصد بود. نتایج حاصل از تحقیقات برتای و همکاران (2005)، انق، هنریکسون و شاه (2007) و برونو و همکاران (2002) نتایج این بررسی را تایید می‌کند. کاهش pH در طول نگهداری و نیز علت اختلاف در میزان pH شاید ناشی از فعالیت اسیدی استرین‌های پروبیوتیک مورد استفاده باشد (آنق و همکاران 2007). اونق و همکاران (2007) نیز نشان دادند که در طول رسیدن پنیرهای چدار پروبیوتیک در دمای 4 درجه سانتی‌گراد غلظت اسید استیک افزایش می‌یابد در پنیرهای چدار حاوی *ل. کازئی* مقدار اسید استیک در انتهای دوره رسیدن (بعد از 6 ماه) به 0/07 درصد رسید.

درصد پروتئین نیز همچون نمک در طول رسیدن بطور معنی‌داری افزایش نشان داد ($P<0.01$) که این افزایش در نمونه‌های C2 بیشترین مقدار (17/5%) و در C1 کمترین مقدار (5/5%) بود. همچنین درصد پروتئین

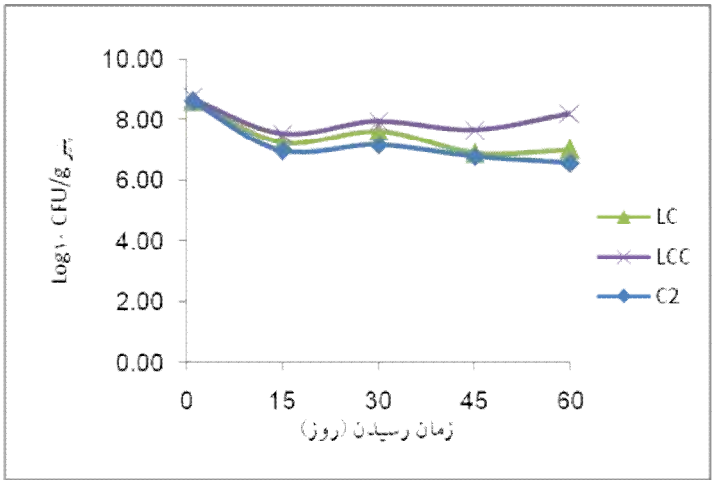
www.SID.ir

Archive of SID

جدول 1-ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شیر خام و رتنتات مصرفی

نام نمونه	چربی (%)	پروتئین (%)	ماده خشک (%)	اسیدیته(^oD)	pH
شیر خام	3/17±0/21	3/06±0/11	8/61±0/29*	14/51±0/98	-
رتنتات	37/12±0/45**	11/51±0/19	37/28±1/21	32/45±0/50	6/62±0/03

*ماده خشک بدون چربی و ** درصد چربی بر پایه ماده خشک (FDM)



شکل 1- تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس *کازئی* در پنیر سفید ایرانی فراپالایشی در طول 60 روز نگهداری.

C2: پنیر پروبیوتیک حاوی *ل. کازئی* بدون استارتر تجارتی، LC و LCC پنیرهای پروبیوتیک، به ترتیب دارای *ل. کازئی* به فرم غیر کپسوله و کپسوله شده (هر دو حاوی استارتر تجارتی)

www.SID.ir

Archive of SID

نمونه C2 بیشترین مقدار است. یک روز پس از تولید پروتئین تمام نمونه‌ها در یک سطح آماری قرار داشت (جدول 2). بنابراین استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک تاثیری بر میزان پروتئین پنیر سفید ایرانی تهیه شده به روش اولترافیلتراسیون نداشته است. نتایج مشابهی در تحقیقات انجام شده توسط گراندر و همکاران (1998)، اونق و همکاران (2006)، بشارع و همکاران (2009) حاصل شده است.

درصد چربی بر پایه ماده خشک (FDM) در طول نگهداری تغییرات معنی‌داری نداشته است ($P<0.01$). بعد از تولید، FDM تمام نمونه‌ها در یک سطح قرار داشتند. اما مقدار FDM در نمونه‌های C1 و LCC کمتر از نمونه های C2 و LC بود. اختلاف در میزان چربی ناشی از لیپولیز و انتقال اسیدهای چرب از پنیر به آب نمک باشد (قاسم اوغلی و همکاران 2004).

خواص حسی

نتایج تجزیه آماری خواص حسی (طعم و بافت) نمونه‌های پنیر تولیدی بعد از 60 روز نگهداری در جدول 3 آورده شده است. همانطوریکه از جدول مشخص است هیچکدام از نمونه‌ها از نظر طعم و بافت تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ($P>0.05$). اما نمونه C2 بطور غیرمعنی‌داری بیشترین امتیاز طعم و بافت را به خود اختصاص داد (جدول 3). علت مطلوبیت بافت شاید به دلیل پایین بودن رطوبت (63/67%) و بالا بودن ماده خشک پنیر C2 باشد. بشارج و همکاران (2009) نشان دادند که پنیرهای سفید ترکیه حاوی باکتری پروبیوتیک *ل. پلانتاریوم* و *ل. فرمانتاتیو* همراه با استارتر تجارتی ازاین نظر دارای بیشترین امتیاز طعم بودند که با نتایج ما مطابقت ندارد. علت عدم مطابقت شاید بدلیل اختلاف در نوع باکتری پروبیوتیک مورد استفاده باشد. زیرا نشان داده شده است که *ل. کازئی* تولید اسید استیک می کند (شهیتا و شاه 2000) در حالیکه *ل. پلانتاریوم* و *ل. فرمانتاتیو* دارای فعالیت اسیدیته ضعیف‌تری هستند (بشارج و همکاران 2009).

گراندر و همکاران (1998) و استانتون و همکاران (1998) گزارش کردند که پنیر چدار محتوی مقدار زیادی *لاکتوباسیلوس‌ها* از نظر طعم و بافت اختلاف معنی‌داری با نمونه کنترل نداشتند که نشان می دهد افزایش *لاکتوباسیلوس‌ها* اثرات نامطلوبی بر خواص حسی ندارد که با نتایج ما مطابقت دارد. یلماستین و همکاران (2004) و اوزر و همکاران (2009) نیز نشان دادند که پنیرهای سفید ترکیه حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *ل. اسیدوفیلوس* و ب. بیفیدوم کپسوله شده دارای خواص ارگانولپتیکی مشابه کنترل بود و اختلاف معنی‌داری با آن نداشت (یلمازتیکین و همکاران 2004، اوزر و همکاران 2009). همچنین دیناکار و میستری (1994) و دیسموند و همکاران (2002) نشان دادند که پنیر حاوی *بیفیدوباکتریوم* و *ل. پاراکازئی* کپسوله شده از نظر طعم، ظاهر و بافت پنیر اختلاف معنی داری با نمونه کنترل نداشت که نتایج این بررسی را تایید می‌کند.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پنیر سفید ایرانی تهیه شده به روش فراپالایشی حامل خوبی برای پروبیوتیک *ل. کازئی* است. همچنین تعداد نهایی باکتری *ل. کازئی* زنده مانده بعد از 60 روز نگهداری در تمام نمونه‌های پنیر سفید ایرانی فراپالایشی پروبیوتیک بیش از حداقل مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات مفیدی در سلامتی انسان (10^7- 10^6 کلنی در گرم) بود.

میکروکپسوله کردن *ل. کازئی* با آلژینات سدیم منجر به افزایش قابلیت زیستی بالای این باکتری نسبت به فرم آزاد در این نوع پنیر گردید (در حدود 1 لگ). اما تعداد باکتری‌های زنده مانده در هر دوی آنها بالاتر از میزان توصیه شده است. بعلاوه این باکتری در ترکیبات شیمیایی پنیر (از جمله نمک، چربی و پروتئین) نیز تغییرات معنی‌داری ایجاد نکرد اما میزان رطوبت و pH

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 2- ترکیبات فیزیکوشیمیایی پنیرهای تولیدی در طول نگهداری

نام آزمایش	نمونه پنیر	زمان رسیدن (روز) 1	15	30	45	60
رطوبت	C1	69/11^{a}	68/57^{b}	68/21^{bc}	66/93^{d}	66/81^{d}
	C2	66/14^{e}	63/47^{h}	63/31^{h}	62/02^{i}	63/42^{h}
	LC	69/53^{a}	66/76^{d}	66/82^{d}	66/28^{e}	65/88^{ef}
	LCC	68/25^{bc}	67/84^{c}	67/79^{c}	65/55^{f}	64/09^{g}
pH	C1	4/42^{a}	4/30^{abcd}	4/33^{abc}	4/46^{a}	4/18^{bcde}
	C2	4/38^{ab}	4/13^{cde}	4/10^{def}	3/83^{gh}	3/82^{gh}
	LC	4/34^{ab}	4/05^{ef}	3/99^{efg}	3/77^{h}	3/79^{h}
	LCC	4/32^{abc}	4/26^{abcd}	4/30^{abcd}	4/00^{efg}	3/92^{fgh}
چربی (FDM)	C1	40/47^{abcde}	38/08^{cdef}	37/75^{def}	35/53^{f}	41/42^{abcd}
	C2	42/09^{abcd}	38/47^{bcdef}	42/24^{abc}	40/16^{abcde}	43/52^{a}
	LC	42/70^{ab}	39/06^{bcdef}	39/18^{bcdef}	39/33^{abcdef}	41/77^{abcd}
	LCC	37/80^{def}	38/85^{bcdef}	36/47^{ef}	38/46^{bcdef}	39/02^{bcdef}
پروتئین	C1	12/35de	11/74^{e}	14/95^{ab}	13/09^{bcde}	13/05^{bcde}
	C2	12/51de	12/88^{cde}	15/75^{a}	14/49^{abc}	14/97^{ab}
	LC	12/38de	11/49^{e}	12/84^{cde}	13/12^{bcde}	14/06^{abcd}
	LCC	11/34^{e}	12/02^{e}	13/01^{cde}	12/51^{cde}	12/33de
نمک	C1	2/82^{abcde}	2/97^{abcd}	3/03^{ab}	3/13^{a}	3/19^{a}
	C2	2/67^{bcde}	2/92^{abcd}	3/07^{ab}	3/14^{a}	2/91^{abc}
	LC	2/77^{bcde}	2/92^{abcd}	3/06^{ab}	3/18^{a}	3/14^{a}
	LCC	2/95^{abc}	2/91^{abcd}	3/02^{ab}	3/13^{a}	3/15^{a}

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در یک سطح آماری قرار دارند (آزمون دانکن در سطح احتمال 0/01)

www.SID.ir

Archive of SID

نمونه‌های پروبیوتیک کمی پایین‌تر ازنمونه کنترل بود. خواص حسی پنیرهای پروبیوتیک نیز هیچ اختلافی با تیمار کنترل نداشت. بنابراین می‌توان باکتری *ل. کازئی* را به هر دو فرم آزاد و کپسوله در تهیه پنیر سفید ایرانی فراپالایشی استفاده نمود. همچنین این باکتری را نیز می‌توان به جای استارتر تجارتی در تهیه پنیر سفید ایرانی فراپالایشی استفاده نمود زیرا نه تنها این باکتری در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی تاثیر نامطلوبی نداشته بلکه می‌تواند در ایجاد طعم و بافت مطلوب در پنیر نیز موثر باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله مراتب سپاس خود را از همکاری کارخانه لبنیات آل‌پایلا ارومیه، پژوهشکده بیوتکنولوژی دانشگاه ارومیه و آزمایشگاه بخش تحقیقات آب و خاک مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی بدلیل همکاری در اجرای این پایان نامه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

Adhikari K, Mustapha A, Gruen IU and Fernando L, 2000. Viability of microencapsulated *bifidobacteria* in set yogurt during refrigerated storage. J. of Dairy Sci. 83: 1946–1951.

AOAC, 1997. Official Methods of Analysis. 16th ed. 3rd rev. AOAC, Arlington, VA.

Basyigit Kılıç G, Kuleashan H, Eralp I and Karahan A, 2009. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. LWT - Food Sci. & Techno. xxx, 1–6.

Bergamini C, Hynes E, Quiberoni A, Suarez V and Zalazar C, 2005. Probiotic bacteria as adjunct starters: Influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. Food Research International, 38: 597–604.

Bergamini CV, Hynes ER and Zalazar CA, 2006. Influence of probiotic bacteria on the proteolysis profile of a semi-hard cheese. International Dairy J. 16: 856–866. Blanchette L, Roy D, Belanger G and Gauthier SF, 1996. Production of cottage cheese using dressing fermented by *bifidobacteria*. J. Dairy Sci. 79: 8–15.

Boylston TD, Vinderola CG, Ghoddusi H B and Reinheimer JA, 2004. Incorporation of *bifodobacterium* into cheeses: challenges and rewards. International Dairy J. 14: 375–387.

Bruno F A, Lankaputhra WEV and Shah NP, 2002. Growth, viability and activity of *Bifidobacterium spp*. in skim milk containing prebiotics. J. of Food Sci. 67(7): 2740–2743.

Buriti FCA, Rocha J S, Assis EG and Saad SMI, 2005a. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. LWT -Food Sci. and Technol. 38(2): 173–180.

Buriti FCA, Rocha JS, Assis EG and Saad SMI, 2005b. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. International Dairy J. 15: 1279–1288.

Chandramouli V, Kailasapathy K, Peiris P and Jones M, 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus spp*. in simulated gastric conditions. J. of Microbiological Methods. 56: 27–35.

Desai AR, Powell IB and Shah NP, 2004. Survival and activity of probiotic *Lactobacilli* in skim milk containing prebiotic. J. of Food Sci. 69(3): 57–60.

www.SID.ir

Archive of SID

Desmond C, Ross RP, O'Callaghan E, Fitzgerald G and Stanton C, 2002. Improved survival of *Lactobacillus paracasei NFBC 338* in spray-dried powders containing gum acacia. J. of Applied Microbiology. 93: 1003-1011.

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

Gardiner G, Ross RP, Collins JK, Fitzgerald G and Stanton C, 1998. Development of a probiotic Cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. Applied and Environmental Microbiology. 64: 2192–2199.

Gilliland SE, 1990. Healthand nutritional benefits from lactic acid bacteria. Microbiology Review. 87: 175–188.

Ghodussi HB and Robinson RK, 1996. The test of time. Dairy Industry International. 61: 25–28.

Gobbetti M, Corsetti A, Smacchi E, Zocchetti A and De Angelis M, 1997. Production of Crescenz a cheese by incorporation of *bifidobacteria*. J. Dairy Sci. 81: 37–47.

Gomes AMP, Malcata FX and Klaver FAM, 1995. Incorporation and survival of *Bifidobacterium* sp. strain *Bo* and *Lactobacillus acidophilus* strain Ki in a cheese product. Netherlands Milk and Dairy J. 49: 71–95.

Gomes AMP, Vieira MM and Malcata FX, 1998. Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: Simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. J. Food Eng. 36: 281–301.

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

Ishibashi N and Shimamura S, 1993. *Bifidobacteria* research and development in Japan. Food Technol. 47:126–135.

Kasımo&glu A, Goncuo&glu M and Akgun S, 2004. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. International Dairy J. 14: 1067–1073. Killham K and Firestone MK, 1984. Salt stress control of intracellular solutes in *Streptomycetes* indigenous to saline soils. Applied and Environmental Microbiology. 47: 301–305.

Klein J, Stock J and Vorlop KD, 1983. Pore size and properties of spherical Ca-alginate biocatalysts. European J. of Applied Microbiology and Biotechnol. 18(1): 86–91.

Krasaekoopt W, Bhandari B and Deeth H, 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. International Dairy J. 13: 3–13.

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 J. 14: 737-743.

Lakkis JM, 2007. Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems. Blackwell Publishing Ltd. Pp: 83-115.

Lee KY and Heo TR, 2000. Survival of *Bifidobacterium longum* immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution. Applied and Environmental Microbiology. 66: 869–873.

www.SID.ir

Archive of SID

Mandal S, Puniya AK and Singh K, 2006. Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated *Lactobacillus casei NCDC-298*. International Dairy J. 16: 1190–1195.

Martinsen A, Skjak-Braek C and Smidsrod O, 1989. Alginate as immobilization material. I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. Biotechnology and Bioengineering. 33(1): 79–89.

Mc Brearty S, Ross RP, Fitzgerald GF, Collins JK, Wallace JM and Stanton C, 2001. Influence of two commercially available *bifidobacteria* cultures on Cheddar cheese quality. International Dairy J. 11:599–610.

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 J. 16: 446–456.

Ong L, Henriksson A and Shah NP, 2007. Chemical analysis and sensory evaluation of Cheddar cheese produced with *Lactobacillus acidophilus, Lb. casei, Lb. paracasei* or *Bifidobacterium sp*. International Dairy J. 17: 937–945.

Ouwehand AC, Bianchi Salvadori B, Fonde´ n, R, Mogensen G, Salminen S and Sellars R, 2003. Health effects of probiotics and culture-containing dairy products in humans. Bulletin of the International Dairy Federation. 380: 4–19.

Ozer B, Avni Kirmaci H, Shenel E, Atamer M and Hayalog˘lu A, 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum BB-12* and *Lactobacillus acidophilus LA-5* in white-brined cheese by microencapsulation. International Dairy J. 19: 22–29.

Phillips M, Kasipathy K and Lai T, 2006. Viability of commercial probiotic cultures *(L. acidophilus, Bifidobacterium sp., L. casei, L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. International J. of Food Microbiology 108: 276–280.

Ross RP, Fitzgerald G, Collins K and Stanton C, 2002. Cheese delivering biocultures- probiotic cheese. Australian J. of Dairy Tech. 57(2): 71–78.

Shah NP and Jelen P, 1990. Survival of lactic acid bacteria and their lactose under acidic conditions. J. of Food Sci. 55: 506–509.

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

Stanton C, Gardiner G, Lynch PB, Collins JK and Ross RP, 1998. Probiotic cheese. International Dairy J. 8: 491–496.

Vinderola CG, Prosello W, Ghiberto D and Reinheimer JA, 2000. Viability of Probiotic (*Bifidobacterium, Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and Nonprobiotic Microflora in Argentinian Fresco Cheese. J. of Dairy Sci. 83(9): 1905-1911.

Yilmaztekin M, Ozer BH and Atasoy F, 2004. Survival of *Lactobacillus acidophilus LA-5* and *Bifidobacterium bifidum BB-02* in white-brined cheese. International J. of Food Sci. and Nutrition. 55(1): 53–60.

www.SID.ir