

The Effect of Different Storage Temperature on Aroma Compounds of Probiotic UF Cheese

MARJAN TAJIK AHMAD ABADI¹, ALIREZA SHAHAB LAVASANI^{2*}, SHILA BERENJI³

1. Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

2. Innovative Technologies in Functional Food Production Research Center, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

3. Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

(Received: May. 6, 2019- Revised: July. 30, 2019- Accepted: Aug. 25, 2019)

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effect of storage temperature on aroma compounds of probiotic UF cheese containing different concentrations of probiotic *Bifidobacterium lactis*. For this purpose, UF cheeses with *B. lactis* cells at two levels (10^8 and 10^9 cfu/g) were prepared. The produced cheeses were ripened at 4, 10 and 25°C for 32 days and bacteria viable counts, pH, protein (%), dry matter (%), aroma compounds ($\mu\text{g/g}$) and sensory properties were measured. The results showed that an increase in inoculation level and storage temperatures lead to increase in the number of probiotic bacteria. During storage, the number of *B. lactis* was decreased. pH of all cheese samples was decreased, while acidity and dry matter amounts significantly were increased during storage ($p > 0.05$). By increasing the storage time, the amounts of acetaldehyde and acetoin were decreased, while acetic acid at first was increased and then was decreased. Temperature of storage didn't have a constant effect on diacetyl and ethanol amounts of probiotic cheese. Sensory evaluation exhibited cheese flavor and texture had no significant differences during storage time and it can be concluded that the probiotic inoculation level of 10^9 cfu /g and storage temperature (25 °C) were the best conditions for the production of probiotic ultrafiltration cheese.

Keywords: UF cheese, Temperature, *Bifidobacterium lactis*, Probiotic survival, Aroma compounds

بررسی تأثیر درجه حرارت‌های مختلف نگهداری بر ترکیبات آرومای پنیر پروبیوتیک UF

مرجان تاجیک احمدآبادی^۱، علیرضا شهاب لواسانی^{۲*}، شیلا برنجی^۳

۱. علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
 ۲. مرکز تحقیقات فناوری های نوین تولید غذای سالم، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
 ۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۱۶ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۵/۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۶/۳)

چکیده

هدف از این تحقیق، بررسی اثر دمای نگهداری بر ترکیبات آرومای پنیر فرآپالایش پروبیوتیک حاوی غلظت‌های مختلف باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس بود. برای این منظور، پنیر فرآپالایش حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس در دو سطح (10^8 و 10^9 cfu/g) تهیه شدند. پنیرهای تولید شده، در دماهای ۴، ۱۰ و ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۲ روز رسیدند و بقاء باکتری‌ها، مقادیر pH، پروتئین (درصد)، ماده خشک (درصد)، ترکیبات آروما ($\mu\text{g/g}$) و خصوصیات حسی بررسی شدند. نتایج نشان داد که افزایش سطح تلقیح و دمای نگهداری منجر به افزایش تعداد باکتری‌ها گردید. طی دوره نگهداری، تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس کاهش یافت. در تمامی نمونه‌ها در طول دوره، pH کاهش و مقادیر اسیدیته و ماده خشک افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). با افزایش زمان نگهداری، مقادیر استالیدید و استوئین کاهش، در حالی که اسید استیک در ابتدا افزایش و سپس کاهش داشت. دمای نگهداری اثر ثابتی بر مقادیر دی استیل و اتانول پنیر پروبیوتیک نداشت. نتایج ارزیابی حسی بیان کرد که تفاوت معنی‌داری در عطر و طعم و بافت بین پنیر حاوی بیفیدوباکتریوم و نمونه شاهد طی دوره نگهداری گزارش نشد و می‌توان نتیجه‌گیری نمود سطح تلقیح پروبیوتیک 10^9 cfu/g و دمای نگهداری ۲۵ درجه سلسیوس بهترین شرایط برای تولید پنیر فرآپالایش پروبیوتیک است.

واژه‌های کلیدی: پنیر UF، دما، بیفیدوباکتریوم لاکتیس، بقاء پروبیوتیک، ترکیبات آروما

مقدمه

سندرم روده تحریک پذیر، پیشگیری و درمان اسهال و کاهش کلسترول اشاره نمود (Boylston et al., 2004). اثرات مفید ناشی از مصرف غذاهای پروبیوتیک تحت تأثیر سویه باکتری پروبیوتیک موجود در فرآورده می باشد، این در حالی است که نمی توان تمام مزایای ذکر شده را از یک سویه باکتری پروبیوتیک انتظار داشت. بنا به تعریف فرآورده های پروبیوتیک، فعالیت متابولیک و زیستی باکتری های پروبیوتیک در تمامی مراحل تولید، نگهداری و هضم ماده غذایی در دستگاه گوارش مصرف کننده باید حفظ گردد. همچنین جمعیت مورد نیاز باکتری های پروبیوتیک در فرآورده نهایی غذایی جهت ایجاد اثرات مفید سلامت بخش بایستی cfu/g 10^6 - 10^7 باشد (Talwalkar et al., 2004). پنیر از جمله مواد غذایی است که پروتئین آن مرغوب بوده و از نظر دارا بودن اسیدهای آمینه ضروری بسیار غنی است. پنیر در مقایسه با سایر محصولات لبنی تخمیری مانند ماست و شیرهای تخمیری به دلیل دارا بودن برخی ویژگی‌ها از قبیل pH تقریباً خنثی، چربی بالا، بافت متراکم و منسجم به عنوان غذای حامل پروبیوتیک‌ها جهت ماندگاری و حفظ فعالیت زیستی آن‌ها در تمام مراحل عبور

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف در مقادیر کافی، دارای اثرات مفید بر سلامتی میزبان می باشند (Anonymous, 2001). غذاهای پروبیوتیک به عنوان محصولاتی عمل آوری شده که حاوی میکروارگانیسم های پروبیوتیک زنده در مقادیر کافی باشند، معرفی می شوند (Saxelin et al., 2003). لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها، معمول ترین پروبیوتیک‌هایی هستند که در فرآورده های لبنی مورد استفاده قرار می گیرند. لاکتوباسیل‌ها در صنعت برای اصلاح آروما، طعم و بافت محصولات تخمیری بکار می روند و با توجه به اثر ممانعت از رشدی که بر روی باکتری های نامطلوب مختلف دارند، سعی بر آن است تا از این باکتری ها یا باکتریوسین های خالص شده آن‌ها به عنوان نگهدارنده بیولوژیکی در صنعت غذا استفاده شود (Sreekumar & Mosono, 2000). از جمله مزایای بالقوه غذاهای پروبیوتیک در سلامتی انسان می توان به مواردی همچون بهبود تعادل میکروفلور دستگاه گوارش، تحریک سیستم ایمنی و فعالیت ضد سرطانی، درمان عدم تحمل لاکتوز، درمان

بودن عواملی مانند درجه حرارت نگهداری و غلظت سویه باکتری پروبیوتیک مورد استفاده بر آرومای پنیرهای پروبیوتیک تولید شده، هدف از این تحقیق، بررسی اثر درجه حرارت نگهداری و غلظت سویه پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس بر آرومای پنیر پروبیوتیک UF می باشد.

مواد و روش ها

آماده سازی استارتر میکروبی

کشت لیوفیلیزه بیفیدوباکتریوم لاکتیس زیر گونه *انیمالیس*^۲ از شرکت کامینوکس اسپانیا خریداری شد. تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس در هر بسته $10^9 \times 125$ cfu/g بود و میزان ۰/۵ گرم از سوش مذکور در محیط MRS broth تحت شرایط بی هوازی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. سلول ها به وسیله سانتریفوژ Mistral 6000، Sanyo، کشور آلمان در مدت ۱۰ دقیقه جداسازی و ۲ بار با شیر پس چرخ استریل شستشو و در شیر پنیر سازی در غلظت های $8 \log_{10}$ و $10 \log_{10}$ cfu/g به حالت سوسپانسیون در آمد (Jia et al., 2015).

آماده سازی پنیر UF

تولید پنیر UF مطابق با روش پیشنهادی شرکت تتراپک (Bylund, 1995) انجام شد. که شامل مایه زنی و عبور از تونل انعقاد و سپس نمک زنی و درب بندی و گرمخانه گذاری می باشد. گرمخانه گذاری به منظور کاهش pH بوده و ۴۸-۲۴ ساعت طول کشید. پس از این مرحله، پنیرها وارد سردخانه شده و در هر ۲ هفته آزمایشات مربوطه بر روی آن ها صورت گرفت.

آزمون ها

ارزیابی ماندگاری باکتری پروبیوتیک

به منظور ارزیابی ماندگاری بیفیدوباکتریوم لاکتیس در محصول و در طی زمان نگهداری، هر ۱۴ روز از محصول نمونه برداری شد. برای این منظور، ۱۰ گرم از نمونه پنیر برداشته شده و در ۹۰ میلی لیتر رقیق کننده (تری سترات سدیم) مخلوط و همگن گردید. سپس رقت های سریالی از آن تهیه شد. از رقت های مورد نظر ۱ میلی لیتر برداشته و با روش ریختن در پلیت در محیط کشت های مورد نظر کشت داده شد. برای شمارش گونه پروبیوتیکی از محیط کشت MRS- بایل آگار استفاده شد. گرمخانه گذاری پلیت های مورد آزمون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت صورت گرفت (Karimi et al., 2011).

از دستگاه گوارش و هضم بسیار مناسب می باشد (Mes da Cruz et al., 2009). در سال های اخیر مصرف کنندگان علاوه بر در نظر گرفتن ویژگی های تغذیه ای که به صورت متعارف از یک ماده غذایی مورد نظر است، به خصوصیات سلامت بخش محصول نیز توجه ویژه ای دارند. ماده غذایی فراسودمند، ماده غذایی است که در بردارنده دست کم یک ویژگی سلامتی بخش مشخص افزون بر خواص تغذیه ای پایه باشد. یکی از متداول ترین انواع غذاهای فراسودمند، فرآورده های پروبیوتیک است. غذاهای پروبیوتیک به دسته ای از فرآورده های غذایی گفته می شود که شامل یک یا مخلوطی از کشت های باکتریایی زنده و مفید هستند که مصرف آن ها باعث ایجاد تعادل در فلور میکروبی روده و در نهایت سبب افزایش سلامتی انسان می شود. لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم، از اصلی ترین باکتری های پروبیوتیک مورد استفاده در محصولات لبنی هستند (Rezaei, 2010). بیفیدوباکتریوم ها غیرمتحرک، غیراسپورزا، کاتاز منفی و اوره آز مثبت می باشند. مقدار pH بهینه رشد آن ها ۷-۶/۵ بوده و حساس به اسید و اکسیژن مولکولی هستند (Wysong, 2001).

با این حال، یکی از مهم ترین چالش های موجود در زمینه تولید و فرآوری محصولات پروبیوتیک، پائین بودن قابلیت زندهمانی باکتری های پروبیوتیک به دلیل حساسیت به شرایط سخت و دشوار موجود در محصولات غذایی و هم چنین شرایط نامساعد دستگاه گوارش است و این در حالی است که طبق گزارش FAO، محصول پروبیوتیک استاندارد، محصولی است که در لحظه مصرف حداقل 10^7 - 10^6 میکروارگانیسم زنده و فعال پروبیوتیک داشته باشد (Bergamini et al., 2005). عوامل مختلفی بر بقای میکروارگانیسم های پروبیوتیک و اثر آن ها بر مشخصات کیفی پنیر موثرند، مانند: pH، اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، اکسیژن نامحلول، درجه حرارت رسیدن و انبارداری، افزودنی هایی مانند کلرید سدیم، قند و نگهدارندهای ضد میکروبی، و ترکیبات فرار (Shah, 2000). درجه حرارت مطلوب برای اکثر گونه های بیفیدوباکتریوم با منشاء انسانی بین ۳۶ و ۳۸ درجه سلسیوس می باشد، در حالی که این درجه حرارت برای انواع با منشاء حیوانی نسبتاً بالاتر (۴۰-۴۳ درجه سلسیوس) است. بیفیدوباکتریوم در درجه حرارت های کمتر از ۲۰ درجه و بالاتر از ۴۶ درجه سانتی گراد قادر به رشد نیست (Rasic & Kurmann, 1983). استفاده از افزایش دما منجر به کاهش رطوبت، تشدید پروتئولیز، افزایش معنادار شاخص های رسیدن پنیر کاجکوال^۱ سوریه گردید (Al-attar et al., 2015). با توجه به مؤثر

اندازه گیری اسیدیتته

میلی لیتر اسید بوریک در ارلن مایر ریخته و چهار قطره شناساگر به آن اضافه شد. با یک استوانه مدرج ۸۰ میلی لیتری محلول سود سوزآور به محتوی بالن کج‌دال اضافه گردید. بالن کج‌دال به مبرد وصل شد. محتوی بالن با تکان دادن بهم زده شده و تا نقطه جوش حرارت دهی شد. عمل تقطیر تا جایی ادامه یافت که محتوی مایع شروع به قلیان نمود. در نهایت، حرارت متوقف شده و لوله انتهایی سردکن برداشته شد و مایع تقطیر با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر گردید (Anonymous, 1965).
(رابطه ۲)

$$1.40 \times \text{نرمالیتة اسید} \times (\text{حجم اسید مصرفی برای شاهد} - \text{حجم اسید مصرفی برای نمونه}) = \text{درصد نیتروژن}$$

$$6.38 \times \text{درصد نیتروژن} = \text{درصد پروتئین}$$

اندازه گیری میزان ماده خشک

اندازه گیری ماده خشک با دستگاه رطوبت سنج انجام گرفت. برای این منظور، ۱ گرم از نمونه پنیر بر روی کاغذ به طور یکنواخت مالیده شده و در دستگاه قرار داده شد. دستگاه پس از تبخیر شدن آب، درصد ماده خشک را نشان داد (Solhi et al., 2014).

ارزیابی ترکیبات موثر بر آرومای پنیر

به منظور استخراج ترکیبات موثر بر آرومای پنیر، از روش Condurso et al. (2008) با پاره ای از تغییرات جهت بهینه سازی آن استفاده شد. بر این اساس، ۶ گرم از هر یک از نمونه های پنیر به صورت مکعب کوچک (هر ضلع ۳ سانتی متر) بریده شده و در داخل ویال ۴۰ میلی لیتری قرار گرفت و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا با فضای بالای خود به تعادل برسد. سپس فیبر DVB/CAR/PDMS (دی وینیل بنزن/کربوکسن/پلی دی متیل سیلوکسان) به مدت ۳۰۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سلسیوس در معرض فضای بالای نمونه قرار گرفت (زمان استخراج). استفاده از این زمان استخراج برای حداکثر رهايش و جذب استرها بر فیبر ضروری است. سپس فیبر برای مدت ۵ دقیقه وارد محل تزریق دستگاه کروماتوگرافی گازی با دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس شد تا ترکیباتی جذب شده و جذب شده و وارد ستون DB-wax مئینه (۰.۲۵۰ mm × 30 m × 0.5 μm) شدند. گاز حامل هلیوم خالص با سرعت جریانی ۱/۲ میلی لیتر در دقیقه انتخاب گردید. دستگاه مجهز به شناساگر انتخاب جرم بود که با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، ترکیبات را از ۲۰ تا ۵۰۰ m/z شناسایی نمود. اندازه گیری مساحت زیر پیک ترکیبات آروما با استفاده از نرم افزار Chemstation انجام گرفت. دمای اولیه گرمخانه دستگاه ۴۵ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه بوده و سپس تا ۲۵۰ درجه سلسیوس با سرعت ۵ درجه سلسیوس در دقیقه دمای آن افزایش یافت و در همین دما

نمونه پنیر در مخلوط کن مناسب کاملاً نرم و مخلوط شد. سپس ۲۰ گرم از آن در بشر توزین شده و در مقداری آب حل گردید. بعد از وارد کردن کلیه محتویات آن به داخل بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری، به حجم رسانده شد و با استفاده از صافی صاف گردید و ۲۵ میلی لیتر از محلول صاف شده به یک بشر مناسب انتقال داده شد و به آن ۰/۵ میلی لیتر فنل فتالین افزوده و با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال عیارسنجی گردید. این عمل تا ظهور رنگ صورتی کم رنگ و پایداری آن به مدت ۵ ثانیه ادامه یافت (Anonymous, 1987). میزان اسیدیتته از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

(رابطه ۱)

$$\text{حجم بالن مورد استفاده} \times \frac{N \times 0.009 \times 100}{M1} = \text{اسیدیتته}$$

که در آن:

N: مقدار میلی لیتر سود ۰/۱ نرمال؛ M1: وزن نمونه برابر

۲۰ گرم؛ V: حجم نمونه برابر ۲۵ میلی لیتر.

اندازه گیری pH

اندازه گیری pH تیمارها بر اساس روش بیان شده توسط استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ صورت گرفت. قبل از استفاده از pH متر، دستگاه به وسیله محلول بافر با دمای مناسب (۲۰ درجه سلسیوس) تنظیم گردید. برای این کار، حدود ۲۵ میلی لیتر محلول بافر در یک بشر ۵۰ میلی لیتری ریخته شده و به الکتروود دستگاه در داخل آن قرار گرفت (Anonymous, 1987).

اندازه گیری پروتئین

اندازه گیری میزان پروتئین نمونه های پنیر بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۶۳۹ انجام گرفت. در بالن کج‌دال به ترتیب چند گلوله شیشه‌ای یا قطعات کوچک چینی در حدود ۱۰ گرم سولفات پتاسیوم و ۰/۵ گرم اکسید جیوه و ۵ گرم نمونه که با دقت یک میلی گرم وزن شده ریخته شد. ۲۰ میلی لیتر اسید سولفوریک اضافه شده، محتوی بالن هم زده شد. بالن کج‌دال به دقت با حرارت ملایم روی دستگاه هضم حرارت‌دهی گردید تا این که دیگر کف تولید نکرد و محتوی بالن به صورت مایع در آمد. سپس عمل هضم با حرارت بیشتر ادامه یافت تا زمانی که محتوی بالن کاملاً زلال و بی رنگ گردید، ضمناً در حین حرارت دادن گاه به گاه محتوی بالن تکان داده شد. وقتی مایع درون بالن کاملاً زلال و شفاف گردید، عمل جوش به مدت ۱/۵ ساعت ادامه داده شد. سپس محتوی بالن در حرارت محیط سرد شده و ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر و چند قطعه سنگ جوش به آن اضافه و به دقت همزده شد و مجدداً سرد گردید. با یک استوانه مدرج ۵۰

معنی داری وجود نداشت ($p > 0.05$). در نمونه های حاوی سطح تلقیح 10^9 cfu/g، بین دو دمای ۴ و ۱۰ درجه سلسیوس تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). ولی با افزایش دما از ۱۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، میزان قابلیت زنده مانگی باکتری پروبیوتیک به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در همه نمونه های پنیر، با گذشت زمان، لگاریتم تعداد باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس به طور کاملاً معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در روز آخر انبارمانی، در هر دو سطح تلقیح پروبیوتیک، نمونه های نگهداری شده در کمترین دما (۴ درجه سلسیوس)، بیشترین قابلیت زنده مانگی را داشتند. در این روز، بیشترین و کمترین لگاریتم تعداد باکتری پروبیوتیک، به ترتیب مربوط به نمونه های پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک و نگهداری شده به ترتیب در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد می باشد (شکل ۱).

برای رسیدن به کارآیی مطلوب پروبیوتیک ها پیشنهاد شده است که در زمان مصرف، حداقل تعداد آن ها باید 10^7 CFU - 10^6 باکتری پروبیوتیک در هر گرم محصول باشد (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001). بر اساس نتایج حاضر تعداد باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در تمامی تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق، تا آخرین روز انبارمانی (روز سی و دوم) در حد قابل قبول توصیه شده بود. (Kasimoglu et al., 2004) به طور موافق با نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که ماندگاری باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طی ۱۵ روز ابتدایی دوره رسیدن کاهش یافت، که علت آن را کاهش میزان رطوبت، افزایش میزان نمک در پنیر و کاهش دمای نگهداری دانستند. پژوهشگران در بررسی پنیر سفید ایرانی به عنوان یک فرآورده لبنی حامل باکتری های پروبیوتیک بیان کردند که اگرچه میزان شمارش زنده گونه های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در طی دوره رسیدن پنیر سفید کاهش نشان داد ولی میزان آن ها در انتهای دوره رسیدن و نگه داری پنیر به کمتر از 10^6 CFU/g نرسید (Ehsani et al., 2011).

بررسی مقادیر pH پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان pH پنیر UF از لحاظ آماری معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر pH نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم، بیشترین میزان pH مربوط به نمونه شاهد بود و تلقیح پنیر با باکتری

به مدت ۵ دقیقه نگهداری شد (Condurso et al., 2008).

ارزیابی حسی

به منظور ارزیابی حسی، از آزمون ارزیابی حسی هدونیک ۵ نقطه ای استفاده شد. ۱۰ ارزیاب به طور تصادفی از گروه های سنی مختلف که دارای سطح تحصیلات مختلف بوده و شامل هر دو جنس مرد و زن بودند، انتخاب شدند. سپس پرسشنامه مربوطه در اختیار آن ها قرار داده شد. نمونه های پنیر در یک تکرار از لحاظ عطر و طعم، شکل ظاهری، رنگ، بافت و ارزیابی کلی بررسی گردیدند و به هر یک از این ویژگی ها از ۱ تا ۵ امتیاز داده شد، به طوری که امتیاز ۱ مربوط به نمونه بسیار بد و امتیاز ۵ مربوط به نمونه بسیار خوب بود و سپس نتایج حاصل تجزیه و تحلیل شدند (Solhi et al., 2014).

تجزیه و تحلیل داده ها

آزمایش های در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شدند. نتایج حاصل از آزمایشات مختلف به منظور بررسی اختلاف معنی دار بین داده ها توسط آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS 22 تحلیل گردیدند و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ($p < 0.05$) استفاده شد. رسم نمودارهای حاصل نیز با نرم افزار Excel انجام گرفت.

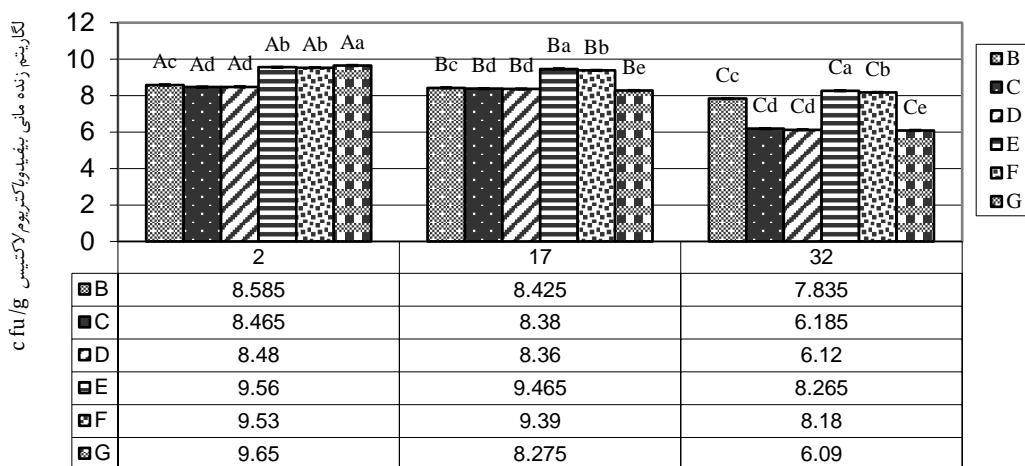
نتایج و بحث

زنده مانگی باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در پنیر UF

تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد استفاده و زمان نگهداری بر لگاریتم زنده مانگی باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در هر گرم پنیر UF در شکل ۱ آورده شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر لگاریتم تعداد پروبیوتیک در پنیر UF از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($p < 0.01$). تغییرات میانگین مقادیر لگاریتم تعداد باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه های مختلف پنیر UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم نگهداری، افزایش سطح تلقیح باکتری پروبیوتیک اثر معنی داری بر قابلیت زنده مانگی آن ها در نمونه های پنیر داشت ($p < 0.05$). در نمونه های حاوی سطح تلقیح پروبیوتیک 10^8 cfu/g، با افزایش دما از ۴ تا ۱۰ درجه سلسیوس، میزان قابلیت زنده مانگی پروبیوتیک ها کاهش معنی داری داشت، ولی بین دو دمای ۱۰ و ۲۵ درجه سلسیوس اختلاف

پنیر به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در روز آخر آزمایشات، بیشترین میزان pH مربوط به نمونه E (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه سلسیوس) بود و نمونه G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) کمترین میزان pH را داشت.

پروبیوتیک منجر به کاهش معنی دار میزان pH گردید ($p < 0.05$). با افزایش دمای نگهداری، میزان pH به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در این روز، کمترین میزان pH مربوط به نمونه G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) بود. طی دوره نگهداری، میزان pH در همه نمونه های

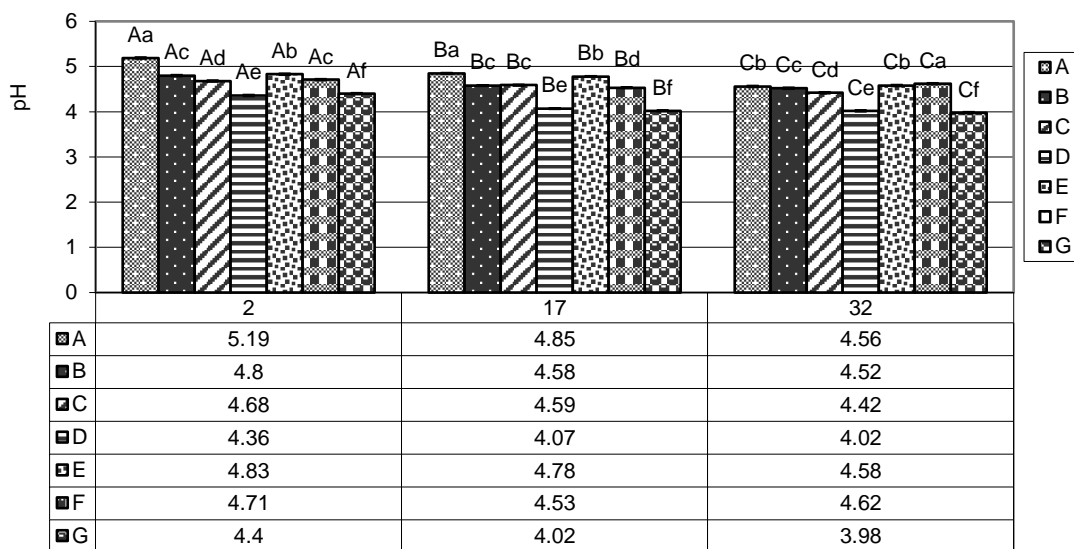


دوره ماندگاری (روز)

شکل ۱- تغییرات لگاریتم زنده مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس (log cfu/g) طی دوره ماندگاری پنیر فرآپالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.
*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.



مدت نگهداری (روز)

شکل ۲- تغییرات میانگین مقادیر pH طی دوره ماندگاری پنیر فرآپالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

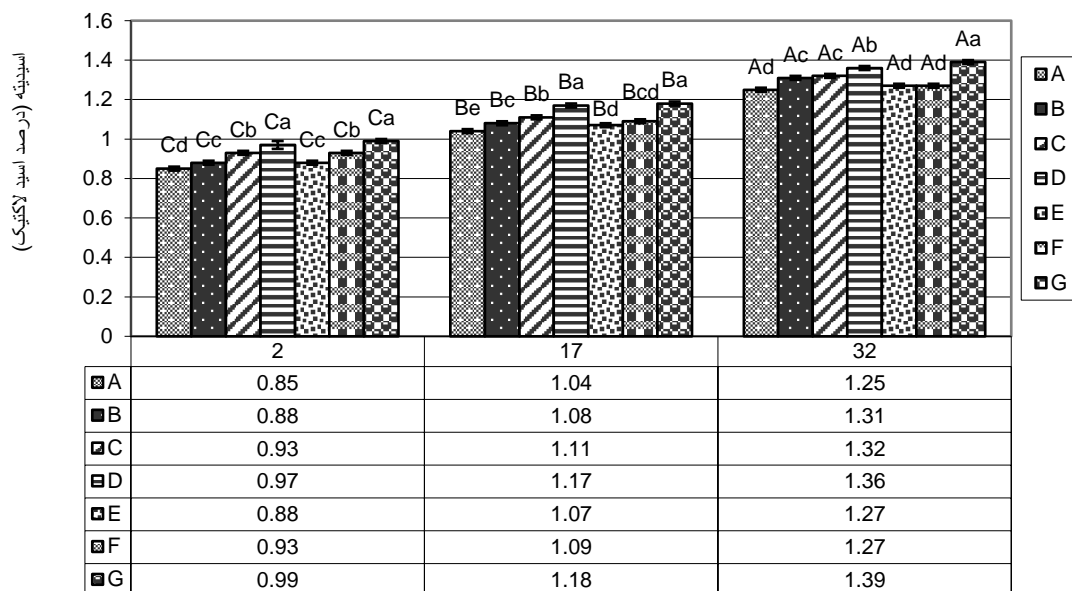
*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.
*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

اسیدیته پنیر UF از لحاظ آماری معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر اسیدیته نمونه‌های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می‌گردد، در روز دوم، کمترین میزان اسیدیته مربوط به نمونه شاهد بود و تلقیح پنیر با باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس باعث افزایش معنی دار میزان اسیدیته گردید ($p < 0.05$). با افزایش دمای نگهداری، میزان اسیدیته پنیر به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در این روز، نمونه های G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) و D (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) بیشترین میزان اسیدیته را داشتند. با گذشت زمان، میزان اسیدیته کلیه نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در روز آخر انبارمانی، بیشترین میزان اسیدیته مربوط به نمونه G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) بود و نمونه شاهد و نمونه های E و F بیشترین میزان اسیدیته را داشتند و بین این سه تیمار در این روز اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

نتایج نشان داد که با تلقیح باکتری پروبیوتیک و افزایش دمای نگهداری، به دلیل افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها و تولید اسید، میزان pH کاهش یافت. طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، میزان pH در همه نمونه های پنیر به طور معنی داری کاهش پیدا کرد. کاهش pH یا افزایش اسیدیته در طی دوره نگهداری پنیر، ناشی از تکمیل نسبی تخمیر لاکتوز و تولید اسیدهای چرب است (Ghaemi et al., 2010). با افزایش درجه حرارت، به دلیل افزایش فعالیت باکتری های پروبیوتیک، میزان pH کاهش بیشتری دارد. پژوهشگران گزارش کردند که در طی زمان نگهداری، pH نمونه های شاهد و نمونه های پنیر سفید حاوی پروبیوتیک کاهش و اسیدیته افزایش یافت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت (Ghaemi et al., 2010). محققان دیگر بیان کردند که نوع سویه پروبیوتیک مورد استفاده در پنیر سفید ایرانی اثر معنی داری بر pH پنیر نداشت. در طی زمان نگهداری ۶۰ روزه، میزان pH همه نمونه ها کاهش یافت (Ehsani et al., 2011).

بررسی مقادیر اسیدیته پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان



مدت نگهداری (روز)

شکل ۳- تغییرات میانگین مقادیر اسیدیته (% اسید لاکتیک) طی دوره ماندگاری پنیر فرابالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

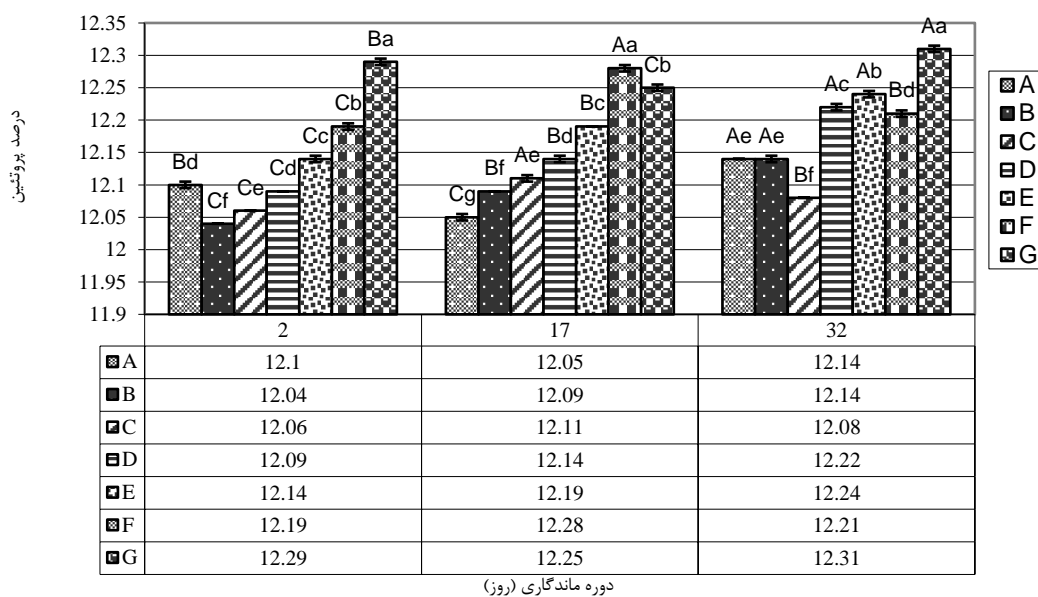
**حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

($p < 0.05$) در این روز، بیشترین و کمترین میزان پروتئین، به ترتیب مربوط به نمونه های G (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه سلسیوس) و B (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه سلسیوس) بود. در نمونه های B، D (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) و E (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه سلسیوس)، با گذشت زمان میزان پروتئین به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$)، در حالی که در سایر نمونه های پنیر، طی دوره نگهداری، محتوای پروتئین نوسان داشت. به طوری که در نمونه های شاهد G و (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس)، محتوای پروتئین در ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت، ولی در نمونه های C (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه سلسیوس) و F (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه سلسیوس)، میزان پروتئین در ابتدا به میزان جزئی افزایش نشان داد که احتمالاً به دلیل کاهش رطوبت و سپس کاهش ناچیز از خود نشان داد. که به دلیل پروتئولیز و انتقال از فاز لخته به سرم می باشد (Shahab Lavasani et al., 2012). در روز آخر نگهداری، نمونه G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) بیشترین میزان پروتئین را داشت و کمترین میزان آن مربوط به نمونه C (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه سلسیوس) بود.

نتایج نشان داد که با گذشت زمان، میزان اسیدیته کلیه نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش یافت. تولید اسید در طی دوره نگهداری، به دلیل تخمیر لاکتوز توسط میکروارگانیسم های استارتر و پروبیوتیک می باشد. تلقیح پنیر با باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس و افزایش دمای نگهداری، به دلیل افزایش تولید اسیدهای آلی، سبب افزایش معنی دار میزان اسیدیته گردید (Ong & Shah, 2009). (Sabbagh et al. (2010). به طور موافق با نتایج پژوهش حاضر گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک به شیر سبب افزایش میزان اسیدیته گردید. (Mahmoud et al. (2013) بیان نمودند که افزودن باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم به پنیر کاریش سبب کاهش اسیدیته قابل تیتراسیون پنیر شد.

بررسی مقادیر پروتئین پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان پروتئین پنیر UF از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر پروتئین نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۴ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم، با افزایش سطح تلقیح باکتری پروبیوتیک و دمای نگهداری، محتوای پروتئین نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش یافت



شکل ۴- تغییرات میانگین مقادیر پروتئین (%) طی دوره ماندگاری پنیر فرایالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

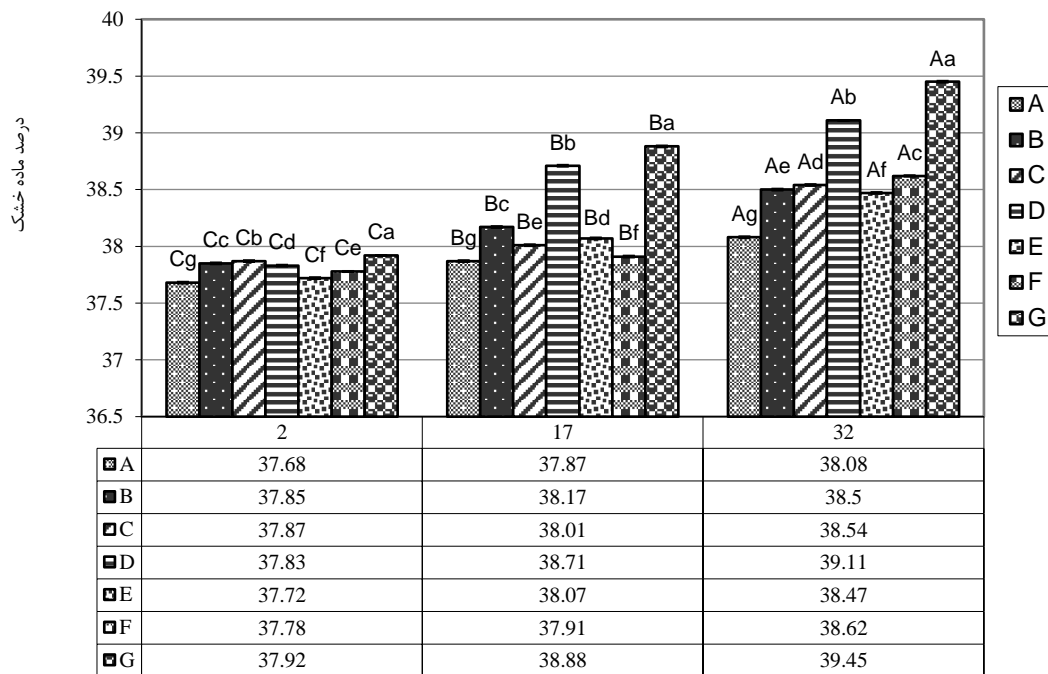
*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان ماده خشک پنیر UF از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر درصد ماده خشک نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۵ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم، با افزایش سطح تلقیح باکتری پروبیوتیک، میزان درصد ماده خشک نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در این روز، بیشترین و کمترین میزان ماده خشک، به ترتیب مربوط به نمونه های G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) و شاهد (A) بود. طی دوره نگهداری، میزان ماده خشک کلیه نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش یافت. در روز آخر نگهداری، با افزایش دمای نگهداری، میزان درصد ماده خشک به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در این روز نیز نمونه G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) بیشترین میزان درصد ماده خشک را داشت و کمترین میزان آن مربوط به نمونه شاهد بود.

حد قابل قبول پروتئین برای پنیر فرآپالایش را حداقل ۱۲ درصد تعیین کرده است (Anonymous, 2014). با مقایسه نتایج پژوهش حاضر می توان بیان کرد که میزان پروتئین کلیه تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در محدوده قابل پذیرش تعیین شده توسط استاندارد قرار داشت. در مطالعه انجام شده توسط پژوهشگران بر روی تولید پنیر سفید فرآپالایشی با استفاده از سویه لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس نشان داده شد که در طی زمان نگهداری نمونه های پنیر، محتوای پروتئین افزایش یافت (Ghaemi et al., 2010)، که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت. (Mahmoud et al., 2013) مشاهده کردند که افزودن باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به پنیر کاریش اثر معنی داری بر محتوای پروتئین نمونه های پنیر نداشت و با گذشت زمان، میزان پروتئین کل نمونه شاهد و نمونه حاوی سویه پروبیوتیک به تدریج کاهش یافت.

بررسی مقادیر ماده خشک پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای



شکل ۵- تغییرات میانگین مقادیر ماده خشک (%) طی دوره ماندگاری پنیر فرآپالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

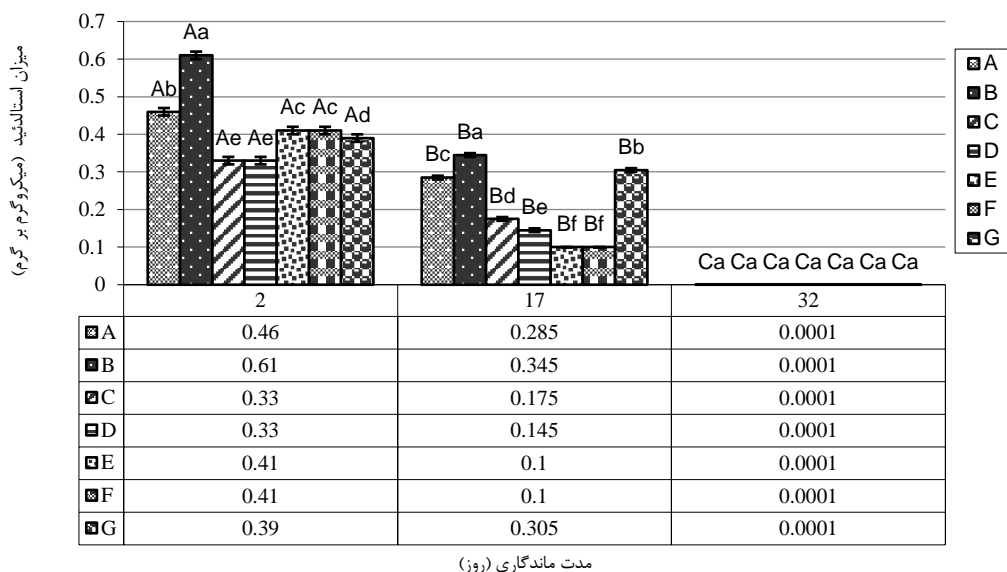
تدریج کاهش یافته و از آنجایی که محتوای رطوبت و ماده خشک رابطه عکس دارند، با کاهش رطوبت، میزان ماده خشک پنیر افزایش یافته است.

بررسی ترکیبات مؤثر بر آرومای پنیر UF

مقادیر استالدئید نمونه های پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان استالدئید پنیر UF از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر استالدئید نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۶ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم، با افزایش دمای نگهداری از ۴ به ۱۰ درجه سلسیوس در سطح تلقیح 10^8 cfu/g و از ۱۰ به ۲۵ درجه سلسیوس در سطح تلقیح 10^9 cfu/g، میزان استالدئید به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$) ولی بین دو دمای دیگر، اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). با گذشت زمان، میزان استالدئید در کلیه نمونه های مورد بررسی در این تحقیق به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در روز آخر انبارمانی، بین مقادیر استالدئید نمونه های مختلف پنیر اختلاف معنی داری وجود نداشت ($p > 0.05$).

بررسی مقادیر ماده خشک پنیر فرآپالایش پروبیوتیک نشان داد که طی دوره نگهداری، میزان ماده خشک کلیه نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش یافت. علت افزایش ماده خشک پنیر در طی زمان نگهداری می تواند از یک طرف به جذب نمک و از سوی دیگر خارج شدن آب پنیر جهت حفظ فشار اسمزی مربوط باشد. با افزایش سطح تلقیح باکتری پروبیوتیک و دمای نگهداری، میزان درصد ماده خشک نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش یافت، زیرا در پنیرهای با فعالیت پروتئازی بالاتر که نقش مهمی در آزادسازی اسیدهای آمینه، پپتیدها، گروه های آمینی و کربوکسیل دارند، قابلیت انحلال پروتئین ها بیشتر است و در نهایت دارای ماده خشک بالاتری هستند (Bergamini et al., 2006). یکی از عوامل مهم در تغییرات ماده خشک پنیر، جذب آب توسط پروتئین ها است. هر چه گروه های قطبی در شبکه پروتئینی بالا باشد، میزان جذب آب نیز بالاتر خواهد بود، در نتیجه میزان ماده خشک کاهش می یابد (Ghaemi et al., 2010). Sabbagh et al. (2010) گزارش نمودند که افزودن پروبیوتیک سبب کاهش محتوای رطوبت گردید. کاهش pH در اثر افزودن پروبیوتیک ها، سبب آب اندازی دلمه و کاهش محتوای رطوبت و افزایش میزان ماده خشک پنیر گردید، که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت. (Perveen et al., 2011) بیان کردند که در طی زمان نگهداری پنیر خامه ای، میزان رطوبت به



شکل ۶- تغییرات میانگین مقادیر استالدئید (g/g) طی دوره ماندگاری پنیر فرآپالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

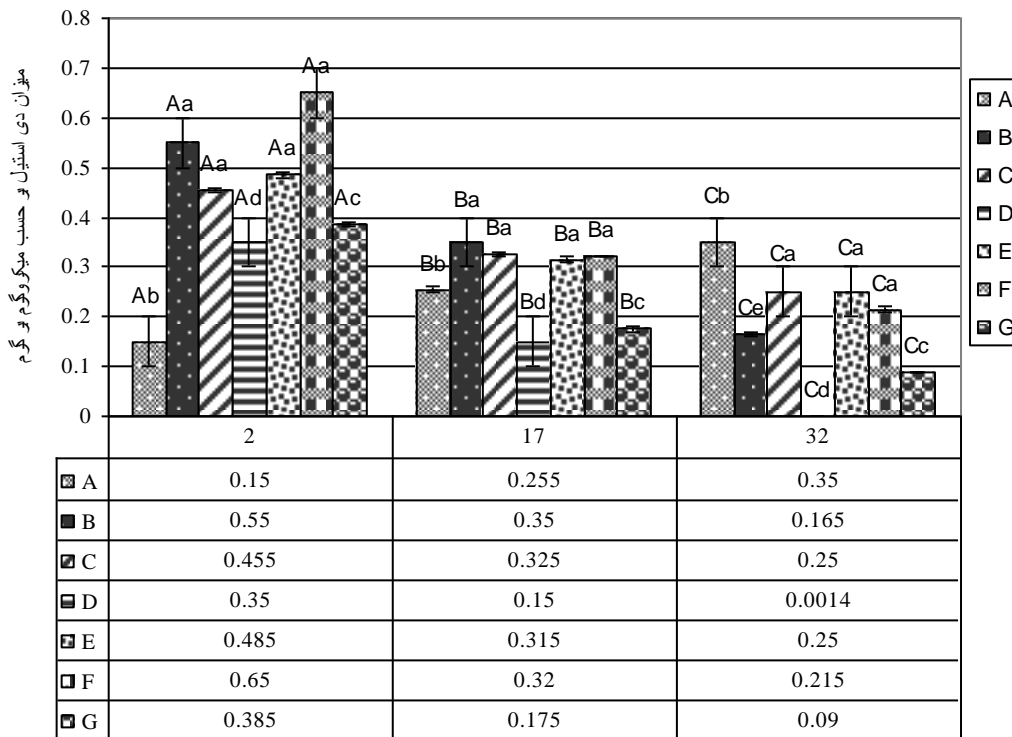
*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

درجه سلسیوس، میزان دی استیل افزایش پیدا کرد، ولی افزایش دما از ۱۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، منجر به کاهش معنی دار میزان این ترکیب گردید ($p < 0.05$). در نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک، با گذشت زمان، میزان دی استیل به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$)، ولی در نمونه شاهد، طی دوره نگهداری، میزان این ترکیب به طور معنی داری افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). در روز آخر نگهداری، بیشترین میزان دی استیل مربوط به نمونه شاهد بود و نمونه حاوی 10^8 cfu/g باکتری پروبیوتیک نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس (D) کمترین میزان دی استیل را داشت.

مقادیر دی استیل نمونه های پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان دی استیل پنیر UF از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر دی استیل نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۷ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم، در نمونه های با سطح تلقیح 10^8 cfu/g، با افزایش دمای نگهداری، میزان دی استیل کاهش یافت، در حالی که در نمونه های با سطح تلقیح 10^9 cfu/g، با افزایش دما از ۴ تا ۱۰



دوره ماندگاری (روز)

شکل ۷- تغییرات میانگین مقادیر دی استیل (g/g) طی دوره ماندگاری پنیر فراپالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

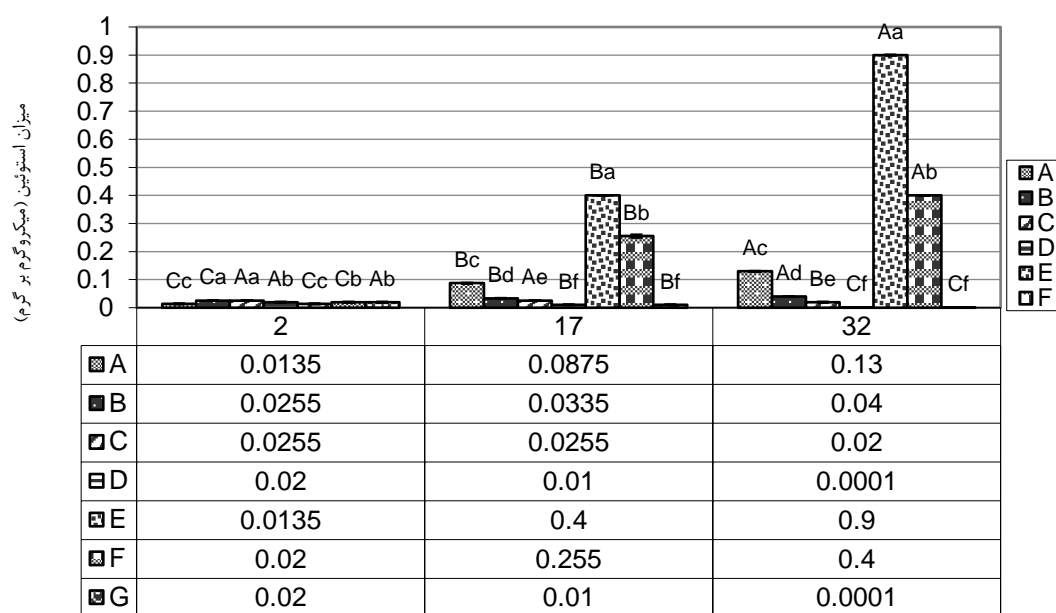
پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۸ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم، نمونه های حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای نگهداری ۴ و ۱۰ درجه سلسیوس، بیشترین میزان استوئین را داشتند و بین این دو نمونه اختلافی وجود نداشت ($p > 0.05$). کمترین

مقادیر استوئین نمونه های پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان استوئین پنیر UF از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر استوئین نمونه های مختلف پنیر

طور معنی داری کاهش پیدا کرد. در سایر نمونه های پنیر، با گذشت زمان، میزان استوئین به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در روز آخر، با افزایش دمای نگهداری، میزان استوئین به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در این روز، بیشترین میزان استوئین مربوط به نمونه حاوی بالاترین سطح تلقیح نگهداری شده در کمترین دما (E) بود و نمونه های D (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) و G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس)، کمترین میزان استوئین را داشتند.

میزان استوئین در این روز مربوط به نمونه های شاهد و E (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه سلسیوس) بود و بین این دو نمونه نیز تفاوتی مشاهده نشد ($p > 0.05$). در نمونه های D (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) و G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس)، طی دوره نگهداری، میزان استوئین به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در نمونه C (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه سلسیوس)، از روز دوم تا هفدهم، میزان استوئین تغییری نکرد، ولی از روز هفدهم تا سی و دوم به



دوره ماندگاری (روز)

شکل ۸- تغییرات میانگین مقادیر استوئین (g/gμ) طی دوره ماندگاری پنیر فراپالایش پروبیوتیک

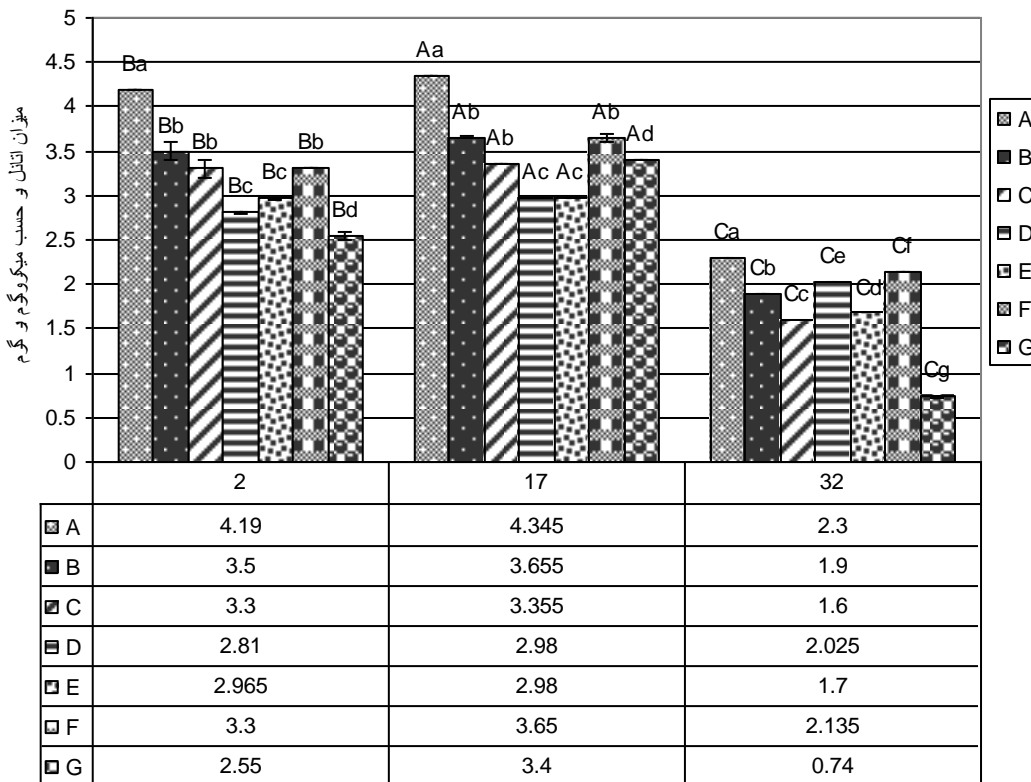
A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.
*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

ولی با افزایش دما از ۱۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، میزان اتانول به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در نمونه های با سطح تلقیح 10^9 cfu/g، با افزایش دمای نگهداری، میزان اتانول در ابتدا افزایش و سپس به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در کلیه نمونه های پنیر، با گذشت زمان، میزان اتانول در ابتدا افزایش و سپس به طور معنی داری کاهش پیدا کرد ($p < 0.05$). در روز آخر نگهداری، بیشترین و کمترین میزان اتانول، به ترتیب مربوط به نمونه شاهد (A) و نمونه G (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) بود.

مقادیر اتانول نمونه های پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان اتانول پنیر UF از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر اتانول نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۹ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم، با افزایش سطح تلقیح، میزان اتانول کاهش یافت. در سطح تلقیح cfu/g 10^8 ، تفاوتی بین دو دمای ۴ و ۱۰ درجه سلسیوس مشاهده نشد،



دور ماندگاری (روز)

شکل ۹- تغییرات میانگین مقادیر اتانول (g/g) طی دوره ماندگاری پنیر فرآپالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.
*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

نمونه های F (حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه سلسیوس) و D (حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس) بود.

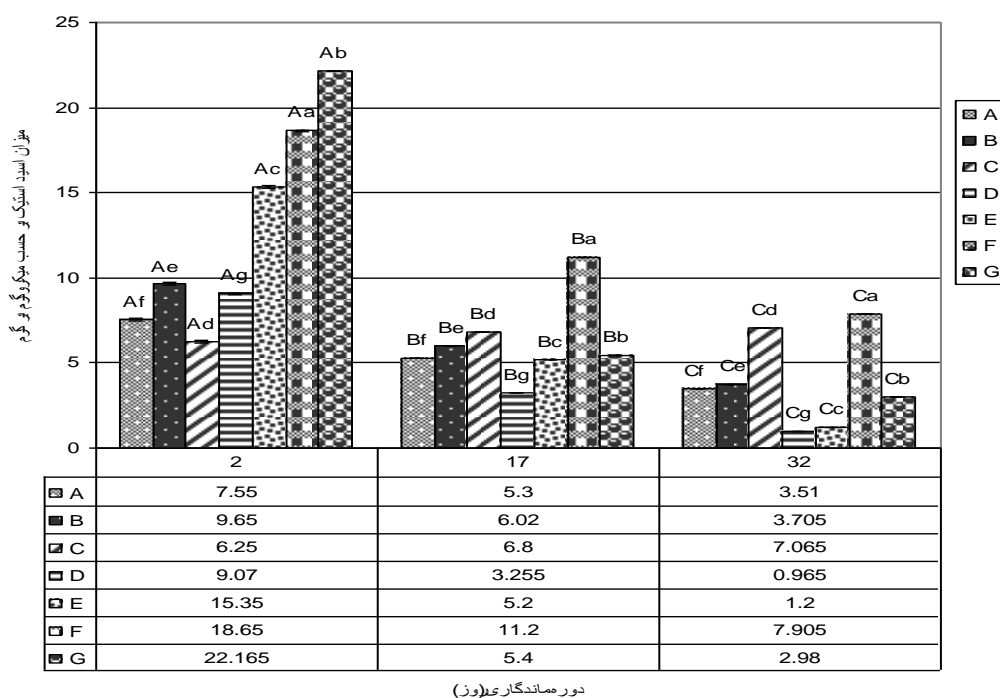
از لحاظ میزان اتانول و اسید استیک، با افزایش سطح تلقیح، میزان اتانول کاهش و میزان اسید استیک افزایش یافت. در سطح تلقیح 10^8 cfu/g، با افزایش دما از ۱۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، میزان اتانول به طور معنی داری کاهش یافت. در این سطح، با افزایش دمای نگهداری، میزان اسید استیک در ابتدا کاهش و سپس به طور معنی داری افزایش یافت. نتایج پژوهش حاضر همچنین نشان داد که در نمونه های با سطح تلقیح cfu/g 10^8 ، با افزایش دمای نگهداری، میزان دی استیل کاهش یافت، در حالی که در نمونه های با سطح تلقیح cfu/g 10^9 ، با افزایش دما از ۴ تا ۱۰ درجه سلسیوس، میزان دی استیل افزایش پیدا کرد، ولی افزایش دما از ۱۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، منجر به کاهش معنی دار میزان این ترکیب گردید. میزان استوئین نمونه های پنیر پروبیوتیک نشان داد که در روز دوم، نمونه های

مقادیر اسید استیک نمونه های پنیر UF

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار در زمان بر میزان اسید استیک پنیر UF از لحاظ آماری کاملاً معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین مقادیر اسید استیک نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگهداری ۳۲ روزه، در شکل ۱۰ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ملاحظه می گردد، در روز دوم، با افزایش سطح تلقیح، میزان اسید استیک به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در سطح تلقیح cfu/g 10^8 ، با افزایش دمای نگهداری، میزان اسید استیک در ابتدا کاهش و سپس به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$)، در حالی که در نمونه های با سطح تلقیح cfu/g 10^9 ، با افزایش دمای نگهداری، میزان اسید استیک به طور معنی داری افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). در کلیه نمونه های پنیر، طی زمان نگهداری، میزان اسید استیک به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). در روز آخر انبارداری، بیشترین و کمترین میزان اتانول، به ترتیب مربوط به

ترکیبات فرار می باشد. با افزایش دمای نگهداری نیز شکست ترکیبات آلدئیدی افزایش پیدا کرده است. پژوهشگران به بررسی تأثیر دما و زمان نگهداری بر ترکیبات مؤثر بر آرومای پنیر UF پرداخته و نشان دادند که با افزایش دمای نگهداری، میزان استالدئید پنیر به طور معنی داری افزایش یافت، ولی میزان دی استیل در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد. طی دوره نگهداری ۳۰ روزه، میزان استالدئید کاهش و میزان دی استیل به طور معنی داری افزایش یافت (Shahidi et al., 2014).

B و C، بیشترین میزان استوئین را داشتند. کمترین میزان استوئین در این روز مربوط به نمونه های A و E بود. در برخی از نمونه ها (C، D و G)، طی دوره نگهداری، میزان استوئین به تدریج کاهش یافت. نتایج این تحقیق نشان داد که با گذشت زمان، میزان استالدئید در کلیه نمونه های مورد بررسی در این تحقیق به طور معنی داری کاهش پیدا کرد. در روز آخر انبارمانی، بین مقادیر استالدئید نمونه های مختلف پنیر اختلاف معنی داری وجود نداشت. کاهش میزان استالدئید موجود در پنیر طی دوره نگهداری و در اثر افزایش دما، بیانگر تجزیه ترکیبات آلدئیدی به سایر



شکل ۱۰- تغییرات میانگین مقادیر اسید استیک (µg/g) طی دوره ماندگاری پنیر فرابالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.
*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

ها تولید می شود و از طرفی دی استیل می تواند از اسید آسپارتیک نیز تولید گردد. احیاء دی استیل باعث تشکیل استوئین و احیاء بیشتر استوئین باعث تشکیل ۲ و ۳ بوتان دی ال و سپس بوتانول و در نهایت بوتانول می گردد (Shahidi et al., 2014).

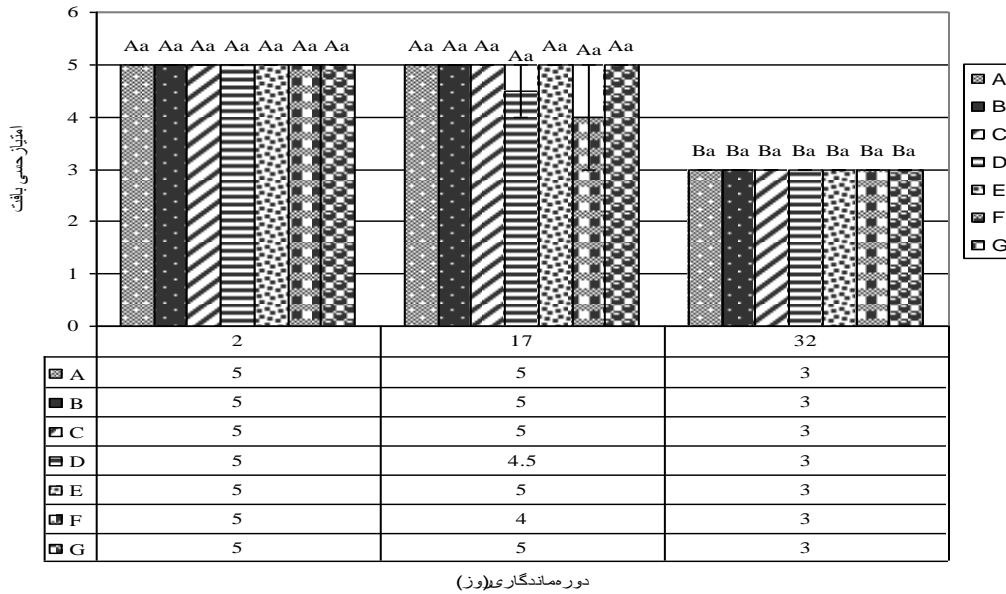
ارزیابی حسی پنیر UF

امتیاز حسی بافت نمونه های پنیر UF نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که زمان نگهداری از لحاظ آماری اثر کاملاً معنی داری بر امتیاز بافت پنیر UF داشت

آلدئیدها ترکیبات موقتی در پنیرها هستند. زیرا آن ها به سرعت به الکل های نوع اول احیاء می شوند و یا به اسیدهای متناظر خود اکسید می گردند. استالدئید به وسیله متابولیسم لاکتوز یا به وسیله اکسیداسیون اتانل و یا حتی تجزیه ترئونین تولید می شود و آلدئیدهای دارای شاخه جانبی نظیر ۲- متیل بوتانال و ۳- متیل بوتانال حاصل از متابولیسم لوسین و ایزو لوسین می باشند. حضور ردوکتازهای حاصل از میکروفلورای پنیر مسئول غلظت پایین آلدئیدها می باشد. دی استیل به عنوان نتیجه حاصل از متابولیسم لاکتوز و سیترات توسط لاکتوکوکسی

بررسی، بین امتیازات بافت کلیه نمونه های پنیر، از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود نداشت ($p > 0.05$). طی دوره نگاهداری، از روز دوم تا هفدهم، امتیاز بافت نمونه های پنیر تغییر معنی داری نکرد ($p > 0.05$). ولی از روز هفدهم تا سی و دوم، این امتیاز به طور کاملاً معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$).

ولی اثر تیمار مورد استفاده و اثر متقابل تیمار در زمان، از لحاظ آماری معنی دار نبود ($p > 0.05$). تغییرات میانگین امتیازات حسی بافت نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگاهداری ۳۲ روزه، در شکل ۱۱ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل مشاهده می شود، در همه روزهای مورد



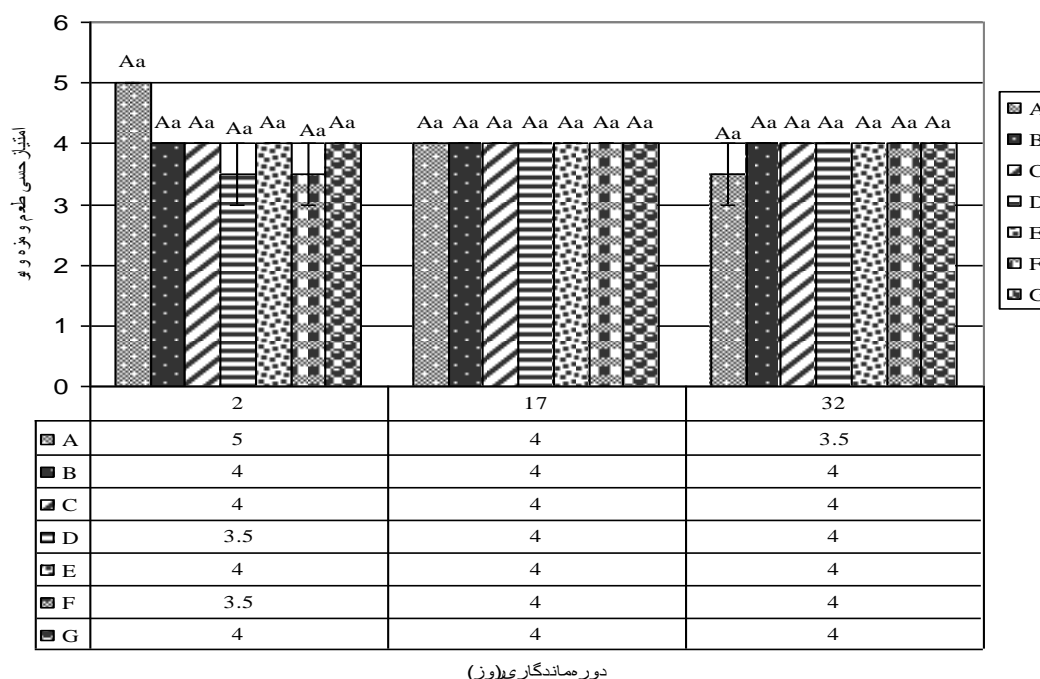
شکل ۱۱- تغییرات میانگین امتیازات حسی بافت طی دوره ماندگاری پنیر فراپالایش پروبیوتیک

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.
*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

نتایج ارزیابی حسی نشان داد که در همه روزهای مورد بررسی، بین امتیازات طعم، مزه، بو و بافت کلیه نمونه های پنیر پروبیوتیک، از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود نداشت. طی دوره نگاهداری، از روز دوم تا هفدهم، امتیاز بافت نمونه های پنیر تغییر معنی داری نکرد، ولی از روز هفدهم تا سی و دوم، این امتیاز به طور معنی داری کاهش یافت. از لحاظ طعم، مزه و بو، با گذشت زمان، امتیاز نمونه شاهد به تدریج کاهش یافت، ولی امتیاز سایر تیمارها طی دوره نگاهداری تغییری نکرد. در طی زمان نگاهداری، پنیر دو دوره رسیدن اولیه (لیپولیز، پروتئولیز، متابولیسم لاکتوز باقیمانده و لاکتات و سیترات) و رسیدن ثانویه (متابولیسم اسیدهای چرب آزاد و اسیدهای آمینه آزاد) را طی می کند. اسیدهای چرب آزاد و اسیدهای آمینه آزاد ترکیباتی بسیار مهم برای طعم پنیر هستند، که غلظت این ترکیبات دائماً در طی دوره رسیدن پنیر فزا افزایش می یابد (Mc Sweeny, 2004).

امتیاز حسی طعم، مزه و بوی نمونه های پنیر UF نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که تیمار و زمان نگاهداری از لحاظ آماری اثر معنی داری بر امتیاز طعم، مزه و بوی پنیر UF نداشتند ($p > 0.05$)، ولی اثر متقابل تیمار در زمان، از لحاظ آماری معنی دار بود ($p < 0.05$). تغییرات میانگین امتیازات حسی طعم، مزه و بوی نمونه های مختلف پنیر پروبیوتیک UF طی دوره نگاهداری ۳۲ روزه، در شکل ۱۲ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل مشاهده می شود، در روز دوم، بیشترین امتیاز حسی طی دوره ماندگاری طعم، مزه و بو مربوط به نمونه شاهد بود و بین سایر نمونه ها اختلافی وجود نداشت. در سایر روزهای انبارمانی، بین امتیازات طعم، مزه و بوی کلیه نمونه های پنیر، از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود نداشت ($p > 0.05$). طی دوره نگاهداری، امتیاز طعم، مزه و بوی نمونه شاهد به تدریج کاهش یافت، ولی امتیاز سایر تیمارها طی دوره نگاهداری تغییری نکرد ($p > 0.05$).



شکل ۱۲- تغییرات میانگین امتیازات حسی طعم، مزه و بوی پنیر فرآپالایش پروبیوتیک طی دوره ماندگاری

A: نمونه شاهد؛ B: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ C: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ D: پنیر حاوی 10^8 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه؛ E: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۴ درجه؛ F: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۱۰ درجه؛ G: پنیر حاوی 10^9 cfu/ml پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

*حروف بزرگ متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر تیمار طی روزهای مختلف در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

*حروف کوچک متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر تیمارهای مختلف در هر روز در سطح احتمال ۹۵ درصد می باشد.

افزایش دمای نگهداری سبب کاهش جزئی تعداد پروبیوتیک ها در پنیر گردید. طی دوره نگهداری تعداد باکتری پروبیوتیک در همه نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت، ولی تعداد آن تا آخرین روز انبارمانی، در حد قابل قبول توصیه شده برای اثرات سلامتی بخش پروبیوتیک ها (10^6-10^7) بود. افزایش دمای نگهداری، میزان pH کاهش و میزان اسیدیته افزایش یافت. محتوای پروتئین نمونه های پنیر پروبیوتیک طی دوره نگهداری نوسان داشت، ولی میزان ماده خشک افزایش یافت. با افزایش دمای نگهداری، میزان استالئید، دی استیل و استوئین کاهش یافت، ولی میزان اسید استیک در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد. از لحاظ ارزیابی حسی، در همه روزهای مورد بررسی، بین امتیازات طعم، مزه، بو و بافت نمونه های پنیر پروبیوتیک، از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود نداشت. با گذشت زمان، امتیاز نمونه شاهد به تدریج کاهش یافت، ولی امتیاز سایر تیمارها طی دوره نگهداری تغییری نکرد. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق می توان سطح تلقیح پروبیوتیک 10^9 cfu/g و دمای نگهداری ۲۵ درجه سلسیوس (تیمار G) را به عنوان بهترین شرایط برای تولید پنیر فرآپالایش پروبیوتیک انتخاب نمود.

(2008) Grattepanche *et al.* بیان کردند که مقادیر بالای باکتری های پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم در پنیر به علت تولید ترکیبات نامطلوب دارای اثرات منفی روی خصوصیات حسی این فرآورده بودند. محققان در بررسی خواص حسی پنیر سفید ایرانی پروبیوتیک بیان کردند که پنیر حاوی گونه های لاکتوباسیلوس در مقایسه با تیمار شاهد و پنیر پروبیوتیک دارای گونه های بیفیدوباکتریوم، قابلیت پذیرش حسی بیشتری داشتند (Ehsani *et al.*, 2011). Mahmoud *et al.* (2013) در بررسی اثر باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بر پنیر کاریش بیان کردند که افزودن پروبیوتیک ها به این پنیر اثر معنی داری بر طعم، بافت، ظاهر و پذیرش کلی نداشت. در طی زمان نگهداری، امتیاز پذیرش کلی نمونه شاهد و نمونه های حاوی سویه های پروبیوتیک کاهش یافت.

نتیجه گیری کلی

نتایج بررسی زنده مانی باکتری پروبیوتیک نشان داد که با افزایش سطح تلقیح، لگاریتم تعداد باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش یافت.

REFERENCES

- Anonymous (1965). Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Determination of total nitrogen of milk (Kjeldahl-1) method, ISIRI Number 639. (In Farsi)
- Anonymous (1987). Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Milk and Milk products-determination of Acidity, pH and test methods, ISIRI Number 2852. (In Farsi)
- Anonymous (2014). Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Milk and Milk products-Fresh cheese - specifications and test methods, ISIRI Number 6629. (In Farsi)
- Anonymous. (2001). Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina.
- Bergamini, C.V., Hynes, E.R., Quiberoni, A., Suarez, V.B. & Salazar, C.A. (2005). Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. *Food Research International*, 38(5), 597-604.
- Bergamini, C.V., Hynes, E. & Zalazar, C.A. (2006). Influence of probiotic bacteria in the proteolysis profile of a semi-hard cheese. *Journal of Dairy Science*, 16, 856-866.
- Boylston, T.D., Vinderola, C.G., Ghoddusi, H.B. & Reinheimer, J.A. (2004). Incorporation of *bifidobacterium* into cheeses: challenges and rewards. *International Dairy Journal*, 14, 375-387.
- Bylund, G. (1995). *Dairy Processing Handbook*. Lund: Tetra Pak Processing Systems AB.
- Condurso, C., Verzera, A., Romeo, V., Ziino, M. & Conte, F. (2008). Solidphase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product volatiles for the determination of shelf life. *International Dairy Journal*, 18, 819-825.
- Ehsani, A., Mahmoodi, R., Tokmechi, A. & Pajoohi, M. R. (2011). White brine cheese as a vehicle probiotic dairy product. *Journal of Food Science and Technology*, 8(31), 77-83. (In Farsi).
- Rezaee, R. (2010). The study of the effect of Inulin and some Gums on Physicochemical, Sensory and Viability of probiotic in frozen yogurt. M. Sc dissertation, University of Gorgan. (In Farsi)
- Ghaemi, H., Hesari, J. & Pourahmad, R. (2010). The production of symbiotic UF white cheese using probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* and inulin. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2(4), 19-32. (In Farsi)
- Grattepanche, F., Miescher-Schwenninger, S., Meile, L. & Lacroix, C. (2008). Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 421-444.
- Jia, H.X., Su M.Y. & Gong G.Y. (2015). Influence of *Lactobacillus casei* LC2W on the proteolysis and aroma compounds of cheddar cheese during ripening period. *CYTA – Journal of Food*, 13(3), 464-471.
- Karimi, R., Mortazavian, A.M. & Cruz, A.G. (2011). Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. *Dairy Science and Technology*, 91, 283-308.
- Kasimoglu A., Goncuoglu, M. & Akgun, S. (2004). Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. *International Dairy Journal*, 14, 1067-1073.
- Lourens-Hattingh, A. & Viljoen, B.C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11, 1-17.
- Mahmoud, S.F., El-Halmouch, Y. & Montaser, M.M. (2013). Effect of probiotic bacteria on karish Cheese production. *Life Science Journal*, 10(2), 1279-1284.
- McSweeney, P.L.H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57 (2/3), 127-140.
- Mes da Cruz, A., Buriti, F.C.A., Batista de Souza, C.H., Fonseca Faria, J.A. & Isay Saad, S.M. (2009). Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. *Food Science and Technology*, 20, 344-354.
- Ong, L. and Shah, N.P. (2009). Probiotic Cheddar cheese: Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganisms, cheese composition and organic acid profiles. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1260-1268.
- Perveen, K., Alabdulkarim, B. & Arzoo, S. (2011). Effect of temperature on shelf life, chemical and microbial properties of cream cheese. *African Journal of Biotechnology*, 10(74), 16929-16936.
- Rasic, J. L., & Kurmann, J. A. (1983). Bifidobacteria and their role. Microbiological, nutritional-physiological, medical and technological aspects and bibliography (Vol. 39).
- Rezaei, R. (2010). The study of effect of Inulin and some gums on physicochemical, sensory properties and viability of probiotics in frozen yogurt. M. Sc Dissertation, University of Gorgan, Iran. (In Farsi)
- Sabbagh, N., Gheisari, H.R. & Aminlari, M. (2010). Monitoring the chemical and microbiological changes during ripening of iranian probiotic low-fat white cheese. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 5 (4), 249-257.
- Saxelin, M., Korpela, R. & Mayra- Makinen, A. (2003). Introduction: classifying functional dairy products. In T. Mattila- Sandholm, & M. Saarela (Eds.), *Functional dairy products*. Boca Raton, LA, USA: CRC Press. pp. 1-16.
- Shah, N.P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83(4), 894-907.
- Shahab Lavasani, A. R., Ehsani, M. R., Mirdamadi, S. & Mousavi M. A. (2012). Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese lighvan during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1),

64-70.

Shahidi, B., Shahab Lavasani, A. R., Golmakani, M. T., Zare, A., Kalantari, M. & Sharifi, A. (2014). The using of gas chromatography-mass spectrometry for determination of diacetyl and acetaldehyde of uf cheese In: Proceedings of The First National Congress on Snack Foods, Food Science and Technology Research Institute, Jahad Daneshgahi of Mashhad, Iran, pp. 9. (In Farsi)

Solhi, P., Sadeghi Mahoonak, A. R., Hesari, J., Ghorbani, M. & Alami, M. (2014). The effect of microbial lipase and protease enzyme in acceleration of development of flavor and aroma of Iranian UF Feta cheese. *Journal of Food*

Research, 24(2), 201-213. (In Farsi)

Sreekumar, O. & Mosono, A. (2000). Immediate effect of *lactobacillus* on the intestinal flora and fecal enzyme of rats and in vitro inhibition of *E. coli* in culture. *Journal of Dairy Science*, 93, 931-939.

Talwalkar, A., Miller, C. W., Kailasapathy, K. & Nguyen, M. H. (2004). Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(6), 605-611.

Wysong, R.L. (2001). Beneficial lactobacilli in food and feed. *Journal of Food Protection*, 4, 487-451.