

## ماندگاری باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و تأثیر آن بر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی در پنیر سنتی کوزه

تورج مهدی زاده<sup>1</sup>، حسن شیخکانلوی میلان<sup>2</sup>، علی مجدر لنگرودی<sup>3</sup>

1- نویسنده مسئول: استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران. پست الکترونیکی: Tooraj.mehdizadeh@yahoo.com  
2- دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، ایران  
3- دانش آموخته دکتری تخصصی گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: 97/4/11

تاریخ دریافت: 96/12/15

### چکیده

**سابقه و هدف:** پنیر کوزه یکی از شناخته شده‌ترین انواع پنیر سنتی ایران است. خانواده بیفیدوباکتریها به علت خصوصیات پروبیوتیکی در سال‌های اخیر در زمینه بهبود سلامتی در محصولات غذایی فراسودمند مورد توجه قرار گرفته‌اند. زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در مواد غذایی در طول نگهداری و زمان مصرف در مواد غذایی به عنوان یک چالش در بهداشت و فناوری مواد غذایی تبدیل شده است. بنابراین ماندگاری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و تأثیر آن بر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی در پنیر سنتی کوزه در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (ATCC 29521) در پنیر سنتی کوزه تهیه شده از شیر پاستوریزه و غیر پاستوریزه مورد بررسی قرار گرفت. این باکتری طی روزهای یک، 15، 30، 45، 60، 75 و 90 طی نگهداری شمارش گردید. همچنین نمونه‌های پنیر از جهت ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی در مراحل مختلف رسیدن مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در شیرهای پاستوریزه و غیر پاستوریزه به ترتیب به میزان دو و یک لگاریتم باکتریایی افزایش یافت. اضافه کردن پروبیوتیک باعث تغییر خصوصیات شیمیایی شده، pH و رطوبت در پنیرهای تولید شده از شیرهای پاستوریزه نسبت به سایر تیمارها کمتر بود. در روزهای انتهایی رسیدن پنیر، میزان نمک در نمونه‌های پنیر تولید شده با شیر غیر پاستوریزه و دارای پروبیوتیک به شکل معنی‌داری متفاوت بود ( $p < 0/05$ ). ارزیابی حسی نشان داد که نمونه‌های تولید شده به وسیله شیر پاستوریزه به همراه پروبیوتیک دارای بالاترین امتیاز حسی برای همه ویژگی‌ها بودند. همچنین کاهش شمارش باکتری‌های هوازی و کپک-مخمر در طی زمان رسیدن پنیر مشاهده گردید.

**نتیجه‌گیری:** بیفیدوباکتریوم بیفیدوم می‌تواند در پنیر کوزه بدون اثرات نامناسب روی کیفیت حسی و شیمیایی پنیر به طور موفقیت آمیزی استفاده گردید.

**واژگان کلیدی:** پنیر کوزه، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، ارزیابی حسی، خواص شیمیایی

### • مقدمه

های استفاده از اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها نیز به محصولات لبنی تخمیری اضافه می‌شوند (6). جمعیت پروبیوتیک‌ها در شرایط مطلوب در فرآورده نهایی باید بین  $10^6$ - $10^7$  CFU/g باشد (7) از جمله سوبه‌های باکتریایی که به‌عنوان پروبیوتیک دارای اثرات سودمند در فرآورده‌های تخمیری مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌توان به بیفیدوباکتریوم اشاره کرد (8-9). بیفیدوباکتریوم یکی از متداولترین جنس‌های پروبیوتیکی شناخته شده است که امروزه تلاش‌های زیادی برای جداسازی

مواد غذایی پروبیوتیک به عنوان جدیدترین و محبوب‌ترین غذاهای فراسودمند هستند (1) که از اهمیت خاصی در زمینه صنعت مواد غذایی برخوردارند. وجه تمایز فرآورده‌های دارای پروبیوتیک با سایر مواد غذایی در استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید می‌باشد (2، 3). پروبیوتیک را می‌توان به‌عنوان میکروارگانیسم‌هایی ضروری برای سلامت انسان یا حیوان از طریق کمک به حفظ و ایجاد تعادل در فلور میکروبی روده (4)، کاهش کلسترول، بهبود تحمل نسبت به لاکتوز و جلوگیری از برخی سرطان‌ها در نظر داشت (5). یکی از راه-

تغییرات حسی، شیمیایی و میکروبی پنیر در این شرایط انجام پذیرفت.

### • مواد و روش‌ها

**شیر مورد استفاده جهت پنیر سازی:** شیر گوسفند از دامپروری‌های شهرستان‌های ماکو و پلدشت تهیه و ترکیب شیمیایی شیر خام بطور میانگین شامل: آب 80/7، مواد جامد 19/3، چربی کل 7/4، پروتئین کازئین 4/6، لاکتوز 9/0 و خاکستر 1 درصد بود.

**تهیه باکتری‌های پروبیوتیک و استارتر پنیر:** مایه لیوفیلیزه حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (*Bifidobacterium bifidum*) بصورت کشت آغازگر از شرکت CH Hansen دانمارک خریداری گردید.

**تهیه پنیر کوزه:** برای این منظور از روش سنتی تهیه پنیر کوزه استفاده شد. بر این اساس پس از عبور شیر از صافی پارچه‌ای، در حمام آب گرم در دمای 65 درجه بمدت 30 دقیقه، پاستوریزه و برای تشکیل بهتر دلمه به ازای یک کیلوگرم شیر به میزان 15 گرم کلرید کلسیم اضافه گردید. در مرحله بعد باکتری پروبیوتیک اضافه گردید که برای این منظور  $10^8 - 10^9$  CFU/ml از باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم افزوده شد و بعد مایه قارچی رنت در دمای 34 - 33 درجه سلسیوس به آن اضافه شد. سپس 60 - 45 دقیقه به شیر فرصت داده شد تا دلمه به طور کامل تشکیل شود. با قرار دادن و آویزان کردن در توری مخصوص آب پنیر خارج گردید. سپس دلمه جدا شده و به شکل قرص فرم دهی شده به مدت یک روز در دمای اطاق نگهداری شد و بعد دلمه‌ها رنده گردید. در مرحله بعد 5 درصد نمک پاشیده شد و در کوزه‌های سفالی با فشار پر گردید. سپس در کوزه با پارچه و گل پوشانده شده و در سایه و عمق یک متری با دمای حدود 7 - 3 درجه سلسیوس قرار داده شد و بمدت 3 ماه تا زمان رسیدن نگه‌داری شد و سپس در طول 3 ماه نگهداری در فواصل روزهای 1 و 15 و 30 و 45 و 60 و 90 عمل نمونه‌گیری و آنالیزهای مورد نظر نمونه‌ها صورت پذیرفت. تیمارهای مطالعه حاضر شامل، نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک (A) نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر غیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک (B)، پنیر کوزه تهیه شده به روش سنتی بدون باکتری پروبیوتیک (C) می‌باشند.

**اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی پنیر های تولید شده:** به همراه نمونه‌برداری برای شمارش میکروبی، آزمایشات فیزیکی شیمیایی نمونه‌های پنیر شامل میزان نمک، پروتئین، درصد چربی، اندازه‌گیری pH و ماده خشک کل انجام شد. رطوبت پنیر به روش خشک کردن در آون معمولی، pH توسط دستگاه

این باکتری از منابع مختلف جهت استفاده در محصولات غذایی در حال انجام است (11، 10).

طی سه دهه گذشته توجه بسیار زیادی به تولید فرآورده‌های تخمیری حاوی باکتری‌های پروبیوتیک شده است (12). یکی از محصولات تخمیری که در انتقال پروبیوتیک‌ها نقش بسیاری دارد، پنیر می‌باشد. پنیر یک فرآورده لبنی است که بواسطه داشتن ویژگی‌های خاص شیمیایی و فیزیکی در مقایسه با شیرهای تخمیری (میزان بالاتر pH و اسیدیته پایین‌تر، ظرفیت بالای بافنی، محتوای بالاتر چربی در دسترس بودن مواد مغذی، محتوای پایین‌تر اکسیژن و بافت متراکم تر پنیر) دارای ظرفیت بالقوه برای انتقال میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به روده انسان می‌باشد (14، 13).

در بین پنیرهای سنتی حاصل از شیر خام ایرانی، پنیر کوزه بی شک یکی از مهم ترین و معروف‌ترین پنیرهای سنتی تولید شده در استان آذربایجان و مناطق غرب کشور می‌باشد که منحصرأ از شیر خام گوسفند، بز یا مخلوط هر دو نوع شیر، بدون افزودن هر نوع آغازگر، تولید می‌شود. پنیر کوزه در کشورهای مختلف از جمله یونان، ترکیه و ایران تولید شده و مورد اقبال عمومی قرار گرفته است (15). سویه‌های بومی لاکتیکی موجود در شیر از عوامل مهم در ایجاد عطر و طعم خاص این نوع پنیرهاست (16). پنیر کوزه پنیر سخت و تا حدودی اسیدی و شور مزه است که حالت گرانولی داشته و ظاهری خشک دارد. این فرآورده به علت حفظ مواد مغذی موجود در دلمه دارای ارزش غذایی بالاتری نسبت به سایر انواع محصولات تخمیری می‌باشد (17). یادآوری می‌شود که امروزه در برخی مناطق برای تهیه این نوع پنیر از دبه‌های پلاستیکی یا حلب‌های فلزی، به جای کوزه سفالی استفاده می‌شود (18). تاکنون در ایران مطالعاتی، همچون مطالعه حسامی (1384) مرتبط با ویژگی‌های شیمیایی پنیر کوزه انجام شده است (19). در زمینه بررسی ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک هم چون لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در فرآورده‌های لبنی می‌توان به مطالعه زمردی و همکاران در سال 2010 بر پنیر فرآپالایش ایرانی (20)، فرج‌نیا و همکاران در سال 2009 در پنیر سنتی لیقوان (21)، Buriti و همکاران در سال 2009 بر پنیر میناز (22) و Amine و همکاران در سال 2014 در پنیر چدار اشاره کرد (23). با توجه به اطلاعات نویسندگان تاکنون مطالعه‌ای در مورد ماندگاری باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در پنیر سنتی کوزه و اثر آن بر ویژگی‌های حسی و شیمیایی آن انجام نشده است، لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی زنده مانی باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم در کنار فلور طبیعی پنیر کوزه و تحت شرایط تهیه و نگهداری آن، و همچنین بررسی

لازم به یادآوری است که تمامی آزمون‌های مورد نظر با سه تکرار انجام شدند.

### • یافته‌ها

**نتایج تغییرات فیزیکوشیمیایی پنیر سنتی کوزه در طی زمان رسیدن:** نتایج تغییرات فیزیکوشیمیایی پنیر سنتی کوزه در طی زمان رسیدن پنیرهای تولید شده در جدول 1 آورده شده است. بر طبق نتایج در این آزمایش از نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی در محدوده استاندارد ایران برای تولید پنیر بودند ( $pH = 6/7 - 7/3$ ) (19) که به میزان  $4/8 - 5/8$  در روز 90 در تیمارهای مختلف رسید. غلظت نمک در پنیرهای تولیدی به طور متوسط  $3/4$  درصد در نظر گرفته شد که با غلظت استاندارد ایران مطابقت دارد. نوع شیر و همچنین حضور یا عدم حضور باکتری‌های پروبیوتیک در تیمارهای مختلف تأثیر معنی‌داری در میزان pH طی زمان نگهداری نشان ندادند ( $p \leq 0/05$ ). غلظت چربی در همه‌ی تیمارها در طول زمان نگهداری کاهش پیدا کرد که این کاهش در تیمارهای مختلف به شکل معنی‌داری نبوده و از جهت کاهش غلظت چربی در روزهای مختلف از روز 30 به بعد نگهداری، این کاهش به شکل معنی‌داری گزارش گردید ( $p \leq 0/05$ ). غلظت نمک طی زمان نگهداری افزایش پیدا کرده که این غلظت در تیمار پنیر کوزه تهیه شده از شیر سنتی بدون باکتری پروبیوتیک در روز 90 نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بوده است ( $6/11$  درصد). غلظت پروتئین با افزایش زمان نگهداری در همه تیمارها افزایش یافت به گونه‌ای که این افزایش در تیمار پنیر کوزه تهیه شده به روش سنتی بدون باکتری پروبیوتیک نسبت به دو تیمار دیگر بیشتر گزارش گردیده است. در طول زمان نگهداری درصد رطوبت در همه تیمارها کاهش یافته که این درصد کاهش در روز پایانی برای تیمار A بیشتر از دو تیمار دیگر بوده است. در این مطالعه درصد رطوبت در طول رسیدن نمونه‌های پنیر به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. این کاهش تا روز 30 کمتر بود، اما با گذشت زمان نگهداری این کاهش به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ( $p \leq 0/05$ ). درصد رطوبت نمونه‌های پنیر پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری با نمونه کنترل نداشت و کلیه نمونه‌ها در یک سطح آماری قرار داشتند. درصد پروتئین نمونه‌های پنیر نیز همچون نمک در طول رسیدن پنیر به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد و درصد چربی بر پایه ماده خشک نیز (FDM) در طول نگهداری تغییرات معنی‌داری نداشت. غلظت pH نیز همچون رطوبت در طول زمان رسیدن پنیر به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ( $p \leq 0/05$ ). هم چنین pH گروه کنترل بیشتر از پنیرهای پروبیوتیک بود.

pH متر، میزان نمک به روش ولهارد، میزان پروتئین با استفاده از روش کلدال و درصد چربی به روش ژربر تعیین گردید (24).

### آزمایشات میکروبی پنیرهای تولید شده

**شمارش باکتری‌های پروبیوتیک و میکروارگانسیم‌ها در پنیرهای تولید شده:** زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و شمارش سایر میکروارگانسیم‌ها طی 90 روز مورد آزمایش قرار گرفت. برای انجام آزمایش‌های میکروبی، 10 گرم نمونه پنیر به 90 میلی لیتر محلول استریل سترات سدیم  $0/2$  (حجمی، وزنی) اضافه و استومکر به مدت 2 دقیقه با سرعت 200rpm هموژن گردید، تا رقت  $0/1$  به دست آید. در ادامه رقت‌های سریال از  $10^{-1}$  تا  $10^{-8}$  در محلول آب پپتونه  $0/1$  درصد تهیه گردید (25).

برای شمارش کلی باکتری‌های اسیدلاکتیک از محیط کشت MRS آگار حاوی سوربیتول و برای شمارش باکتری بیفیدوباکتریوم از محیط کشت‌های MRS-NNL آگار با  $6/8$  -  $6/2$  pH استفاده شد پس از کشت دادن، گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در شرایط بی‌هوازی در دمای 35 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت انجام گرفت. از پلیت‌هایی که 30 تا 300 کلنی داشتند برای شمارش و ادامه عملیات شناسایی استفاده گردید (26).

برای شمارش کلی از روش استاندارد پلیت کانت، شمارش انتروباکتریاسه‌ها از محیط کشت و بولت رد بایل آگار به روش پورپلیت، و برای شمارش کپک و مخمرها از محیط کشت سابرو دکستروز آگار استفاده گردید (27).

**ارزیابی حسی:** در پایان دوره نگهداری 90 روز طعم و مزه و بافت نمونه‌های پنیر توسط گروه ارزیاب حسی با استفاده از آزمایش تمایل مصرف کننده و روش هدونیک 5 نقطه‌ای تعیین شد. تعداد 10 نفر از افراد آموزش دیده که قبلاً در زمینه آزمون‌های حسی مواد غذایی تجاربی داشتند با استفاده از آزمایش درجه یا سطح کیفیت انتخاب شدند و آموزش‌های لازم را دریافت کردند تا نمونه‌ها را از لحاظ فاکتورهای کیفی که با حواس قابل درک هستند مثل طعم، مزه، رنگ، بو و بافت مورد بررسی قرار دهند. برای این منظور امتیاز 5 برای کیفیت خیلی خوب و یک برای خیلی بد اختصاص داده شد. ارزیابی کل مصرف کننده بصورت یک ارزش عددی بیان گردید (28).

**آنالیز آماری:** داده‌های حاصل از آزمون حاضر تحت نرم‌افزار MINITAB با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام پذیرفت. برای رسم منحنی‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

جدول 1. تغییرات فیزیوشیمیایی پنیر سنتی کوزه در طی زمان رسیدن

پارامتر	تیمار	زمان رسیدن (روز)						
		90	75	60	45	30	15	1
pH	A	5/7 <sup>fA</sup>	5/8 <sup>fA</sup>	6 <sup>eA</sup>	6/5 <sup>dA</sup>	6/9 <sup>cA</sup>	7/1 <sup>bA</sup>	7/3 <sup>aA</sup>
	B	5/8 <sup>cA</sup>	5/6 <sup>cA</sup>	6/3 <sup>bA</sup>	6/8 <sup>aA</sup>	6/9 <sup>aA</sup>	7 <sup>aA</sup>	7/2 <sup>aA</sup>
	C	4/8 <sup>eB</sup>	5 <sup>dB</sup>	5/3 <sup>dB</sup>	5/7 <sup>cB</sup>	6 <sup>bB</sup>	6/1 <sup>bB</sup>	6/8 <sup>aA</sup>
چربی	A	24/3 <sup>bA</sup>	26/8 <sup>bA</sup>	28/5 <sup>aA</sup>	29/3 <sup>aA</sup>	31/1 <sup>aA</sup>	31/8 <sup>aA</sup>	34 <sup>aA</sup>
	B	23/29 <sup>bA</sup>	24/2 <sup>bA</sup>	24/8 <sup>bA</sup>	25/77 <sup>bA</sup>	27/2 <sup>aA</sup>	29/9 <sup>aA</sup>	31/2 <sup>aB</sup>
	C	23/17 <sup>bA</sup>	24/2 <sup>bA</sup>	26/55 <sup>aA</sup>	27/1 <sup>aA</sup>	28/15 <sup>aA</sup>	29/8 <sup>aA</sup>	31/17 <sup>aB</sup>
پروتئین	A	29/33 <sup>aA</sup>	29/3 <sup>aA</sup>	29/2 <sup>aA</sup>	28/8 <sup>aA</sup>	27/77 <sup>aA</sup>	24/5 <sup>bA</sup>	22/2 <sup>bA</sup>
	B	29/2 <sup>aA</sup>	28 <sup>aA</sup>	28/22 <sup>aA</sup>	26/88 <sup>aA</sup>	25/6 <sup>aA</sup>	23/28 <sup>bA</sup>	21/7 <sup>bA</sup>
	C	28 <sup>aA</sup>	27/33 <sup>aA</sup>	26/13 <sup>aA</sup>	25/54 <sup>aA</sup>	24/27 <sup>aA</sup>	21/6 <sup>bB</sup>	19/89 <sup>bB</sup>
رطوبت	A	31/3 <sup>dB</sup>	32/4 <sup>dC</sup>	34/2 <sup>cC</sup>	36/17 <sup>cC</sup>	39/3 <sup>bB</sup>	44/3 <sup>aA</sup>	44/5 <sup>aB</sup>
	B	32/23 <sup>cB</sup>	35/1 <sup>cB</sup>	37/8 <sup>bB</sup>	32/6 <sup>cB</sup>	42 <sup>bB</sup>	43/7 <sup>bA</sup>	45 <sup>aB</sup>
	C	35/17 <sup>dA</sup>	39/6 <sup>cA</sup>	40/88 <sup>cA</sup>	44/4 <sup>bA</sup>	44/88 <sup>bA</sup>	45/37 <sup>bA</sup>	48 <sup>aA</sup>
نمک	A	6/1 <sup>aA</sup>	5/8 <sup>aA</sup>	5/35 <sup>bA</sup>	5/22 <sup>bA</sup>	4/8 <sup>cA</sup>	4/2 <sup>dA</sup>	3/7 <sup>eA</sup>
	B	5/4 <sup>aB</sup>	5/32 <sup>aA</sup>	4/88 <sup>bB</sup>	4/6 <sup>bB</sup>	4/4 <sup>bB</sup>	3/8 <sup>cA</sup>	3/3 <sup>dB</sup>
	C	6/11 <sup>aA</sup>	5/88 <sup>bA</sup>	5/23 <sup>cA</sup>	4/8 <sup>dB</sup>	4/2 <sup>eB</sup>	3/55 <sup>fB</sup>	3 <sup>gB</sup>

در هر ردیف حروف کوچک و در هر ستون حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0/05$  می باشد.

(نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک (A) نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر غیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک (B)، پنیر کوزه تهیه شده به روش سنتی بدون باکتری پروبیوتیک (C)

تیمار C نسبت به سایر تیمارها بیشتر است ( $p \leq 0/05$ ). شمارش خانوادگی انتروباکتریاسه در تمام طول زمان نگه‌داری تا روز 75 به شکل افزایشی و سپس کاهش یافته بوده و شمارش ابتدایی آن در تیمار C نسبت به سایر تیمارها بیشتر بوده است. در تمامی تیمارها بیشترین افزایش در تعداد کپک-مخمر در حد فاصل روزهای 15 به 30 رخ داده است. بیشترین میزان اختلاف در این بین مربوط به تیمار A و B به میزان 2 لگاریتم است. این اختلاف برای تیمار C به میزان 0/79 لگاریتم میکروبی می‌باشد. همچنین بالاترین شمارش نهایی انتروباکتریاسه در روز 90 مربوط به تیمار C بوده و اختلاف آن با شمارش سایر تیمارها در روز پایانی 1/7 و 0/9 به ترتیب در تیمار A و B می‌باشد. بالاترین میزان باکتری‌های اسید لاکتیک در روز نخست مربوط به تیمار A بوده و اختلاف آن با تعداد این گروه از باکتری‌ها به ترتیب در تیمار B و C 0/15 و 0/38 لگاریتم باکتریایی می‌باشد. همچنین بالاترین تعداد این گروه از باکتری‌ها در روز پایانی نیز مربوط به همین تیمار بوده و اختلاف آن با تیمار B و C به ترتیب 1/05 و 0/54 لگاریتم باکتریایی می‌باشد که نشان دهنده بیشترین تاثیر تیمار B نسبت به سایر تیمارها در مورد باکتری‌های اسید لاکتیک است.

**نتایج آزمایشات میکروبی پنیرهای تولید شده:** تفاوت در شمارش باکتری‌های مورد آزمایش در نمونه‌هایی که تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار گرفته‌اند طی روزهای نگه‌داری در جدول 2 نمایش داده شده است. در تمامی تیمارها شمارش کلی مزوفیل‌های هوازی و کپک-مخمر با گذشت زمان کاهش یافت در حالی که شمارش خانواده انتروباکتریاسه و باکتری‌های اسیدلاکتیک طی روزهای نگه‌داری تا روز 75 افزایش و بعد از آن کاهش پیدا کرد (غیر از تیمار باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمار A و انتروباکتریاسه در تیمار C). بالاترین شمارش کلی مزوفیل‌های هوازی در روز پایانی آزمون در مورد تیمار A بوده و در مورد دو تیمار دیگر این میزان در عدد 6/07 باهم برابر گزارش گردید که این شرایط از تاثیر بیشتر تیمارهای B و C نسبت به تیمار A در مورد مزوفیل‌های هوازی حکایت دارد. کاهش تعداد مزوفیل‌های هوازی طی روزهای ابتدایی به میزان بالاتری بوده و این کاهش با نزدیک شدن به روزهای انتهایی آزمون با شیب ملایم‌تری صورت گرفته است. کمترین میزان شمارش کپک-مخمر در روز پایانی آزمون در تیمار B نسبت به سایر تیمارها گزارش گردید. شمارش ابتدایی شمارش کپک-مخمر در هر سه تیمار به شکل معنی‌داری دارای اختلاف بوده و این تعداد در مورد

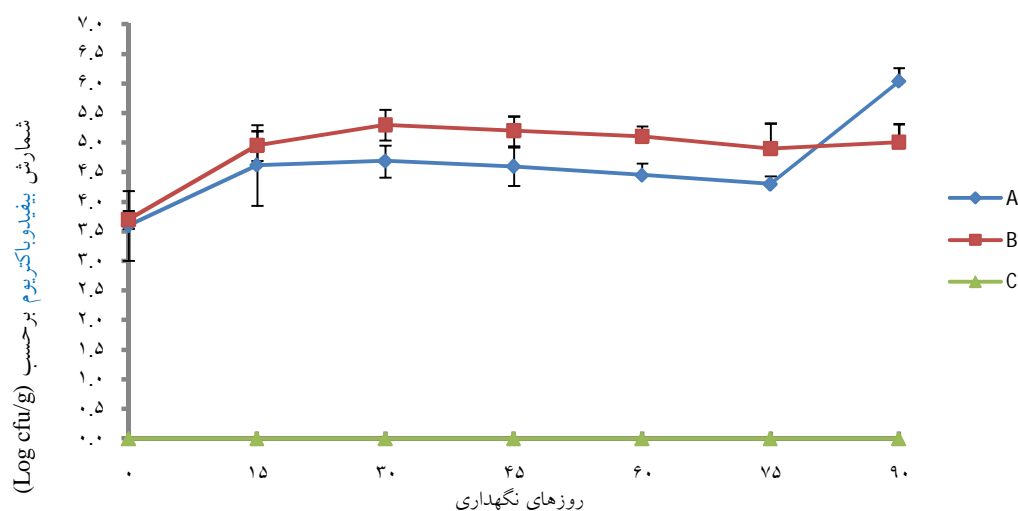
جدول 2. نتایج آزمایشات میکروبی پنیر سنتی کوزه

گروه‌های میکروبی مورد شمارش بر حسب (Log CfU/g)				زمان رسیدن (روز)	نمونه پنیر
بakterی‌های اسید لاکتیک	انتروباکتریاسه	کپک و مخمر	شمارش کلی مزوفیل‌های هوازی		
5/19 <sup>ba</sup>	3/7 <sup>cb</sup>	7/3 <sup>bb</sup>	8/1 <sup>bb</sup>	1	A
5/34 <sup>ba</sup>	3/3 <sup>cb</sup>	8/04 <sup>aa</sup>	9/5 <sup>aa</sup>	15	
5/24 <sup>ba</sup>	5/3 <sup>ba</sup>	6/47 <sup>cb</sup>	8/77 <sup>ba</sup>	30	
5/37 <sup>ba</sup>	6/5 <sup>aa</sup>	6/25 <sup>cb</sup>	8/26 <sup>ba</sup>	45	
5/57 <sup>ba</sup>	6/9 <sup>ab</sup>	6/17 <sup>cb</sup>	8/14 <sup>ba</sup>	60	
5/9 <sup>aa</sup>	7 <sup>ac</sup>	5/87 <sup>db</sup>	7/6 <sup>ca</sup>	75	
6/44 <sup>aa</sup>	5/69 <sup>bb</sup>	7/17 <sup>ba</sup>	7/04 <sup>ca</sup>	90	
5/04 <sup>aa</sup>	3/47 <sup>cb</sup>	6/07 <sup>bc</sup>	7/47 <sup>ac</sup>	1	B
5/25 <sup>aa</sup>	3/6 <sup>cb</sup>	8/36 <sup>aa</sup>	8/47 <sup>ab</sup>	15	
5/6 <sup>aa</sup>	5/6 <sup>ba</sup>	6/69 <sup>bb</sup>	8/07 <sup>aa</sup>	30	
5/3 <sup>aa</sup>	6/98 <sup>aa</sup>	6/51 <sup>bb</sup>	7/91 <sup>ab</sup>	45	
5/7 <sup>aa</sup>	7/32 <sup>aa</sup>	6/47 <sup>bb</sup>	7/77 <sup>ab</sup>	60	
5/6 <sup>aa</sup>	7/5 <sup>ab</sup>	6/07 <sup>ba</sup>	7/27 <sup>ab</sup>	75	
5/39 <sup>bb</sup>	7/3 <sup>aa</sup>	5/9 <sup>bb</sup>	6/07 <sup>cb</sup>	90	
4/81 <sup>bb</sup>	5/07 <sup>da</sup>	8/47 <sup>aa</sup>	9/28 <sup>aa</sup>	1	C
5/77 <sup>aa</sup>	4/47 <sup>ea</sup>	8/25 <sup>aa</sup>	7/3 <sup>bc</sup>	15	
5/9 <sup>aa</sup>	5/26 <sup>da</sup>	7/47 <sup>ba</sup>	7/2 <sup>bb</sup>	30	
5/45 <sup>aa</sup>	6/05 <sup>ca</sup>	7/49 <sup>ba</sup>	7/12 <sup>bb</sup>	45	
5/27 <sup>aa</sup>	7/27 <sup>ba</sup>	7/61 <sup>ba</sup>	7/04 <sup>ba</sup>	60	
4/95 <sup>bb</sup>	8 <sup>aa</sup>	6/69 <sup>ca</sup>	7 <sup>ba</sup>	75	
4/3 <sup>cc</sup>	7/39 <sup>ba</sup>	6/3 <sup>cb</sup>	6/07 <sup>cb</sup>	90	

در هر ستون حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0/05$  برای هر تیمار در روزهای مختلف می باشد. حروف بزرگ غیر مشابه نیز نشان دهنده اختلاف معنی دار بین سه تیمار مختلف پنیر در روزهای یکسان در سطح  $p < 0/05$  می باشد. (نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک (A) نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر غیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک (B)، پنیر کوزه تهیه شده به روش سنتی بدون باکتری پروبیوتیک (C))

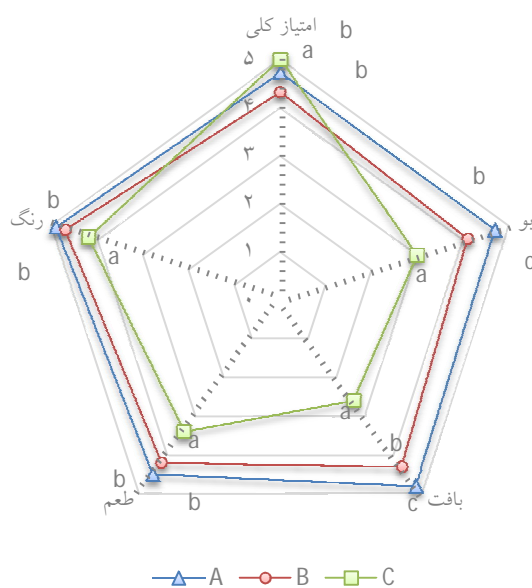
نتایج آزمون حسی تیمارهای مختلف پنیر کوزه در پایان زمان رسیدن در نمودار 2 گزارش گردیده است. با توجه به نتایج آزمون حسی در مجموع پایین‌ترین نمره به پنیر کوزه تهیه شده به روش سنتی بدون باکتری پروبیوتیک و بالاترین نمرات فاکتورهای حسی به نمونه تهیه شده از شیر پاستوریزه با باکتری پروبیوتیک تعلق گرفت. به طور کلی نمونه A در همه فاکتورها با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بوده است. در دو فاکتور بافت و بو، هر سه تیمار دارای اختلاف معنی‌دار بوده و حضور و عدم حضور باکتری پروبیوتیک و همچنین نوع شیر پاستوریزه یا غیر پاستوریزه تأثیر گذار است. در فاکتور رنگ، طعم و امتیاز کلی تیمار B و C دارای اختلاف معنی‌داری نبودند. در مطالعه حاضر ماندگاری باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و تأثیر آن بر ویژگی‌های حسی و شیمیایی در پنیر سنتی کوزه مورد بررسی قرار گرفت.

روند تغییرات شمارش باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در پنیر سنتی کوزه در طی رسیدن در نمودار 1 نشان داده شده است. با توجه به نتایج حاصل، در ابتدای دوره نگهداری تقریباً تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های پنیر افزایش پیدا کرده و سپس تا روز 75 کاهش نشان داد. شمارش باکتری‌های پروبیوتیک در تیمار پنیر کوزه حاصل از شیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک نسبت به نمونه‌ی حاصل از شیر غیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک در روز پایانی بیشتر گزارش گردیده است. در مورد تیمار پنیر کوزه حاصل از شیر پاستوریزه حاوی باکتری پروبیوتیک از روز 15 تا 75 روند کاهش در تعداد باکتری‌ها مشاهده گردیده که این روند از روز 75 تا 90 به شکل افزایشی بوده است. در طول زمان نگهداری به مدت 90 روز تعداد باکتری‌ها بیفیدوباکتریوم در نمونه پنیر افزایش یافت.



شکل 1. روند تغییرات شمارش باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در پنیر سنتی کوزه در طی زمان نگهداری

نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر پاستوریزه حاوی پروبیوتیک (A) نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر غیر پاستوریزه حاوی پروبیوتیک (B)، پنیر کوزه تهیه شده به روش سنتی بدون باکتری پروبیوتیک (C)



شکل 2. نتایج آزمون حسی تیمارهای مختلف پنیر کوزه در پایان زمان رسیدن (90 روز)

در هر ضلع حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0/05$  می باشد. (نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر پاستوریزه حاوی پروبیوتیک (A) نمونه پنیر کوزه تهیه شده از شیر غیر پاستوریزه حاوی پروبیوتیک (B)، پنیر کوزه تهیه شده به روش سنتی بدون باکتری پروبیوتیک (C)

## • بحث

پروبیوتیک محسوب می‌شود باعث کاهش دوره‌ی اسهال باکتریایی و مهار سکونت پاتوژن‌ها در روده می‌شوند و آن‌ها می‌توانند با تولید ترکیبات ضد میکروبی، از رشد بسیاری از پاتوژن‌ها جلوگیری کنند (30). نتایج مطالعه حاضر در زمینه رطوبت با نتایج حاصل از سایر مطالعات انجام شده مطابقت دارد (31، 32). Gandhi و Shah (2016) نشان دادند که در

پروبیوتیک‌ها قرن‌ها است که به‌عنوان اجزای طبیعی برای بهبود سلامت غذاها مورد مصرف قرار می‌گیرند (29). با مصرف این مواد به‌جای این که باکتری‌های خطرناک، مضر و بیماری‌زا در روده بزرگ انسان رشد کند، باکتری‌های مفید به نام پروبیوتیک‌ها رشد می‌کند که می‌تواند محیط روده را عاری از باکتری‌های مضر کند. بیفیدو باکتریوم که جزء باکتری‌های

طول رسیدن انواع پنیر درصد رطوبت کاهش پیدا می کند که این کاهش رطوبت در اثر آب اندازی و جریان اسمزی در طول رسیدن در آب نمک می باشد. نتایج این بخش از این بررسی با نتایج تحقیقات انجام شده توسط Periera و همکاران (2016)، Ong و همکاران (2006) و Gandhi و Shah (2016) مطابقت دارد (33-35). آن ها نشان دادند که باکتری های پروبیوتیک تأثیری بر مقدار رطوبت پنیر نداشتند و با گروه کنترل در یک سطح آماری قرار گرفتند. درصد نمک در طول رسیدن نمونه های پنیر به طور معنی داری افزایش نشان داد ( $p \leq 0/05$ ). Bielecka و همکاران (2017) گزارش کردند که در پنیر فرا پالایش وجود مختصر آب اندازی، موجب جذب تدریجی نمک و خروج آب می گردد (36). همچنین درصد نمک نمونه های پنیر پروبیوتیک اختلاف معنی داری با نمونه کنترل نداشت ( $p \leq 0/05$ ). این نتایج با نتایج حاصل از تحقیقات Shah و Ong (2009) در پنیر سفید ترکیه مطابق دارد که نشان دادند بعد از 24 هفته درصد نمک در پنیرهای پروبیوتیک تولید شده با بیفیدوباکتریوم لانگوم و لاکتوباسیلوس کازئی دارای اختلاف معنی دار نبود (37). Kasimoglu و همکاران (2004) و Buriti و همکاران (2005) به این نتیجه رسیدند که غلظت رطوبت و نمک در طی زمان نگهداری به ترتیب کاهش و افزایش می یابد (38، 1). غلظت پروتئین نمونه های پنیر پس از 30 روز نگه داری به طور معنی داری افزایش یافت و سپس تا پایان زمان نگهداری (90 روز) ثابت باقی ماند. که علت آن کاهش مقدار رطوبت در طول نگهداری می باشد که موجب افزایش مقدار پروتئین گردیده است. نتایج مشابهی نیز توسط Ong و همکاران گزارش شده است (34). اختلاف در غلظت چربی ناشی از لیپولیز و انتقال اسیدهای چرب از پنیر به اطراف است (30). کاهش pH در طول نگهداری ناشی از فعالیت اسیدی سوبه های پروبیوتیک و استارتر تجارتری مورد استفاده است (39). Desai و همکاران گزارش کردند که بعضی از سوبه های لاکتوباسیلوس کازئی قادر به تولید اسید استیک به عنوان محصول نهایی متابولیکی هستند (40). همچنین Ong و همکاران (2007) نشان دادند که مقدار اسید استیک در پنیرهای حاوی بیفیدوباکتریوم به طور معنی داری بیشتر است (39). در ارزیابی وضعیت میکروبی، محمودی و همکاران (2012) به این نتیجه رسیدند که استفاده از باکتری های پروبیوتیک باعث مهار رشد باکتری لیستریا مونوسایتوزنز می گردد (41). زمردی (1389) نشان داد که طی نگهداری پنیر سفید، تعداد بیفیدوباکترها کاهش یافت (20). Gandhi و همکاران (2016) در پنیر سفید ترکیه نشان دادند که در هر

دو پنیرهای پروبیوتیک فاقد استارتر تجارتری و دارای استارتر تجارتری، تعداد لاکتوباسیلوس ها تا پایان 120 روز کاهش نشان داد که نتایج این مطالعه را تأیید می کند (42). به طور کلی در بیفیدوباکتریوم ها، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و بیفیدوباکتریوم لانگوم ثبات خوبی در طول فرایند انبارداری دارند (43، 44). بنابراین کاهش کمتر تعداد بیفیدوباکتریوم به صورت آزاد در طول نگهداری در مطالعه حاضر می تواند دلیل ثبات بیشتر این باکتری باشد. همچنین با توجه به نتایج حاصله، در ابتدای دوره نگهداری تا روز 75 تعداد باکتری های پروبیوتیک در نمونه های پنیر کاهش پیدا کرده و سپس افزایش نشان داد. این تغییرات به دلیل سازگار شدن پروبیوتیک ها در نمونه پنیر می باشد (42). در مطالعه حاضر این افزایش در پنیر تهیه شده از شیر پاستوریزه به علت تفاوت در نوع و تعداد میکروارگانیسم های دیگر در مقایسه با شیر غیر پاستوریزه بیشتر مشهود است. در طول روزهای اول نگهداری، باکتری ها با شرایط محیطی سازگار نبودند در نتیجه تعداد آن ها سریعاً کاهش نشان داد سپس در اثر عادت کردن به محیط تغییرات در تعداد باکتری ها کمتر بود. نتایج تحقیق حاضر با نتایج حاصل از تحقیقات Bergamini و همکاران (2005) در خصوص پنیر پروبیوتیک مطابقت دارد (44). همچنین Phillips و همکاران (2006) گزارش کردند که اختلاف در ماندگاری انواع باکتری های پروبیوتیک به نوع و گونه آن ها بستگی دارد (45). بالا بودن میزان نمک و پایین بودن نسبی pH پنیر سفید ممکن است علت اصلی کاهش تعداد باکتری های پروبیوتیک در طول نگهداری باشد که رشد پروبیوتیک های حساس به نمک و اسید که به صورت آزاد استفاده شده اند را محدود می سازد (46). همچنین نتایج این مطالعه نشان داد در تمام نمونه های پنیر، ماندگاری باکتری پروبیوتیک پس از اتمام دوره رسیدن بیش از میزان پیشنهادی مورد نیاز برای تأمین سلامتی است. (حداقل  $10^7$  کلنی در گرم). محققان مختلف نیز نتایج مشابهی در انواع مختلف پنیر گزارش نموده اند (44-46). اگر پنیر به مقدار 30 گرم در روز مصرف شود مقدار دریافتی پروبیوتیک ها در بین  $10^9$  تا  $10^{10}$  کلنی خواهد بود که از مقدار توصیه شده برای اثرات درمانی بیشتر است (42). Demers-Mathieu و همکاران (2016) و Guidone و همکاران (2016) نشان دادند که پنیر سفید ترکیه حاوی باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم کپسوله شده دارای خواص ارگانولپتیکی مشابه با گروه کنترل بوده و اختلاف معنی داری با آن نداشت (47، 48).

نسبت به غیر پاستوریزه در اولویت قرار داشت. در مجموع و با در نظر گرفتن برآیند وضعیت ماندگاری پروبیوتیک و همچنین آنالیز حسی نمونه‌ها و نگرانی جامعه از وضعیت سلامتی مواد اولیه تیمارها، به نظر می‌رسد مصرف پنیر کوزه تهیه شده با شیر پاستوریزه بیشتر مورد توجه بازار قرار گیرد.

با توجه به میزان ماندگاری باکتری در تیمارهای مختلف به نظر می‌رسد قابلیت ماندگاری باکتری بیفیدوباکتر در تیمارهای تهیه شده با شیر غیرپاستوریزه و پاستوریزه وجود دارد و این میزان تا آخرین روز به شکل پایداری گزارش گردید. این در شرایطی است که از لحاظ حسی شیر پاستوریزه

## • References

- Kasimoglu A, Goncuoglu M, Akgun, S. 2004. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. Int Dairy J 2004; 14: 1067-1073.
- Standard anistitue and industrial search of Iran. Sense Test of milk and dairy with graded method. Nutional indasterial number., 1999; 781.
- Ziemer C J, Gibson G R. An overview of probiotics, orebiotics and synbiotics in the Functional food concept: persepectives and future strategies. Int Dairy J 1998; 8: 473-479.
- Vandenplas Y, Huys G, Daube, A. Probiotics: An update. J Pediatr., 2015; 91: 6-21.
- Kailas S, pathy B, Kaila A. Microencapsulation of probiotics Bacteria. Technology and potential Applications. Curr Issues Intest Microbiol 2002; 3: 39-48.
- Khosrawi Darani,k, Koushki, M R. Probiotics in dairy and products, Tehran, Marze Danesh publications., 2007; 1-45
- Talwalkar A, Miller C W, Kailasapathy K, Nguyen M H. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. IJFST 2004; 39: 605-611.
- Servin AL, Coconnier MH. Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and the interaction with pathogens. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2003; 17: 741-754.
- Shah, N P. Functional cultures and health benefits. Int Dairy J 2007; 17: 1262-1277.
- Bamforth C W. Food, Fermentation, and Micro-organisms, 1st Ed., Blackwell Sciences Publishing, Oxford, 2005. p. 160-168.
- Francis F J. Encyclopaedia of Food Science and Technology, 2nd Ed., Wiley & Sons, New York, 2000. p. 298-308.
- Saarela M, Lahteenmaki L, Crittenden R, Salminen S, Mattila-Sandholm T. Gut bacteria and health foods—The European perspective. Int J Food Microbiol 2002; 78: 99-117.
- Karimi R, Mortazavian A M, Da Cruz A G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. Dairy Sci Technol 2011; 91: 283-308.
- Boylston T D, Vinderola C G, Ghodduzi H B, Reinheimer J A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. Int Dairy J 2004; 14: 375-387.
- Franco I, Prieto B, Urdiales R, Fresno J M, Carballo J. Study of the biochemical changes during ripening of Ahumado de Aliva cheese: a Spanish traditional variety. Food Chem., 2001; 74: 463-469.
- Fox P F, Guinee T P, McSweeney P L H. Fundamental of Cheese Science. Aspen Pub. Gaithersburg. M. D. 2000.
- Buffa M, Guamis B, Pavia M, Trujillo A J. Lipolysis in cheese made from raw, pasteurized or high pressure treated goat's milk. Int Dairy J 2001; 11: 175-179.
- Dervisoglu M, Yazici F. Ripening changes of Kulek cheese in wooden and plastic containers. J Food Eng 2000; 48: 243-249.
- Hesami-Rad R. 2006. Determination of chemical ingredients in Pot cheeses. Research Report. WAANRRC., 2006; 3:33-37. [In Persian]
- Zomorodi S, Razavi-Rohani S M, Khosrowshahi A, Ehsani, A. Surviving of probiotic bacteria *Lactobacillus casei* and its effect on the quality and sensory evaluation of the Iranian white cheese produced by ultrafiltration technique. Int J Dairy Technol 2010; 19: 80-92.
- Farajnia S. Isolation and determination of functional properties of two lactobacilli species in traditional Ligvan cheese. Proceeding of the 18th National Congress of Food Science and Technology. Food Science and Technology Institute of Khorasane Razavi., 2009; 3: 1-6 [In Persian].
- Buriti F C A, Rocha J S, Saad S M I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. Int Dairy J 2005; 15: 1279-1288.
- Amine KM, Champagne CP, Raymond Y, St-Gelais D, Britten M, Fustier P. Survival of microencapsulated Bifidobacterium longum in Cheddar cheese during production and storage. Food control 2014; 37:193-199.
- AOAC .1997.Official Methods of Analysis. .16th ed. 3rd rev. AOAC, Arlington, VA. 1997.
- Hassanzadazar H, Ehsani A, Mardani K, editors. Antibacterial activity of Enterococcus faecium derived from Koopeh cheese against Listeria monocytogenes in probiotic ultra-filtrated cheese. Veterinary research forum: an international quarterly journal. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. 2014.
- Danova S, Petrov K, Pavlov P, Petrova P. Isolation and characterization of Lactobacillus strains involved in



- koumiss fermentation. *Int J Dairy Technol* 2005; 58: 100-105.
27. Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *Int Dairy J* 2004; 14: 737-743.
  28. Mohammadi, K, Hanifian S. Growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* in Iranian ultra-filtered white cheese. *Int J Dairy Technol* 2015; 68: 111-117.
  29. Dimitrellou D, Kandylis P, Kourkoutas Y, Kanellaki M. Novel probiotic whey cheese with immobilized lactobacilli on casein. *LWT - Food Sci Technol* 2017; 86: 627-634.
  30. Da Cruz A G, Buriti F C A, De Souza C H B, Farria J A F, Saad S M I. Probiotic cheese: Health benefits, technological and stability aspects. *Trends Food Sci Technol* 2009; 20: 344-354
  31. Cuffia F, George G, Renzulli P, Reinhiemer J, Meinardi C, Burns P. Technological challenges in the production of a probiotic pasta filata soft cheese. *LWT - Food Sci Technol.*, 2017; 81: 111-117.
  32. Allam M, Darwish A, Ayad E, Shokery E, Darwish S. Lactococcus species for conventional Karish cheese conservation. *LWT - Food Sci Technol.*, 2016; 79: 625-631.
  33. Periera E, Cavalcanti R, Esmerino E, Guerriero L, Cunha R, Bolini H, Meireles M, Faria J, Cruz A. Effect of incorporation of antioxidants on the chemical, rheological, and sensory properties of probiotic petit suisse cheese. *J of Dairy Sci*, 2016; 3:1761-1772.
  34. Ong L, Henriksson A, Shah N. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. *Int Dairy J* 2006; 5:446-456.
  35. Gandhi A, Shah N. Salt Reduction in a Model High-Salt Akawi Cheese: Effects on Bacterial Activity, pH, Moisture, Potential Bioactive Peptides, Amino Acids, and Growth of Human Colon Cells. *J. Food Sci* 2016; 4: 991-1000.
  36. Bielecka M, Cichosz G. The influence of an adjunct culture of *Lactobacillus paracasei* LPC-37 on the physicochemical properties of Dutch-type cheese during ripening. *LWT - Food Sci Technol.*, 2017; 15:95-100.
  37. Ong L, Shah L. Probiotic Cheddar cheese: Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganisms, cheese composition and organic acid profiles. *LWT - Food Sci Technol* 2009; 7: 1260-1268.
  38. Buriti F C A, Rocha J S, Assis E G Saad S M I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *Int Dairy J* 2005; 15: 1279-1288.
  39. Ong L, Henriksson A, Shah N. Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* or *Bifidobacterium* sp. *Int Dairy J* 2007; 17:67-78.
  40. Desai AR, Shah N P, Powell I B. Discrimination of dairy industry isolates of the *Lactobacillus casei* group. *J Dairy Sci* 2006; 89: 3345-3351.
  41. Mahmoudi R, Tajik H, Ehsani A, Zare P. Physicochemical and hygienic effects of *Lactobacillus acidophilus* in Iranian white cheese. *Vet Res Forum* 2012; 3:193-197.
  42. Boylston T D, Vinderola C, Goddusi H, Reinheimer J. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. *Int Dairy J* 2004; 5:375-387.
  43. Poutsiaika D D, Mahoney I J, Stern L L, Thorpe C M, Kane A V, Baez-Giangreco C. et al. Selective method for identification and quantification of *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* BB-12 (BB-12) from the gastrointestinal tract of healthy volunteers ingesting a combination probiotic of BB-12 and *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 2017; 5: 1321 1332.
  44. Bergamini C, Hynes E, Quiberoni A, Suarez V B, Zalazar C. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. *Food Res Int* 2005; 5: 597-604.
  45. Phillips M, Kailasapaty K, Tran L. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *Int J Food Microbiol* 2006; 2:276-280.
  46. Rolim F R L, Dos Santos K M O, De Barcelos S C, Do Egito A S, Ribeiro T. S, da Conceição M. et al. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in simulated gastrointestinal conditions and its inhibitory effect against pathogenic bacteria in semi-hard goat cheese. *LWT-Food Sci and Technol* 2015; 63: 807-813.
  47. Demers-Mathieu V, St-Glias D, Audy J, Laurin E, Fliess I. Effect of the low-fat Cheddar cheese manufacturing process on the viability of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei/casei*, and *Lactobacillus plantarum* isolates. *J Funct Foods* 2016; 24:327-337.
  48. Guidone A, Zotta T, Matera A, Ricciardi A, Parente E. The microbiota of high-moisture mozzarella cheese produced with different acidification methods. *Int J Food Microbiol* 2016; 216: 9-17.

## Viability of *Bifidobacterium bifidum* and Its Effect on the Microbial, Chemical and Sensorial Characteristics of Traditional Koozeh Cheese

Mehdizadeh T<sup>1\*</sup>, Sheikhanloui Milan H<sup>2</sup>, Mojaddar Langroodi A<sup>3</sup>

- 1- \*Corresponding author: Assistant Prof, Dept. of Food Hygiene, Faculty of Veterinary medicine, Urmia University, Urmia, Iran. Email: Tooraj.mehdizadeh@yahoo.com
- 2- MSc Graduated of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Azad university of Maragheh, Maragheh, Iran
- 3- PhD of Food Hygiene, Faculty of Veterinary medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Received 6 Mar, 2018

Accepted 2 Jul, 2018

**Background and Objectives:** Koozeh cheese is among the best known of all traditional Iranian cheeses. The Bifidobacteria family has been considered in functional food products due to its probiotic properties in recent years. Viability of probiotic bacteria during the maintenance and time of consuming in food has become a challenge in food hygiene and technology. The aim of this work was to investigate the viability of *bifidobacterium bifidum* and its effect on the microbial, chemical and sensorial characteristics of traditional Koozeh cheese

**Materials and Methods:** Survival of *Bifidobacterium bifidum* (ATCC 29521) was investigated in the traditional Koozeh cheese prepared from pasteurized milk and non-pasteurized milk. *B.bifidum* was counted at 1, 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days. The cheese samples were assessed for microbiological and chemical properties. Then they also were analyzed for sensory evaluation at the end of 90 days of ripening stage.

**Results:** The amount of *Bifidobacterium bifidum* in the cheeses produced by pasteurized milk and unpasteurized milk increased by as much as 2 and 1 log cycles, respectively. Moisture and pH were lower in the cheeses produced by pasteurized milk containing probiotic in compare to the the other samples. Salt content was significantly different in the samples produced by unpasteurized milk with probiotic at the end stage of cheese ripening. The sensory evaluation showed that the samples produced by pasteurized milk enriched with probiotic significantly had higher sensory scores. It was concluded that probiotic *Bifidobacterium bifidum* can be used successfully in Koozeh cheese without adversely affecting the cheese quality during ripening. The reduction of total viable and yeasts–molds counts was observed during the maturation of cheese samples.

**Conclusion:** The Koozeh cheese matrix can be used as a proper carrier of probiotic microorganisms.

**Keywords:** Koozeh cheese, *Bifidobacterium bifidum*, Sensory evaluation, Chemical properties