Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 11, No. 2, Summer 2015, p. 140-151

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴، ص. ۱۵۱-۱۴۰

ارزیابی پروفیل جمعیت میکروبی پنیر سنتی کردی و ارتباط آن با ویژگی های فیزیکوشمیایی و حسی فراورده در طول دوره رسیدگی

سید علی مرتضوی[۱*]- الناز میلانی[۲]- مرضیه معین فر[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۹/۰۶

چکیده

پنیر کردی، نوعی پنیر نیمه سخت بوده و بصورت سنتی در نواحی شرق ایران از شیر خام گوسفند و گاو تولید می‌شود. این پنیر دوره رسیدگی خود را داخل مشک می‌گذراند، در نتیجه مجموعه ای از گونه‌های مختلف انواع میکروارگانیسم ها و دارا بودن ویژگی‌های حسی منحصر به فرد، این نمونه پنیر را ممتاز ساخته است. هدف از این مطالعه، بررسی تنوع زیستی میکروارگانیسم‌های پنیر محلی در طول دوره رسیدگی بود. بدین منظورنمونه ها از ۶ بچ پنیر دردوره زمانی ۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روزه تهیه گردید. مطابق نتایج تنوع و تعداد میکروارگانیسم ها به شدت تحت تاثیر زمان رسیدگی بود. در طول ۲۰ روز رسیدگی نمونه ها، باکتری های *انتروباکتر و اسید لاکتیک*، از نظر جمعیت، مهمترین گروه بودند و *لاکتوباسیل ها* بیشترین تعداد را در میان اسیدلاکتیک باکتریها داشتند. سرعت کاهش جمعیت کلی *فرم ها* و *اشریشیاکلی* در طول دوره رسیدگی بسیار زیاد بود؛ در حالیکه میانگین شمارش کپک و مخمر با سرعت کم کاهش یافت و در روزهای اتمام دوره رسیدگی ۶۰ روز پنیرمجدد افزایش یافت. بررسی‌های انجام شده حاکی از عدم حضور کلی فرم، *سالمونلا* و *استافیلوکوک‌های* کواگولاز مثبت در انتهای دوره رسیدگی کلیه نمونه ها بود. نتایج حاصل از تغییرات فیزیکوشیمیایی و بافت نمونه های پنیر متاثر از زمان رسیدگی نشان داد؛ مقادیرpH، رطوبت و فعالیت آبی نمونه ها در طول ۴۰ روز رسیدگی کاهش یافت و در روز ۶۰ به ترتیب معادل ۴/۶۹، ۳۳/۹۱ درصد و۰/۹۲۷گردید. درروند تغییرات میزان پروتئین نمونه ها هیچ اختلاف معنی دار در طول دوره رسیدگی مشاهده نشد. ویژگی‌های حسی نمونه‌های پنیر کردی درزمان۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰روز رسیدگی بررسی شدند. بر این اساس، همزمان با افزایش دوره رسیدگی تا ۱۲۰ روز، امتیاز ویژگی‌های حسی نظیر رنگ، بو، طعم و پذیرش کلی افزایش یافت. از این رو براساس نتایج پژوهش و با تاکید بر ایمنی مصرف پنیر کردی در طول دوره رسیدگی ۶۰ روزه زمان بهینه مصرف پنیر کردی بازه زمانی ۱ الی ۲ ماه و بواسطه کاهش میکروفلور نامطلوب، کاهش pH و افزایش جمعیت میکروفلور مفید *اسید لاکتیک باکتریها* می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پنیرسنتی کردی، فیزیکوشیمیایی، باکتری بیماریزا، *اسید لاکتیک باکتری‌ها* و دوره رسیدگی.

مقدمه

بر اساس آمارهای موجود حدود ۲۰ درصد شیر تولیدی در کشور در بخش صنایع لبنی به پنیر تبدیل می‌شود؛ از این مقدار سهم تولید پنیر سنتی حدود ۸۰ درصد است (آقازاده مشگی، ۱۳۸۶). پنیر محلی حاصل از شیر خام، شامل مجموعه ای کامل از اکوسیستم میکروبی در میان سایر فراورده‌های لبنی است (pinto et al., 2006). در ایران انواع مختلفی از پنیرها به طرق سنتی تولید می‌شود، به عنوان مثال در نواحی غربی پنیر لیقوان و پنیر کوزه و در نواحی شرقی، پنیر کردی ازپرطرفدارترین فراورده ها می‌باشند (Navidghasemzad، 2009،Edalatian *et al*., 2011). پنیر کردی معمولا از شیر گوسفند، بز، گاو و گاومیش تهیه می‌شود . ولی بیشتر از شیر گوسفند و بز تهیه می‌شود. در فرآیند تولید این نوع پنیر مرحله ویژه ای وجود دارد که در آن محصول برای رسیدگی درون پوست نگهداری می‌شود، این امر باعث کاهش فشار اکسیژن و ایجاد شرایط مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌های میکروآئروفیل می‌شود. پنیرهای تولیدی از شیر خام، پروفیل طعمی گسترده‌تر و محسوس‌تری داشته و خصوصیات کیفی و ارگانولپتیکی آن نظیر بافت، بو، عطر و طعم، ظاهراً نتیجه‌ای از نوع شیر خام مصرفی، کیفیت میکروبی، تکنولوژی به کار رفته در

۱-استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲-استادیار، گروه فرآوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد
۳-دانشجوی دکتری دانشگاه پورتو، پرتقال
(*- نویسنده مسئول: Email: morteza1928@yahoo.com)

www.SID.ir

Archive of SID

تهیه و شرایط رسیدگی است. بنابراین آگاهی از ترکیب فلور طبیعی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پنیرهای سنتی، امکان عرضه فرآورده ای سالم با حفظ ویژگی‌های کیفی و حسی مطلوب را در زمان مناسب، فراهم می‌آورد. علی رغم برتری حسی پنیرهای سنتی به پنیرهای صنعتی، مسئله مهم، استفاده از شیر خام بوده و به دلیل آلوده شدن شیر در مراحل تولید و پس از دوشش احتمال آلودگی پنیرهای تولیدی به انواع میکروب‌های بیماری‌زا وجود دارد(سالک مقدم، ۱۳۸۰ و خمیری ۱۳۸۵). حجم انبوهی از میکروارگانیسم‌ها طی دوره رسیدگی در پنیر یافت می‌شوند و هر کدام نقش بسزایی در ویژگی‌های فراورده نهایی ایفا می‌نمایند(Tornadijo 1995 ، Tzanetakis 1993). میان این گروه عظیم میکروارگانیسم‌ها برهمکنش‌های متعددی رخ می‌دهد؛ به عنوان مثال برخی از آن‌ها با تجزیه پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و ویتامین‌ها، ترکیباتی را تولید می‌کنند که برای رشد دسته دیگری از میکروارگانیسم‌ها ضروری است(Albenzio، 2001، Bentsis، 2002). از میان پنیرهای سنتی که در سایر کشورها تولید می‌شود می‌توان به پنیرکانستراتو[1]، راس[2]، اورفا[3]پراتو[4]، اتلو و پنیرترکی اشاره کرد. ماکدوو همکاران(۱۹۹۵)، میکروفلور پنیر سِرا[5]را طی ۳۵ روز رسیدگی مورد بررسی قرار دادند. پس از گذشت ۷ روز، میزان میکروارگانیسم‌ها به حداکثر خود رسید و باکتری‌های اسیدلاکتیک و کلی‌فرم‌ها انواع غالب بودند.

آقازاده مشگی(۱۳۸۶)، خصوصیات میکروبی پنیر کوزه آذربایجان غربی را مورد مطالعه قرار داد. نتایج نشان دهنده وجود میکروارگانیسم‌هایی مثل *اشرشیاکی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت در پنیرهای تازه بود در حالیکه در پنیرهای رسیده یکساله، باکتری‌های بیماری‌زا یافت نشدند. مرتضوی و همکاران(۲۰۰۷) در مطالعه خود بر پایه آزمون‌های قند، تنوع لاکتیک اسیدباکتری ها را در طول دوره رسیدگی پنیر کردی گزارش نمودند. مطابق بررسی منابع تاکنون پژوهش مدونی در خصوص ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی پنیر کردی در طول دوره رسیدگی انجام نشده و اطلاعات خوبی در خصوص چنین فرآورده ارزشمندی گزارش نگردیده است.

موادوروش ها

نمونه برداری

نمونه برداری بصورت تصادفی و در فصل تابستان از نقاط مختلف منطقه کرمانج کلات، انجام گرفت. نحوه انتخاب مکان براساس بیشترین میزان دام و بیشترین میزان تولید پنیر کردی در میان افراد منطقه صورت گرفت. ۶ نمونه پنیر، داخل پوست و تحت شرایط سردخانه(دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به آزمایشگاه منتقل شد.

در شرایط سنتی ابتدا شیر تازه گوسفند پس از دوشش تا دمای حدود ۵±۳۷ درجه سانتی گراد گرم شده و پس از خنک شدن رنین گوسفند یا رنین تجاری به میزان۱٪ به آن افزوده شد، سپس شیر، به منظور انعقاد و تشکیل دلمه، در فاصله۶۰-۴۵ دقیقه در همین دما نگهداری شده؛ پس از انعقاد، بر روی دلمه ها نمک پاشیده شده و برش دلمه انجام پذیرفت. پس از این مرحله به منظور خروج آب پنیر، دلمه ها داخل کیسه پارچه ای به حالت آویزان به مدت۸-۱۰ ساعت نگهداری شدند. سپس دلمه ها از پارچه خارج و خرد شده و درون آب نمک ۱۵-۱۲درصد قرار گرفتند. دلمه‌های تولیدی برای۲ هفته داخل یخچال باقی مانده وسپس درون پوست بزغاله و آب نمک، در دمای یخچال تا پایان دوره رسیدگی نگهداری شدند. لازم به ذکر است؛ پوست بزغاله قبل استفاده کاملا تمیز و درآب جوش قرار گرفته و سپس نمک زنی و خشک گردید. در زمان استفاده، پوست مجدد شسته شده و منافذ آن (قسمت‌های پا و دست) توسط نخ بسته شد.

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

خصوصیات فیزیکوشیمیایی مورد بررسی شامل اندازه گیری میزان چربی به روش ژربر، پروتئین مطابق روش ماکروکلدال، اسیدیته، ماده خشک، نمک و خاکستر همگی مطابق با استاندارد AOAC (۲۰۰۰)، فعالیت آبی (a_w) در ۲۵ درجه سانتی گراد (توسط دستگاه AQUA LAB ساخت شرکت Decagon, Pullman آمریکا) و اندازه گیری pH به صورت مستقیم (pH متر شرکتJenway مدل ۳۰۲۰) بود.

آزمون‌های میکروبی

ابتدا به منظور تهیه سوسپانسیونی همگن، ۲۵گرم نمونه پنیر همراه ۲۲۵ میلی‌لیتر محلول سیترات سدیم۲٪ وزنی- حجمی ساخت شرکت سیگما، داخل بسته‌های مخصوص استریل (Interscience) منتقل گردید و توسط دستگاه استومکر(400 Circulator) به مدت ۵ دقیقه بطور کامل هموژن و فیلتر شد تا ذرات معلق آن حذف شود. به این ترتیب اولین رقت 10^{-1}، تهیه شد. برای انجام پژوهش، سایر رقت‌ها (10^{-2}تا 10^{-7}) به کمک آب پپتونه استریل ۰/۱درصد وزنی- حجمی تهیه شدند، سپس از لوله‌های حاوی رقت‌های تهیه شده به میزان۰/۱میلی لیتر بوسیله سمپلر (کشت سطحی) روی سطح محیط‌های کشت منتقل گردید(۴). ارزیابی فلور میکروبی، در ۴ بازه زمانی ۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز پس از تولید و در ۳ تکرار انجام شد.

1- Canestrato
2- Ras
3- Urfa
4- Prato
5- Serra

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- مشخصات محیط کشت و شرایط گرمخانه گذاری برای تشخیص و شمارش باکتری ها

میکروارگانیسم	محیط کشت	زمان گرمخانه گذاری	دمای گرمخانه گذاری
شمارش کلی	پلیت کانت آگار	۷۲	۳۰
کلی‌فرم	ویولت رد بایل لاکتوز آگار	۴۸-۲۴ ساعت	۳۰ (C°)
کلی‌فرم (آزمون تاییدی)	لاکتوز برلیان گرین براث استریل حاوی لوله دورهام	۲۴ ساعت	۳۰ (C°)
اشرشیاکلی	آبگوشت لوریل سولفات تریپتوز با غلظت مضاعف و معمولی حاوی لوله دورهام	۲۴ ساعت	۳۷ (C°)
اشرشیاکلی	که حاوی لوله دورهامECآبگوشت	۲۴ ساعت	۴۵ (C°)
اشرشیاکلی (آزمون تاییدی)	آب تریپتونه	۴۸ ساعت	حمام آب (C°) ۴۴
اشرشیاکلی (آزمون تاییدی)	IMVICآزمون	۲۴ ساعت	۳۷ (C°)
کپک و مخمر	YGC	۵ روز	۲۵ (C°)
سالمونلا	محیط پیش غنی کننده آب پپتون بافره	۲۰ ساعت	۳۷ (C°)
سالمونلا	محیط غنی‌کننده تتراتیونات	۲۴-۱۸ ساعت	۴۴ (C°)
سالمونلا	)BSAبیسموت سولفیت آگار(	۲۴ ساعت	۳۷ (C°)
سالمونلا	نوترینت آگار	۲۴-۱۸ ساعت	۳۷ (C°)
سالمونلا (آزمون تاییدی)	(آزمون‌های سه قندی، اوره آگار، لیزین دکربوکسیه شونده، وگوس پروسکوئرو ایندول)	۲۴ ساعت	۳۷ (C°)
استافیلوکوک گواگولاز+	برد پارکر آگار+تلوریت پتاسیم+امولسیون زرده تخم مرغ	۲۴ ساعت	۳۷ (C°)
استافیلوکوک کواگولاز+ (آزمون تاییدی)	) و پلاسماخرگوشBHIBآبگوشت عصاره مغز قلب(	۲۴ ساعت	۳۷ (C°)
لاکتوباسیل مزوفیل	MRS-Agar)A(جاربی هوازی مرک به همراه گاز پک مدل	۴۸ ساعت	۳۰ (C°)
لاکتوباسیل ترموفیل	MRS-Agar)A(جاربی هوازی مرک به همراه گاز پک مدل	۴۸ ساعت	۳۷ (C°)
لاکتوکوکوس مزوفیل	M17-Agar (کشت بی هوازی)	۴۸ ساعت	۳۷ (C°)
لاکتوکوکوس ترموفیل	M17-Agar (کشت بی هوازی)	۴۸ ساعت	۴۵ (C°)
انتروکوکوس	شرایط هوازیKAA	۴۸-۲۴ ساعت	۳۷ (C°)

جهت ارزیابی فلور میکروبی شامل شمارش کلی، کپک و مخمر، *کلی فرم*، *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا*، *لاکتوباسیل*، *لاکتوکوکوس* و *انتروکوکوس ها*، درکلیه آزمون ها پس از کشت در محیط‌های اختصاصی مطابق جدول۱، شمارش پرگنه‌های تشکیل شده توسط دستگاه پرگنه شمار انجام شد (۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و۹). لازم به ذکر است کلیه محیط کشت‌های مصرفی، ساخت شرکت مرک آلمان بود. همچنین به منظور جلوگیری از رشد کپک ومخمر در محیط کشت M17، MRS و KAA[1]، آنتی بیوتیک سیکلوهگزیمید[2] اضافه شد(۳۱، ۳۸، ۴۹ و۵۰)

ارزیابی حسی

آزمون چشایی توسط ۱۰ نفر پانلیست پس از گذشت دوره رسیدگی و در بازه زمانی ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز انجام شد. ویژگی‌های آزمون شامل رنگ، بو، مزه و بافت بود. ارزیابان درباره آزمون امتیاز دهی در قالب مقیاس ۵ نقطه ای (از ۱ تا ۵) آموزش داده شدند. حداکثر رضایتمندی با امتیاز ۵ مشخص گردید. نمونه‌های مکعبی ۲۰

1- Kanamycin aesculin azid agar

2- Cycloheximide

www.SID.ir

Archive of SID

گرمی در اختیار ارزیابان قرار گرفت و از آنان خواسته شد قبل از انجام هر آزمون دهان خود را با آب بشویند (۲۲ و۳۱).

روش تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل و انجام آنالیز واریانس داده ها از نرم‌افزار Minitab ver 13.1 با سطح اطمینان ۹۵٪ و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار Mstatc و آزمون چنددامنه ای دانکن استفاده شد. برازش خطوط و ترسیم منحنی‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزارهای Slide Write و Excel ۲۰۰۷ انجام شد.

نتایج و بحث

اثر زمان رسیدگی برمیزان تغییرات pH

چنانکه در جدول ۲، مشاهده می‌شود، میانگین عددی pH نمونه‌های پنیر در روز تولید معادل ۵/۲۹ گزارش شد؛ در طول دوره رسیدگی و تا انتهای دوره ۶۰ روزه مطالعه، میزان pH پنیرهای کردی، از لحاظ آماری کاهش معنی داری داشت($p<0.05$). مطابق گزارش Tayar و همکاران (۱۹۸۸)، وابسته به شرایط تولید و فرآوری پنیر، میزان تغییرات pH در طول دوره رسیدگی در محدوده۵/۹۴– ۴/۳۸ متغیر است. کاهش میزان pHدر طول دوره رسیدگی پنیرهای اوئی و آرمادا به ترتیب توسط Oner *et al.*,2006 وWarsama 2006، گزارش شده است. این پدیده بواسطه مجموعه فرآیندهای متابولیکی باکتری‌های *اسید لاکتیک* و تولید اسیدهای ارگانیک بویژه اسید لاکتیک، قابل توجیه است. میزان pH نمونه‌های پنیر متاثر از رشد و فعالیت باکتریهای آغازگر و غیرآغازگر می‌باشد، البته باید توجه داشت که pH پنیر تنها به میزان اسیدلاکتیک تولید شده توسط فلور میکروبی وابسته نیست، بلکه ظرفیت بافری دلمه که خود ناشی از میزان کازئین، سیترات و فسفات است نیز در آن نقش دارد. با این حال در انتهای دوره رسیدگی، نرخ کاهش pH نمونه‌ها به شدت نیمه اول دوره رسیدگی نبود؛ حتی برخی مطالعات به افزایشpH پنیر در انتهای دوره رسیدگی اشاره نموده اند(McSweeney, 1993). دلیل بروز این پدیده می‌تواند ناشی از تاثیر میکروفلور سطح پنیر نظیر *ژئوتریکوم کاندیدوم و پنی سیلیوم کاممبرتی* بوده که به سرعت سبب اکسیداسیون لاکتات به CO_2و H_2O گردیده است، از این رو تا حدودی سبب خنثی نمودن طبیعت اسیدی فراورده می‌شود. همچنین مصرف اسید لاکتیک سبب آزادسازی فراورده‌های الکلی حاصل از تخریب پروتئین ها می‌شود (Macedoa, 1997).

اثر زمان رسیدگی بر میزان تغییرات رطوبت

محتوای رطوبت نمونه‌های پنیر با گذشت دوره رسیدگی بصورت نزولی کاهش یافت بطوریکه نرخ کاهش در محدوده ۲۳–۲۴ درصد بود(جدول۲). Aly و همکاران (۲۰۰۲) نیزدر مشاهدات خود به نتایج مشابهی دست یافتند؛ مطابق گزارش وی، دلیل بروز پدیده اخیر می‌تواند ناشی از شدت تبخیر سطحی پنیر، پوست نفوذپذیر بزغاله و تخریب کمپلکس پروتئین و چربی باشد.

توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک در تولید اسید، کمک به کاهش pH نموده که خود منجر به افزایش خروج آب پنیر از دلمه می‌شود. با خروج آب پنیر، رطوبت محیط کاهش یافته که خود از عوامل موثر در مهاررشد باکتری‌های بیماریزا در طول دوره رسیدگی پنیر به شمار می‌رود (Caridi, 2003).

اثر زمان رسیدگی برمیزان تغییرات ماده جامد

چنانکه در جدول۲ مشاهده می‌شود، زمان رسیدگی تاثیر معنی‌داری بر افزایش میانگین ماده جامد کل نمونه‌های پنیر داشت($p<0.05$). گزارش مشابهی توسط El-Owni و همکاران (۲۰۰۸) انتشار یافته است. افزایش ماده جامد کل بواسطه کاهش مداوم رطوبت قابل توجیه است(Aly *et al.*, 2002).

اثر زمان رسیدگی برمیزان تغییرات چربی

میانگین چربی نمونه‌های پنیر در طول دوره رسیدگی افزایش یافت. بطوریکه از ۲۰/۵ درصد در روز تولید به ۲۸/۱درصد، در روز شصتم رسیدگی پنیرها افزایش یافت. Albenzio و همکاران (۲۰۰۱) نیز در این خصوص به نتایج مشابهی نائل شدند. میانگین عددی بالای چربی در مطالعه حاضر ناشی از چربی شیر گوسفند مورد استفاده در تهیه نمونه‌های پنیر بود.

اثر زمان رسیدگی برمیزان تغییرات پروتئین

محتوای پروتئینی نمونه‌های پنیر در طول دوره رسیدگی، با نرخ آهسته افزایش یافت. بطوریکه کمترین میزان پروتئین در روزهای نخست تولید و معادل ۲۰/۲۹ درصد و بیشینه عددی مینگین پروتئین نمونه ها و در روز شصتم رسیدگی و معادل ۲۶/۰۳درصد بود. نتایج پژوهش مشابه گزارشNuser (۲۰۰۱) بود. براین اساس، افزایش میزان پروتئین بواسطه کاهش رطوبت پنیر، قابل توجیه است.

اثر زمان رسیدگی برمیزان تغییرات فعالیت آبی

در پژوهش حاضر و در ماه اول رسیدگی پنیر ها، فعالیت آبی نمونه ها کاهش یافت، اما پس از این مدت بطور نسبتا ثابتی تا انتهای دوره رسیدگی (۰/۹۲۷) فعالیت آبی نمونه ها سیر نزولی کندی را طی نمود. عملکرد همزمان دو عامل آب نمک افزوده شده در طول دوره رسیدگی و ازدست رفتن آب به دنبال تبخیر سطحی از عوامل موثر در کاهش فعالیت آبی نمونه‌های پنیر است (Tornadijo، ۱۹۹۵). Viana و همکاران (۲۰۰۹) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند.

www.SID.ir

Archive of SID

اثر زمان رسیدگی برمیزان تغییرات نمک

کیفیت نهایی پنیر تا حد زیادی به غلظت نمک، بدلیل تاثیر ویژه آن بر دامنه رشد باکتریهای اسیدلاکتیک، فعالیت آنزیمی و روابط بیوشیمیایی در طول دوره رسیدگی، وابسته است (Tayar، 1995). میزان نمک نمونه‌های پنیر افزایش قابل توجهی در طول دوره رسیدگی داشت($p<0.05$). نتایج پژوهش با مشاهدات Albenzio (۲۰۰۱)، Aly (۲۰۰۲) و Ceylan (۲۰۰۳) همراستا بود.

اثر زمان رسیدگی برمیزان خاکستر

میزان خاکستر موجود در پنیر به نمک افزوده شده به دلمه و محتوای موادمعدنی آن نظیر کلرید، فسفات، پتاسیم، منیزیم، کلسیم و سیترات منیزیم وابسته است (Viana *et al*., 2009).

میانگین عددی تغییرات خاکستر نمونه‌های پنیر در جدول۲ مشاهده می‌شود؛ بر این اساس با افزایش زمان میزان خاکستر نمونه ها به طرز معنی داری افزایش یافت. پنیرهای تازه و نمونه‌های پنیر ۶۰ روزه به ترتیب داری کمترین (۳/۹۲درصد) و بیشترین (۹/۹۶ درصد) میزان خاکستر بودند. El-Owni (۲۰۰۸) نتایج مشابهی را در خصوص پنیر سودانی گزارش نمودند.

اثر زمان رسیدگی بر شمارش کلی باکتری‌ها

نتایج نشان داد شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها درروزهای نخست تولید نمونه‌های پنیر بیشترین مقدارو معادل $9/93 \log cfu\ g^{-1}$ بود؛ پس از گذشت ۲۰ روز از شروع دوره رسیدگی تعداد میکروارگانیسم‌ها کاهش یافت بااین حال از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$) و تا پایان دوره با کاهش تدریجی آن مواجه شدیم. شمارش بالای میکروارگانیسم‌ها در روزهای اول احتمالا به رشد سریع میکروارگانیسم‌ها در طی مراحل اولیه انبارداری و یا به دلیل میزان بالای کلی‌فرم وابسته است درحالیکه کاهش میزان باکتری هادر طول دوره رسیدگی احتمالا به دلیل کاهش pH، ایجاد شرایط مطلوب برای باکتری‌های اسید لاکتیک و افزایش میزان اسید لاکتیک، قابل توجیه است که می‌تواند مانع از رشد میکروارگانیسم‌ها شود (Litopoulou، ۱۹۹۰). نتایج حاضر مطابق گزارش García Fontán وهمکاران(۲۰۰۱)و Oner و همکاران (۲۰۰۶) بود. محققین دیگری نیزنشان دادند که شمارش کلی باکتری‌ها برای پنیر آفوئگال پیتو که سه روز از تولید آن می‌گذشت Log cfu/g ۹/۲۶±۰/۵۶ و در پنیری که ۶۰ روز از تولید آن می‌گذشت. Log cfu/g ۸/۰۶±۰/۴۷ بود که بیانگر کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها طی دوره رسیدگی است (Warsama، 2006).

اثر زمان رسیدگی بر شمارش کپک و مخمر

نتایج حاصل از شمارش کپک و مخمر، افزایش معنی دار این دسته از میکروارگانیسم ها را در هر ۶ نمونه پنیر نشان داد (P<۰/۰۵). میانگین بیشترین میزان کپک و مخمر درروز۴۰ رسیدگی نمونه‌های پنیرو معادل Logcfu/g ۱/۲۲± ۶/۰۴ گزارش شد(جدول۳). شمار کپک و مخمر با کاهش محتوی لاکتوز ناشی از مصرف لاکتیک اسید باکتری ها، ارتباط نزدیکی دارد، زیرا با تولید اسید لاکتیک و اسیدی شدن محیط شرایط برای رشد کپک و مخمر افزایش می یابد (Macedo *et al*., 1995).

جدول۲- تغییر پارامترهای فیزیکوشیمیایی ± انحراف معیار در طول دوره رسیدگی پنیر سنتی کردی.

زمان رسیدگی	۰	۲۰	٤۰	٦۰
pH	۵/۲۹±۰/۵^{a}	۴/۸۲±۰/۵۶^{b}	۴/۷۷±۰/۱^{bc}	۴/۶۹±۰/۱^{c}
رطوبت (وزنی/وزنی)	۶۲/۲۷±۰/۹ a	۴۳/۵±۰/۶^{b}	۴۰/۰۳±۱ bc	۳۳/۹۱±۰/۴ c
(درصد) ماده جامدکل	۳۸/۷۳±۰/۲ a	۵۶/۸۵±۰/۵۶ b	۶۰±۰/۸۵^{b,c}	۶۴/۰۷±۰/۴ c
چربی (درصد)	۲۰/۵±۰/۱۷ a	۲۴/۲±۱^{b}	۲۷/۱۳±۱^{bc}	۲۸/۱±۰/۳^{c}
پروتئین (درصد)	۲۰/۲۹±۰/۲ a	۲۲/۳±۰/۳۸^{a}	۲۴/۱±۰/۹^{ab}	۲۶/۰۳±۰/۳ b
فعالیت آبی	۰/۹۷۴±۰/۳ a	۰/۹۵۳±۰/۲^{b,} c	۰/۹۴۱±۰/۲ c	۰/۹۲۷±۰/۳ c
نمک (درصد)	۳/۱۸±۰/۳۹ a	۵/۵۵±۰/۱۱^{b}	۵/۶۴±۰/۳^{b}	۵/۷۱±۰/۴^{b} ,c
خاکستر (درصد)	۳/۹۲±./۳۹^{a}	۶/۲۴±۰/۰۹^{b}	۸/۸۶±۰/۷^{c}	۹/۵۳±۰/۵^{c}

*حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $p < 0.05$ می باشد

www.SID.ir

Archive of SID

اگرچه باید در نظر داشت؛ جمعت کپک و مخمر با غلظت نمک و درجه حرارت دوره رسیدگی ارتباط معنی دار دارد(Welthagen، 1998،Coeuret *et al*., 2003).

بررسی نتایج آقازاده مشگی (۱۳۸۶)، بیانگر این مطلب بود که کپک‌ها و مخمرها با تعداد بسیار بالا در نمونه‌های پنیرکوزه حضور داشتند. بالا بودن تعداد آن‌ها می‌تواند نشان دهنده آلودگی محیط شیردوشی، مکان و لوازم یا دست آلوده افراد تهیه کننده پنیر باشد.

نتایج Oner و همکاران(۲۰۰۶)، نشان داد؛ میزان کپک و مخمر طی ۱۰۵ روز رسیدگی پنیر سفید ترکی کاهش قابل توجهی نداشته است. حضور مخمرها در پنیر طی دوره رسیدگی ناشی از مقاومت در مقابل کاهش رطوبت و افت pH بواسطه قدرت متابولیزه کردن اسید و نیز فعالیت پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی این دسته از میکروارگانیسم‌هاست (Welthagen، 1998 و Albenzio، 2001). البته یک عامل مهم در افزایش میزان مخمرها، آب نمک مورد استفاده در فرآیند تولید می‌باشد. با این وجود این نکته را نیز باید در نظر گرفت که میزان مخمرها از یک واحد تولیدی به واحد دیگر و حتی در یک واحد تولیدی یکسان، در روزهای مختلف تولید می‌تواند متفاوت باشد. این اختلاف می‌تواند به کارآیی پاستوریزاسیون، اختلاف در غلظت آب نمک، درجه حرارت و آلودگی‌های ناخواسته به مخمرها در طی فرآیند تولید مربوط باشد (Bentsis، 2002).

اثر زمان رسیدگی بر شمار کلی‌فرم و *اشرشیاکلی*

مطابق نتایج جدول۳، زمان رسیدگی تاثیر معنی داری بر شمار کلی‌فرم‌ها و *اشرشیاکلی* داشت ($P<0.05$). بطوریکه جمعیت آنها در پنیرهای رسیده ۶ تا ۸ سیکل لگاریتمی کمتر از نمونه‌های پنیر تازه بود. اما در روز۶۰، حذف کلی *اشرشیاکلی* در نمونه‌های پنیررسیده مشاهده شد. براساس ضوابط استاندارد ایران شمار کلی فرم در پنیر سفید ایرانی نباید بیشتر از۱۰۰ cfu/g بوده و همچنین فاقد *اشرشیاکلی* باشد (۵و۶). آلودگی پوست بز، آلودگی دست هنگام انتقال پنیر به درون پوست یا آلودگی محیط کار از عوامل افزایش این گروه از میکروارگانسیم ها در روزهای اولیه تولید است با این حال فاکتورهای متعددی در کاهش میزان کلی‌فرم‌ها در طی دوره رسیدگی نقش دارند که از این میان می‌توان به افزایش غلظت نمک، نگهداری در دمای پایین، فعالیت باکتری‌های *اسید لاکتیک*، کاهش pH، آنتاگونسیم ایجاد شده توسط سایر فرآورده‌های متابولیکی تولیدی و کاهش مواد مغذی اشاره نمود(Albenzio, 2001، Fox, 2000 ، Bentsis, 2002، Caridi, 2003). به عنوان مثال، سوش‌های *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* زیرگونه *پاراکازئی* از طریق تولید باکتریوسین اثر آنتاگونیستی شدیدی علیه *اشرشیاکلی* اعمال می‌کنند (Ceylan، 2003، El-Owni، 2008).

تاثیر فرآیند رسیدن پنیر بر کاهش باکتری‌های کلی‌فرمی توسط سایر محققین نیز گزارش شده است(Macedo ، 1995، Maher، 2001). تحقیقات Govaris و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد، *اشرشیاکلی* بعد از ۴۰ روز رسیدن در پنیر فتا و تلمز[1] قابل جداسازی نبود. محققین دیگر نیز گزارش کردند، در پنیر سنتی کاشار[2]، به ترتیب بعد از ۳۰ و۶۰ روز دوره رسیدن، هیچ گونه کلی‌فرمی قابل جداسازی نبود (Tarakci، 2009). نتایج بررسی دیگر نشان داد؛ میزان انتروباکترها در پنیر سنتی گنستوسو طی۲ روز رسیدگی به حداکثر خود رسید و بعد از آن شروع به کاهش نمود. بطوریکه بعد از ۶۰ روز هیچ اثری از این باکتری‌ها در پنیر رسیده یافت نشد (Albenzio, 2001). نتایج تحقیق El-Owni(۲۰۰۸)، نشان داد، میزان کلی‌فرم از روز اول تولید پنیر تا روز۶۰ کاهش یافت، بطوریکه در روز۲۸۰ کلی‌فرم در نمونه‌ها مشاهده نشد. میزان *اشرشیاکلی* نیز در پنیر به طور ناگهانی در روز ۶۰ کاهش یافت به طوریکه در روز ۸۰ هیچ *اشرشیاکلی* در نمونه‌ها مشاهده نشد.

اثر زمان رسیدگی بر شمار باکتری‌های اسید لاکتیک

باکتری‌های اسید لاکتیک بخشی از فلور میکروبی پنیر بوده که نقش مهمی را در طی رسیدن آن ایفا می‌کنند(Tornadijo *et al*., 1995). این گروه میکروبی سبب افزایش میزان پپتیدهای کوتاه زنجیر، اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای چرب آزاد در پنیر می‌شوند (Albenzio، 2001، Arenas، 2004). نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد، این باکتری ها شامل فلور میکروبی غالب، در طول دوره رسیدگی نمونه‌های پنیر کردی بودند(جدول۳). با این حال دوره رسیدگی تاثیر معنی داری در کاهش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک داشت. میزان نرخ کاهش باکتری‌های اسید لاکتیک در طول دوره رسیدگی به عواملی نظیر حساسیت کشت آغازگر به نمک، فعالیت آبی و توانایی اتولیز سویه ها وابسته است (Vassiliadis, 2009).

Nespolo و همکاران(۲۰۱۰)، گزارش نمودندشمار باکتری‌های اسید لاکتیک درطول روزهای اولیه تولید، تقریبا از log cfu/g ۷ به ۹ افزایش یافت و تا انتهای دوره رسیدگی ۳۰ روزه جمعیت بطور ثابت باقی ماند.

مطابق مشاهدات جدول۳، تغییرات جمعیت لاکتوباسیلوس ها در ابتدا و انتهای دوره رسیدگی و همچنین در میان پنیرها چندان معنی داری نبود($p>0.05$). متابولیسم آهسته تر لاکتوباسیل ها و توانایی شان در تطابق با شرایط نامساعد محیطی (اسیدیته، فعالیت آبی پایین ونمک بالا) در مقایسه با سایر اسید لاکتیک باکتری ها می‌تواند دلیل وجود این گروه باکتریایی در مقادیر بالا در انتهای دوره رسیدگی

1- Telemes
2- Kashar

www.SID.ir

Archive of SID

باشد(Arenas، 2004). نتایج پژوهش اخیر با مشاهداتTornadijo (1995) در خصوص پنیر آرماداً، و Navidghasemzad و همکاران، (۲۰۰۹) در خصوص پنیر لیقوان، مطابقت داشت. براساس گزارشات بدست آمده در طول فرآیند تخمیر پنیر، متابولیت‌های متنوعی نظیر لاکتات، سیترات، گلیسرول و آمینواسیدها تولیدشده که به خوبی توسط لاکتوباسیلوس ها مورد استفاده قرار می‌گیرند(Coeuret، 2003 و Oner *et al*., 2006).

لاکتوکوکسی ها به سرعت قند *لاکتوز* را تخمیر کرده و در ابتدای روزهای تولید جمعیت بالایی دارند، از این رو قادر به تولید اسیدیته بالایی می‌باشند(Arenas، 2004)؛ با این حال دارای مقاومت کمی در برابر نمک هستند(Vassiliadis، 2009). در این بررسی تعداد لاکتوکوکسی‌های مزوفیل و ترموفیل با افزایش دوره رسیدگی دچار کاهش شد($P<0.05$) حتی برخی محققان حذف کامل آن ها را در انتهای دوره رسیدگی گزارش کرده اند(Litopoulou, 1990، Tzanetakis, 1992).

انتروکوکسی ها در گروه اسید لاکتیک باکتری‌های غیر آغازگر قرار گرفته و اهمیت تکنولوژیکی آن ها مربوط به توانایی شان در تولید اسیدیته و فعالیت لیپولیتیک و پروتئولیتیکی می‌باشد (Menendez، 1998). لذا می‌توانند در رسیدگی پنیر نقش عمده ای را بر عهده داشته باشند. تعداد باکتری‌های انتروکوک می‌تواند در هر بار تولید پنیر متفاوت باشد که این تفاوت ناشی از آلودگی پنیر در طی مراحل ساخت به این گروه باکتریایی است(Arenas، 2004). شمارش انتروکوک ها نشان داد در ۲۰ روز اول دوره رسیدگی دارای جمعیت بیشینه بودند با این حال، مدت زمان رسیدگی تاثیر معنی داری بر تغییرات جمعیت این باکتری ها در نمونه‌های پنیر نداشت ($p>۰/۰۵$). علت این افزایش می‌تواند ناشی از توانایی رشد باکتری‌های انتروکوک در غلظت‌های بالای نمک و همچنین قابلیت رقابت با سایر فلورهای میکروبی موجود در پنیر باشد(Vassiliadis, 2009). Bintsisو همکاران (۲۰۰۲) ، نیز در گزارش خود به جمعیت بالای انتروکوکوس ها در نمونه پنیر تازه اشاره نمودند.

اثر زمان رسیدگی بر شمارش سالمونلا

نتایج آزمون‌های تاییدی به منظور شناسایی *سالمونلا* در جدول۳ نشان داده شده است. مطابق نتایج، در انتهای دوره رسیدگی۶ نمونه پنیر، هیچ گونه *سالمونلا* یافت نشد. فاکتورهایی که در پنیر بر رشد و بقای گونه‌های *سالمونلا* تاثیر می‌گذارند، هنوز به طور کامل مشخص نشده است. به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آب و اسیدیته پائین در بقای این میکروارگانیسم اثر مساعدی داشته باشد. تحقیقات نشان دادند، در صورت آلودگی شیر به گونه‌های *سالمونلا* بعد از انجام فرآیند پاستوریزاسیون، این میکروارگانیسم قادر است در طی پروسه تولید پنیر، بقای خود را حفظ کند و برای ماه‌ها در پنیر باقی بماند. با این حال مشخص است که بقای گونه‌های *سالمونلا* در پنیرهای مختلف، متفاوت می‌باشد و بیانگر این مطلب است که وضعیت فیزیولوژیکی و نیز سوش‌های مختلف این میکروارگانیسم، روی بقای آن تاثیر گذار می‌باشند. مشخص شده است که گونه‌های *سالمونلا* قادرند با تنش‌های مختلف موجود در محیط، خود را تطبیق دهند. به عنوان مثال سازگاری با اسید، نمک‌ها و دما که تمامی این موارد می‌تواند به افزایش بقای آن‌ها در محیط کمک کند (Leyer, 1992 & Erkmen, 1995).

مطابق نتایج Bintsis و همکاران (۲۰۰۲)، در پنیر فتای حاصل از شیر خام، بطور کامل رشد سالمونلا متوقف شد، این پدیده بواسطه عدم تحمل غلظت بالای نمک ($۷۰gL^{-1}$) این سویه قابل توجیه است. نرخ کاهش جمعیت سالمونلا به عواملی نظیر غلظت نمک، فعالیت سویه آغازگر و زمان رسیدگی وابسته است(Eekmen *et al*., 1995).

اثر زمان رسیدگی بر شمارش استافیلوکوک‌های کواگولاز مثبت

در پژوهش حاضر، گونه *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت در انتهای دوره رسیدگی هیچ یک از نمونه‌های پنیر مشاهده نشد(جدول۳).

تحقیق Cuesta و همکاران (۱۹۹۶)، بر روی پنیر آفوئگال پیتو نیز نشان داد اغلب آلودگی ناشی از حضور میکروکوک‌ها بوده است و نشانی از آلودگی با پاتوژن‌هایی از قبیل استافیلوکوک‌ها یافت نشد. با این وجود تحقیقات انجام شده نشان می‌دهند که در صورت بروز آلودگی، این میکروارگانیسم طی دوره رسیدن کاهش خواهد یافت. نگرانی در رابطه با وجود *استافیلوکوکوس اورئوس* در شیر خام، ناشی از انتقال این میکروارگانیسم از طریق شیر خام به فراورده‌های لبنی بوده و در نتیجه سبب بروز مسمومیت غذایی در مصرف کنندگان می‌گردد. بر اساس گزارشی در نروژ، ۳۸-۲۰ درصد از فراورده‌های لبنی حاصل از شیر خام به *استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده می‌باشند (Lindqvist, 2002). نتایج حاصل از تحقیق آقازاده مشگی (۱۳۸۶)، نشان داد که با توجه به مدت رسیدن پنیرها، باکتری‌های بیماری‌زا و مسمومیت‌زا در هیچ یک از نمونه‌هایی که بیش از یک سال دوره رسیدن را طی کرده بودند یافت نشد که علت این پدیده می‌تواند کاهش رطوبت، کاهش pH و افزایش اسیدیته باشد که شرایط را برای ادامه حیات این گروه از باکتری‌ها نامساعد کرده است. اگر چه استافیلوکوک‌ها قابلیت تحمل نمک را دارند ولی به خاطر اثرات ممانعت کنندگی ترکیبی pH و نمک، رشد آن‌ها در پنیری که رسیده است اتفاق نمی‌افتد.

در بررسی انجام شده توسط El Owni(۲۰۰۸) روی پنیر گیبنابایدا[1] که از شیر خام تهیه می‌شود، شمارش استافیلوکوکوس

1- Gibna Bayda

www.SID.ir

Archive of SID

اورئوس در روز تولید معادل Log CFU/g ۳/۰۲±۰/۲ بود و پس از ۲۴۰ روز هیچ استافیلوکوکی در نمونه ها مشاهده نشد. افزایش فعالیت آغازگرها، رقابت میکروبی باکتری‌های مولد اسید لاکتیک، کاهش pH، تولید آب اکسیژنه توسط سیستم لاکتوز پراکسیداز، رقابت بر سر تامین مواد غذایی، ازدیاد مواد دفعی، دمای ذخیره‌سازی پنیر، افزایش غلظت نمک و حتی تولید مواد آنتی بیوتیکی مثل نایسین از دلایل کاهش تعداد یا حذف *استافیلوکوکوس اورئوس* در پایان دوره رسیدن به شمار می‌روند(Viana، 2009). برخی از باکتریهای اسیدلاکتیک نه تنها در برابر اسید مقاوم بوده بلکه برای رشد نیازمند pH پایین نیز می‌باشند. لاکتوباسیل ها قادرند به راحتی در pH معادل ۳/۵ زنده بمانند (McDonald *et al.*,1999). توانایی اخیر نقش بارزی در تحمل رشد لاکتوباسیل ها در محدوده pH کشنده استافیلوکوک ها و سایر پاتوژن‌های وابسته در طول فرآیند تخمیر مواد غذایی ایفا می‌نماید (Oner *et al.*, 2006). البته لازم به ذکر است که اگر چه *استافیلوکوکوس اورئوس* با گذشت زمان از بین می‌رود ولی انتروتوکسین تولید شده از آن می‌تواند فعالیت بیولوژیکی خود را همچنان حفظ کند. بنابراین عدم حضور باکتری به منزله ایمنی کامل محصول نیست و احتمال مسمومیت غذایی وجود دارد. بنابراین اگر قرار باشد نمونه پنیر از لحاظ حضور این میکروارگانیسم بررسی شود، آزمون باید بلافاصله بعد از تولید پنیر انجام شود (مطابق بررسی انجام شده در این مقاله) تا مشخص شود آیا میزان باکتری می‌تواند در محدوده تولید انتروتوکسین باشد. (McDonald *et al.*,1999، Lindqvist، 2002).

ارزیابی زمان رسیدن بر ویژگی حسی پنیر سنتی کردی

نتایج تجزیه آماری خواص حسی نمونه‌های پنیر در بازه ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز رسیدگی در جدول۴ قابل مشاهده است.

بر این اساس امتیاز ویژگی‌های حسی نظیر رنگ، بو و طعم، همزمان با افزایش دوره رسیدگی تا ۱۲۰ روز افزایش یافت. اما از لحاظ آماری اختلاف معنی دار نبود. پدیده حاضر بواسطه افزایش غلظت اسید چرب و گروه‌های اسید آمینه قابل توجیه است.

میانگین امتیازات مربوط به طعم نمونه‌های پنیر در جدول ۴ نشان داده شده است؛ همانطور که مشاهده می‌شود تاثیر زمان رسیدگی بر طعم پنیر معنی دار بود، چنانکه در پنیر رسیده ۱۸۰ روز امتیاز طعم به شدت کاهش یافت؛ اگرچه ایجاد طعم تلخ در برخی از انواع پنیر رسیده گزارش گردیده که ناشی از تجزیه بیشتر بتاکازئین توسط پلاسمین در آنها می‌باشد اما به نظر می‌رسد که پروتئین‌های محلول موجود درپنیرهای تازه از فعالیت بیش از حد پلاسمین جلوگیری می‌کنند. لذا فاقد طعم تلخ می‌باشند (Bastian, 1996). اسیدهای چرب آزاد تولیدی طی فرآیند لیپولیزو یا متابولیسم کربوهیدرات و آمینواسیدها توسط باکتری‌ها، مستقیماً در توسعه طعم پنیر مؤثرند، بویژه زمانیکه نوعی توازن مناسب میان فرآورده‌های پروتئولیز و لیپولیزو سایر واکنش‌ها در پنیر موجود باشد. از این رو می‌توان دریافت؛ عطر و طعم پنیر ارتباط نزدیکی با اسیدیته، میزان چربی در ماده خشک و مقدارآمینواسید و اسید چرب آزاد دارد(Kanawjia, 1995).

جدول۳- تغییرات جمعیت میکروارگانیسم ها (log cfu g^{-1} ± انحراف معیار) در طول دوره رسیدگی پنیر سنتی کردی.

جمعیت میکروارگانیسم	زمان رسیدگی (روز) ۰	۲۰	۴۰	۶۰
شمارش کلی	۹/۹۳^{a*}±۱	۹/۴۸^{ab}±۰/۷	۹/۲۸^{ab} ±۱	۹/۰۶^{ab} ±۰
کپک و مخمر	۵/۶ ^{a}±۰/۹	۵/۹۵^{ab}±۰/۴	۶/۰۴^{b} ±۱/۲	۵/۷۱^{a} ±۰/۸
کلی‌فرم	۸/۲۲^{c}±۰/۱	۷/۹۹^{bc}±۱	۵/۱۳^{b}±۰/۳	۱/۰۵^{a}±۰/۵
اشرشیاکلی	۵/۲۷^{cd}±۰/۲	۵/۰۹^{c}±۰/۲	۳/۳۰^{b}±۰/۱	۰^{a}±۰
سالمونلا	۲/۱۱^{b}±۰/۴	۱/۱۲^{a}±۱	۰/۵۱۸^{a}±۰/۸	۰^{a}±۰
استافیلوکوک گواگولاز+	۳/۰۶^{b}±۰/۶	۱/۲۲^{a}±۰/۴	۱/۰۲^{a}±۰/۶	۰^{a}±۰
لاکتوکوکوس مزوفیل	۷/۵۳^{ab}±۱	۸/۱۲b^{c}±۰/۱	۷/۳۹^{a}±۰/۸	۶/۸۵^{a}±۰/۶
لاکتوکوکوس ترموفیل	۷/۶۱^{ab}±۰/۳	۷/۴۷^{a}±۰/۰۳	۷/۱۷^{a}±۰/۴	۶/۹۴^{a}±۰/۸
لاکتوباسیل مزوفیل	۷/۶۸^{a}±۰/۱	۷/۷۲^{a}±۱	۷/۳۶^{a}±۰/۵	۷/۲۱^{a}±۱
لاکتوباسیل ترموفیل	۸/۲۷^{b}±۰/۳	۷/۵۳^{ab}±۰/۱	۷/۲۶^{a}±۰/۷	۷/۰۷^{a}±۰/۲
انتروکوکوس	۶/۹۸^{a}±۰/۹	۷/۱۷^{a}±۰/۵	۶/۹۶^{a}±۰/۶	۶/۹۱^{a}±۰/۷

*حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ می باشد

www.SID.ir

Archive of SID

جدول٤- ارزیابی ویژگی های حسی ± انحراف معیار، در طول دوره رسیدگی پنیر سنتی کردی.

زمان رسیدگی (روز)	رنگ	بو	طعم	بافت	پذیرش کلی
۶۰	۴/۸۱±۱/۲^{a}	۴/۲۷±۰/۳^{ab}	۴/۳۶±۰/۳^{ab}	۴/۶۱±۰/۳^{a}	±۰/۳^{a} ۴/۵
۱۲۰	۴/۸۸±۰/۳ ^{a}	۴/۵۸±۱/۰ ^{a}	۴/۷۳± ۱/۰ ^{a}	۴/۵۳±۱ ^{a}	۴/۷۹±۱ ^{a}
۱۸۰	۴/۹۷±۰/۴ ^{a}	۳/۰۲±۰/۱ ^{de}	۳/۱۱±۰/۱ ^{de}	۳/۲۱±۰/۶ ^{d}	۳/۵±۰/۱^{d}

*حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ می باشد.

عطر و طعم منحصر به فرد پنیرهای سفید نظیر پنیر کردی ناشی از میزان نمک و اسیدیته بالای آن است. کاهش امتیاز بـو و طعـم در پنیره رسـیده ۳ماهـه بـه دلیـل افـزایش آبکافـت پـروتئین، تشـکیل بیوپپتیدهای تلخ و افزایش فرآیند لیپولیز، تولید اسیدهای چرب کوتـاه زنجیر قابل توجیه است (Litopoulou, 1993 & El-Owni, 2008).

آنالیز واریانس نتایج حاصل از ارزیابی بافت نمونه‌های پنیر نشـان داد پنیرهای رسیده۶۰ و۱۲۰ روزه دارای بیشترین امتیاز بافـت بودنـد؛ علت مطلوبیت بافت در نمونه‌های پنیر شـاید بـه دلیـل پـایین بـودن رطوبت و بالا بودن چربی و ماده خشک باشد. اما به تدریج با افـزایش دوره رسیدگی بافت پنیرها به طرز نامطلوبی نرم شد، مطلب اخیـر بـه موازات کاهش رطوبت پنیر سبب از بین رفتن بافت منسـجم پنیـر بـا کوچک ترین نیرو گردید. بطور کلی ارتباط میان پروتئـولیز و تغییـرات بافـت پنیـر طـی رسـیدگی بسـیار پیچیـده اسـت. محققـین تجزیـه as_1-CN کازئین به as_1 را عامل اصلی نرم شـدن بافـت پنیـر عنـوان کرده اند (De Jong, 1976).

چربی یکی از مهمترین عوامل ایجاد رنگ وآروما در پنیر اسـت و افزایش فرآیند لیپولیز در انتهای دوره رسیدگی سبب افزایش رنگ پنیر از سفید به کرم گردید. امتیاز مربوط به رنگ نمونه های پنیر در طـول دوره رسیدگی افزایش یافت اما از لحاظ آماری اختلاف معنی دار نبود. با ملاحظه جدول ۴ می‌توان دریافت که عامل زمان اثر معنی داری بر امتیاز پذیرش کلی نمونه های پنیرداشته است. چنانکه نمونه های پنیر ۱۲۰ روزه دارای بالاترین امتیاز حسی بودنـد. از ایـن رو بـا توجـه بـه ایمنی مصرف پنیر کردی در طول دوره رسیدگی ۶۰ روزه زمان بهینـه مصرف پنیر کردی بازه زمانی ۱ الی ۲ ماه می باشد.

نتیجه گیری

بررسی‌های میکروبی نشان دادند که در روزهای نخست بررسـی، نمونه‌های پنیر کردی آلودگی داشتند اما بـه تـدریج بـا افـزایش دوره رسیدگی، به دلیل فعالیت باکتری‌های اسـید لاکتیـک، کـاهش pH، افزایش غلظت نمک و نگهـداری در دمـای پـایین، نمونـه هـا، فاقـد استافیلوکوک‌های کواگولاز مثبت و سالمونلا بودند. بـا ایـن وجـود در زمان‌های مختلف و بسته به شرایط تولیـد نتـایج متفـاوتی را در ایـن زمینه می‌توان انتظار داشت. پنیر تـازه دارای کلـی‌فـرم و *اشرشـیاکلی* بوده که بیانگر بار میکروبی بالای شیر مورد استفاده برای تولیـد ایـن پنیر سنتی است؛ بنابراین مصرف این محصول در زمان تولید نادرست می‌باشد. اما تاکید بر طی شدن کامل زمان رسیدن به منظـور کـاهش pH و افزایش بار میکروبی مفید طی این دوره خطر آلودگی را کاهش می‌دهد. از این رو کاملا مشهود است کـه مـدت زمـان رسـیدگی بـه عنوان یک انتخاب کننده طبیعی عمل می‌کند؛ بدین سان باکتری‌های اسید لاکتیک در دوره زمانی مناسب بطور طبیعی از رشـد پـاتوژن هـا ممانعت به عمل می‌آورند. بر اساس نتـایج حاصـل از ارزیـابی حسـی، فیزیکوشیمیایی و میکروبی، زمان مصرف پنیر کردی تولیـدی از شـیر خام، پس از حداقل ۶۰ روز رسیدگی پیشنهاد می‌شود.

منابع

آقازاده مشگی، م.، ۱۳۸۶، بررسی پاره ای از خصوصیات میکروبیولوژیکی و شیمیایی پنیر کوزه در آذربایجان غربی. *مجله ی علـوم غـذایی و تغذیـه*. دوره۴. شماره۳. صفحات ۸۷-۸۰.

خمیری، م.، قاسمیان فرد، م.، ۱۳۸۵، مقایسه وضعیت میکروبی شیر خام تولید شده در دامداری‌های سنتی و صنعتی شهر گرگان و حومـه. *مجموعـه مقالات شانزدهمین کنگره ملی صنایع غذایی*، گرگان.

سالک مقدم، ع.، فرهوش تهرانی، ه.، انصاری، ح.، روادگر، ب.، نورانی وطنی، الف و قاسمی، م.، ۱۳۸۰، بررسی آلودگی میکروبـی در نمونـه‌هـای پنیـر غیر پاستوریزه در مقایسه با پنیرهای پاستوریزه و تاثیر مقادیر مختلف نمک اضافه شده به پنیر بر روی باکتری‌های بیماری‌زای آلوده کننده. *مجله ی دانشگاه علوم پزشکی ایران*. دوره۸. شماره ۲۵. صفحات ۲۹۳-۲۹۹.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۱، شیر و فرآورده‌های آن - روش شمارش کلی پرگنه‌های میکروارگانیسم‌ها در ۳۰درجه سلسـیوس. استاندارد ملی ایران، شماره ۵۴۸۴.

www.SID.ir

Archive of SID

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۱، شیر و فرآورده‌های آن – شمارش کلی فرم ها قسمت دوم – روش شمارش بیشترین تعداد احتمالی ۳۰ درجه سیلسیوس. استاندارد ملی ایران، شماره ۲-۵۴۸۶.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۹.، شیر و فرآورده‌های آن – شمارش اشریشیا کلی– روش بیشترین تعداد احتمالی (MPN) . استاندارد ملی ایران، شماره ۵۲۳۴

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۶، شیر و فراورده‌های آن–شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و یا مخمر–شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سیلسیوس. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۱۵۴.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۸، شیر و فراورده‌های آن– شناسایی سالمونلا. استاندارد ملی ایران، شماره ۴۴۱۳.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۵، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام–روش جامع برای شمارش استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و سایر گونه ها) . استاندارد ملی ایران، شماره ۳-۸۶۰۶.

Albenzio, M., Corbo, M. R., Rehman, S. U., Fox, P. F., De Angelis, M., Corsetti, A., 2001. Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk, or by heating the curd in hot whey. International Journal of Food Microbiology 67, 35- 48.

Aly, A S, and Galal E A .2002. Effect of milk pretreatment on the keeping quality of Domiati cheese. Pakistan Journal of Nutrition 1(3), 132-136.

AOAC .2000. Official methods of analysis. VA: Association of Official Analytical Chemists.

Arenas, R., Gonzalez L., Bernardo A., Fresno J. M., & Tornadijo M. E. 2004. Microbiological and physico-chemical changes in Genestoso cheese, a Spanish acid curd variety, throughout ripening. Food Control 15, 271–279.

Awad, S .2006. Texture and flavour development in Ras cheese made from raw and pasteurised milk. Food Chemistry 97, 394–400

Bentsis, T and Papademas P .2002. Microbiological quality of white brined cheese, International journal of dairy technology. 55(3), 114-120.

Caridi, P, Micari P, Caparra P, Cufari A, & Sarullo V .2003. Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physicochemical properties of the ewes cheese Pecorino del Poro. International Dairy Journal, 13, 191–200.

Ceylan, Z G, Turkoglu H, and Dayisoylu S .2003. The microbiological and chemical quality of Skima cheese produced in Turkey. Pakistan Journal of Nutrition 2, 95-97.

Coeuret, V, Dubernet S, Bernardeau M, Gueg M .2003. Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. Lait, 83(4), 269-306

Cuesta, P., Fernández-Garcìa, E., González de Llano, D., Montilla, A., Rodríguez, A. 1996. Evolution of the Microbiological and Biochemical Characteristics of Afuega'l Pitu Cheese during Ripening. Journal of Dairy Science. 79(10), 1693-1698.

De Jong, L. 1976. Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. 1. Proteolysis and consistency of 'Noordhollandse' cheese. Netherlands Milk Dairy Journal. 30, 242-253.

Edalatian, M R, Habibi Najafi M B, Mortazavi S A, Alegría A, Nassiri M R, Bassami M R & Mayo B. 2012. Microbial diversity of the traditional Iranian cheeses Lighvan and Koozeh, as revealed by polyphasic culturing and culture-independent approaches. Dairy Science & Technology. 92(1), 75-90

El-Owni, O A and Hamid O I .2008. Effect of storage period on weight loss, chemical composition, microbiological and sensory characteristics of Sudanese white cheese. Pakistan Journal of Nutrition, 7, 75-80.

Erkmen, O .1995. Behaviour of Staphylococcus aureus in Turkish feta cheese during manufacture and ripening. Journal of Food Protection 58, 1201–1205.

Fox, P F, Guinee T P, Cogan T M, McSweeney P L H .2000. Pathogens and food-poisoning bacteria in cheese, in Fundamentals of Cheese Science. Eds. Fox P.F., Guinee T.P,. Cogan T.M.,

García Fontán M, Franco I, Prieto B .2001. Microbiological changes in San Simón cheese throughout ripening and its relationship with physico-chemical parameters. Food Microbiology. 18(1), 25-33

Govaris, A., Papageorgiou, D. K., Papatheodorou, K. 2002. Behavior of Escherichia coli 0157:H7 during the manufacture and after. Journal of Food Protection, 65, 609-615

Hayaloglu, A. A., Cakmakci, S., Brechany, E. Y., Deegan, K. C. McSweeney, P. L. H. 2007. Microbiology, Biochemistry, and Volatile composition of Tulum Cheese Ripened in Goat's Skin or Plastic Bags, Journal of Dairy Science ,90(3), 1102-1121.

Kanawjia, S.K. Rajesh, P. Singh S. 1995. Flavour, chemical and textural profile changes in accelerated ripened Gouda cheese. LWT - Food Science and Technology. 28(6), 577–583

Lindqvist R, Sylve´n S, & Vagsholm I .2002. Quantitative microbial risk assessment exemplified by Staphylococcus aureus in unripened cheese made from raw milk. International Journal of Food Microbiology, 78, 155–170.

Litopoulou, T E, Tzanetakis N, and Vafopoulou A .1993. Effect of the type of lactic starter on microbiological, chemical and sensory characteristics of feta cheese. Food Microbiology 10, 31–41.

Macedo A C, Malcata F X, Hogg T A, .1995. Microbiological profile in Serra ewe' s cheese during ripening. Journal of Applied Bacteriology. 79, 1-11.

Maher, M M, Jordan K N, Upton M E, Coffey A .2001. Growth and survival of E. coli O157:H7 during the

www.SID.ir

Archive of SID

manufacture and ripening of a smear-ripened cheese produced from raw milk. Journal of Applied Microbiology. 90(2), 201–207.
McDonald L C, Fleming H P and Hassan H M .1990. Acid tolerance of Leuconostoc mesenteroides and Lactobacillus plantarum. Applied and Environmental Microbiology. 56, 2120-2124.
McSweeney P L H, Fox P F, Lucey J A, Jordan K N and Cogan T M .1993. Contribution of the indigenous microflora to the maturation of Cheddar cheese. International Dairy Journal 3, 613-634.
Menendez S., Centeno J. A., Godınez R., & Rodriguez-Otero J. L. 1998. Some technological properties and enzymatic activities of strains of Enterococcus faecalis isolated from Cebreiro cheese. Alimentaria 296, 59–64.
Mortazavi, A. Ghandi, A. Barouei, J.and Mousavi M. 2007. Diversity of lactic acid bacteria isolated from Kurdish ewe's milk cheese .The Australian Journal of Dairy Technology. 62(3), 185-190
Navidghasemzad, S, Heasri J, Saris P .2009. Isolation of lactic acid bacteria from Lighvan cheese, semihard cheese made from raw milk. International Journal of Dairy Technology, 6(2), 260-264
Nespolo C, Correa A, Ritter A and Brandelli A .2010. Comparison of Fascal cheese produced with natural, commercial or autochthonous cultures. International Journal of Dairy Technology. 63, 1-9
Nuser, SM .2001. The effect of cooking and vacuum packaging on the quality of white soft cheese. M.Sc. thesis, University of Khartoum, Sudan.
Oner, Z, Karahan A .2006. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. LWT 39, 449–454
Ozer B, Atasoy F, Akin S .2002. some properties of Urfa cheese (traditional white-brined Turkish cheese) produced from bovine and ovine milks. International J Dairy Technology 55, 94–99.
Pinto, V M G, Franz C M A P, Schillinger U, & Holzapfel W H .2006. Lactobacillus spp. with in vitro probiotic properties from faeces and traditional fermented products. International Journal of Food Microbiology 109, 205–214.
Pisano, M, Fadda M, Deplano M, Corda A .2007. Characterizarion of Fiore Sardo cheese manufactured with the addition of autochthonous cultures. Journal of Dairy Research 74, 255–261
Saurel, R, Pajonk A, Andrieu J .2004. Modelling of French Emmental cheese water activity during salting and ripening periods. Journal of Food Engineering 63, 163–170
Tarakci Z, Temiz H .2009. A review of the biochemical and antimicrobial aspects of Turkish Otlu (herby) cheese. International Journal of Dairy Technology 62, 354-360
Tayar, A .1995. The chemical and microbiological changes occurring during ripening period of white cheeses. Food. 20: 97-101.
Tornadijo, M E, Fresno J M, Bernardo A, Sarmiento M R .1995. Microbiological changes throughout the manufacturing and ripening of a Spanish goat' s raw milk cheese. Lait 75, 551-570.
Tzanetakis, N and Litopoulou T E .1993. Changes in numbers and kinds of lactic acid bacteria in feta and teleme, two Greek cheeses. Journal of Dairy Science 75 1389–1393.
Vassiliadis, A., Psoni L., Nikolaou S., Arvanitis L., Tzanetakis N., & Litopoulou-Tzanetaki E. 2009. Changes in microbial populations, kind of lactic acid bacteria and biochemical characteristics of Greek traditional feta cheese during ripening. International Journal of Dairy Technology 62, 39-47
Viana, F, Afonso D, Carmo L, Rosa C .2009. Occurrence of coagulase-positive Staphylococci, microbial indicators and physical‐chemical characteristics of traditional semihard cheese produced in Brazil. International Journal of Dairy Technology. 62, 372-377
Warsama, L M, Elzubeir I E M and El Owni O .2006. Composition and hygienic quality of Sudanese white cheese in Khartoum North markets (Sudan). International Journal of Dairy Science 1, 36-43.
Welthagen, J J, Viljoen B C .1998. Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. International Journal of Food Microbiology 41, 185‐ 194.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 11, No. 2, Summer 2015, p. 140-151

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴، ص. ۱۵۱-۱۴۰

Microbiological diversity in Kurdish cheese throughout ripening and its relationship with physicochemical and sensory characteristics

S.A. Mortazavi[1*]-E. Milani[2] –M. Moeenfard[3]

Received:20-06-2012
Accepted: 27-11-2013

Abstract

Kurdish cheese is semi-firm cheese which has been traditionally manufactured from whole raw cow or sheep milk, in the East of Iran. It is ripened in goat's skin bags. The microbial diversity of kordish cheese originates from natural microbiota present in the raw milk and its unique organoleptic properties have made it excellent among other traditional cheeses in Iran. This study has been conducted to evaluate microbiological diversity during ripening of Kurdish cheese. Samples were taken from 6 batches of cheese on day 1, 20, 40 and 60. Sensory properties of Kurdish cheeses were determined at 60,120 and 180 days of ripening. Based on results, the diversity and microorganisms count of were mainly influenced by ripening time. Lactic acid bacteria and Enterobacteriaceae were the predominant families of micro-organisms during the first 20 days of ripening and lactobacilli was the most abundant lactic acid bacteria in cheese. Coliforms and E.*coli* decreased more rapidly in cheese, whereas mows and yeasts decreased gradually and then increased in ending days. At the end of ripening period, mo coliforms, salmonella and coagulase positive staphylococcus were detected in the samples. Changes in textural and chemical characteristics in relation to ripening time showed that; pH, Moisture, Total solid, aw and fat content of samples decreased during 40d and reached to 4.69, 33.9, 64.07, 0.927, 28.1 at 60 days respectively. no significant variations observed in Protein values during ripening period. The values for sensory characteristics such as taste, aroma, colour and total acceptance of the full-ripened cheeses (120^{th} days) increased as ripening progressed. According to our results, from a safety point of view, the optimum time for consuming Kurish cheese would be after passing ripening time of 60 days (during 1-2 months) due to decrease in pH, undesirable flora and increase in desirable LAB counts.

Keywords: Kurdish cheese; Physicochemical, Ripening; Lactic acid bacteria; Pathogenic bacteria.

1 Professor. , Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
2 Assistant professor. Iranian Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Mashhad, Iran
3 PhD. student, University of Porto, Portugal
(* - Corres ponding Author Email: Mortaza1973@yahoo.com)

www.SID.ir