DOI: 10.22059/ijbse.2019.270715.665124 مهندسی بیوسیستم ایران، دوره ۵۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸ (ص۳۸۸-۳۷۵)

Study of Chemical and Microbial Properties of Probiotic Quark Cheese Containing *Lactobacillus Acidophilus* and *Lactobacillus Casei*

MARAL SOLTANZADEH[1], JAVAD HESARI[2], SEYED HADI PEIGHAMBARDOUST[3*]

1. MSc student, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
2. Professor of Food Technology, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
3. Professor of Food Technology, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz

(Received: Dec. 5, 2018- Revised: Feb. 17, 2019- Accepted: March. 9, 2019)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate chemical and microbial properties of probiotic Quark cheese containing *L.acidophilus* (LA) and *L.casei* (LC) during 21 days of storage. Results showed that LC sample had significantly lower pH than that of both LA and control. pH values of all samples decreased significantly upon storage time. Treatable acidity changes in cheese sample was similar to pH change, although acidity differences between samples was more enhanced than pH variation. There was a significant increase in soluble nitrogen of LC sample compared to that of LA and control in Day 21. Increasing storage time from 7 to 21 days, significantly increased the soluble nitrogen content of all cheese samples. Increasing storage time significantly increased lipolysis index of control compared to probiotic chees samples. Coliform counts was negligible in all samples and was below 10 log CFU/g in probiotic cheese samples. Yeast and mold counts of control was significantly higher than that of probiotic samples. Lactobacilli count results indicated that the number of viable bacteria in both probiotic cheese samples was 8.5-8.6 log CFU/g in day 1. Increasing storage time up to 21 days did not significantly ($p<0.05$) decrease the number of lactobacilli and in both probiotic samples it remained above 8 log CFU/g. Quark cheese provided a good substance for the incorporation of probiotic strains. Storage of quark cheese until 21 days preserved probiotic bacteria and resulted in the desired chemical properties.

Keywords: Soft cheese, Probiotic, Quality, Free fatty acids

* Corresponding author's Email: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

مطالعه ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی پنیر کوارک پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی*

مارال سلطان‌زاده[۱]، جواد حصاری[۲]، سیدهادی پیغمبردوست[۳*]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
۲. استاد تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
۳. استاد تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۴/ ۹/ ۱۳۹۷- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۷/۱۱/۲۸- تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۱۲/۱۸)

چکیده

هدف از انجام این تحقیق بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی پنیر کوارک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA) و *لاکتوباسیلوس کازئی* (LC) طی مدت ۲۱ روز نگهداری بود. نتایج نشان داد که pH پنیر کوارک LC نسبت به نمونه کنترل و LA به طور معنی‌داری پایین‌تر بود. pH همه پنیرهای مورد آزمون با گذشت زمان به‌طور معنی داری کاهش یافت. تغییرات اسیدیته بین تیمارها و تفاوت‌های بین آنها بارزتر از تفاوت‌های pH بود. ازت محلول در هفته سوم نگهداری در پنیر LC نسبت به LA و کنترل افزایش معنی‌داری یافت و با گذشت زمان از روز هفتم تا بیست و یکم، مقدار ازت محلول در همه نمونه‌های پنیر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. با گذشت زمان نمونه کنترل نسبت به دو نمونه پروبیوتیک LC و LA، اندیس لیپولیز بیشتری نشان داد. تعداد کلی‌فرم‌ها در همه نمونه‌های پنیر کنترل و بویژه پنیرهای پروبیوتیک ناچیز و کمتر از ۱۰ cfu/g بود. تعداد کپک و مخمر پنیرهای کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های پروبیوتیک بود. نتایج شمارش لاکتوباسیل‌ها در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک در روزهای نگهداری مختلف نشان داد که در روز اول ارزیابی تعداد هر دو باکتری تلقیح شده ۸/۵ تا ۸/۶ log CFU/g بود. زمان ماندگاری پنیر تا ۲۱ روز اثر معنی داری بر کاهش تعداد لاکتوباسیل‌ها نداشت و در مورد هر دو باکتری تعداد باکتری‌های شمارش شده بالاتر از ۸ log CFU/g باقی ماند. پنیر کوارک بستر مناسبی برای افزودن سویه‌های پروبیوتیک ارائه نمود که طی مدت نگهداری تا ۲۱ روز باعث محافظت این سویه‌ها شد و پنیر حاصله در این مدت ویژگی‌های شیمیایی مطلوب خود را حفظ نمود.

واژه‌های کلیدی: پنیر نرم، پروبیوتیک، کیفیت، اسید چرب آزاد

مقدمه

پنیر یکی از پرمصرف‌ترین فرآورده‌های شیری است که تقریباً هر روزه توسط سنین مختلف افراد در همه جای جهان مصرف می‌شود. پنیر منبع غنی از پروتئین، چربی، کلسیم، فسفر، ریبوفلاوین و دیگر ویتامین‌ها است. در رژیم‌های غذایی با پروتئین بالا، پنیر بیش از شیر می‌تواند مفید واقع شود ضمن آنکه پروتئین‌های آن از قابلیت هضم بالایی نیز برخوردار هستند زیرا برخی از پروتئین‌ها در حین فرایند رسیدن پنیر، به پپتیدها و آمینو اسیدها شکسته می‌شوند (Renner, 1993). کوارک نوعی پنیر تازه با منشأ اروپای مرکزی است که از انعقاد اسیدی شیر توسط کشت‌های باکتریایی مناسب (*استرپتوکوکوس کرموریس* و *لئوکنوستوک سیتروروم*) با افزودن کمی رنت (جهت جداسازی بهتر کوآگوله‌های پروتئینی از آب پنیر و به تبع آن افزایش راندمان) تولید می‌شود. پنیر کوارک حاوی ۶۰ تا ۸۰ درصد رطوبت، ماده خشک آن حاوی ۱ تا ۴۰ درصد چربی بوده و قسمت اعظم باقیمانده ماده خشک حاوی پروتئین (که ۸۰ درصد آن را کازئین تشکیل می دهد)، کلسیم و فسفات است (Kadiya *et al.*, 2014). در مقایسه با اکثر پنیرهای رسیده، کوارک دارای ماده‌ی خشک کم‌تری است به دلیل این که بیشتر کلسیم آن در طول انعقاد اسیدی محلول شده و با آب پنیر حذف می‌شود (Schulz *et al.*, 1999).

پنیر به علت داشتن ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاص در مقایسه با سایر محصولات لبنی تخمیر شده مانند ماست، از جمله pH بالاتر و اسیدیته قابل تیتر کم‌تر، ظرفیت بافری بالاتر، محتوای چربی بیشتر، مواد مغذی بالاتر و بافت متراکم‌تر، پتانسیل خوبی برای انتقال میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در روده انسان دارد. پنیر همچنین ظرفیت بافری بالاتری نسبت به ماست داشته که حالت بافری در مقابل محیط بسیار اسیدی دستگاه گوارش ایجاد کرده و بنابراین محیط مناسبی برای بقای پروبیوتیک‌ها در

* نویسنده مسئول: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

طول عبور از دستگاه گوارش مهیا می‌سازد. علاوه بر این ماتریکس متراکم و محتوای چربی نسبتا بالای پنیر در طول مصرف آن باعث محافظت میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در طول مسیر گوارش می‌شود (Bergamini *et al*., 2005; Gardiner *et al*., 1999). مجموعه این عوامل باعث افزایش پایداری و بقای پروبیوتیک‌ها در پنیر می‌شوند. فراورده‌های لبنی مانند پنیر امروزه به‌عنوان بستری مناسب برای انتقال باکتری‌های پروبیوتیکی مفید برای سلامت انسان مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند (Djurić *et al*., 2017; Karimi *et al*., 2012).

هرچند که محصولات لبنی بستر مناسبی برای انتقال باکتری‌های پروبیوتیک به بدن انسان درنظر گرفته می‌شوند اما موانع تکنولوژیکی چندی مانند انتخاب سویه‌های مناسب پروبیوتیک، مقدار نمک، نوع بسته بندی (حضور یا عدم حضور اکسیژن)، زمان رسیدن و شرایط نگهداری پنیر می‌تواند کارایی تولید و استفاده از این محصولات را کاهش دهد (Kadiya *et al*., 2014; Milanović *et al*., 2004). در بین انواع مختلف پنیر، پنیرهای تازه مانند کوارک به دلیل داشتن محتوی رطوبتی بالا، چربی نسبتا بالا، نمک پایین، ظرفیت بافری مطلوب و در نهایت زمان ماندگاری محدود آن محیط مناسبی برای حفظ و انتقال پروبیوتیک‌ها محسوب می‌شود (Song *et al*., 2017; Mara & Kelly, 2008; Djurić *et al*., 2017; Kadiya *et al*., 2014; Milanović *et al*., 2004). از اثرهای سودمند و سلامت بخش مربوط به مصرف پروبیوتیک‌ها می‌توان فعالیت ضد میکروبی، جلوگیری و درمان اسهال، تسکین علائم مربوط به عدم تحمل لاکتوز، فعالیت ضد عفونی کنندگی و ضد سرطان بودن، تحریک سیستم ایمنی، افزایش سلامت مجاری ادرار و بهینه سازی تاثیر واکسن را نام برد (Bomba *et al*., 2002; Saad, 2006; Shah, 2007). میکروارگانیسم‌های مختلفی به دلیل پتانسیل پروبیوتیک بودن آن‌ها به محصولات لبنی اضافه می‌شوند. *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* گونه‌های متداول باکتریایی هستند که به عنوان پروبیوتیک برای تولید محصولات شیری تخمیری استفاده می‌شوند (Fuller, 1997; Gibson & Fuller, 1998).

با توجه به پایین بودن تنوع فراورده‌های شیری به‌ویژه پنیر در کشور و این که پنیر کوارک به عنوان یک پنیر تازه و مغذی در سطح تجاری در ایران تولید نمی‌شود و از طرفی با توجه به مزایای پنیر کوارک نسبت به سایر محصول‌های لبنی تخمیری و سایر پنیرهای سنتی در حفظ و انتقال پروبیوتیک‌ها به بدن انسان، در این پژوهش پنیر کوارک جهت افزودن باکتری‌های پروبیوتیکی انتخاب شد. طبق اطلاعات موجود در کشور تاکنون پژوهشی در زمینه بررسی خواص کیفی پنیر کوارک پروبیوتیک انجام نشده در نتیجه در مطالعه حاضر، پنیر کوارک پروبیوتیک با سویه‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* تولید و خواص شیمیایی و میکروبی پنیر متأثر از افزودن نوع سویه میکروبی به همراه استارتر کالچر تجاری و به‌خصوص قابلیت زنده‌مانی این باکتری‌ها در طول دوره نگهداری پنیر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شیر پاستوریزه پس چرخ با مشخصات مندرج در جدول ۱ از شرکت پگاه تبریز خریداری شد.

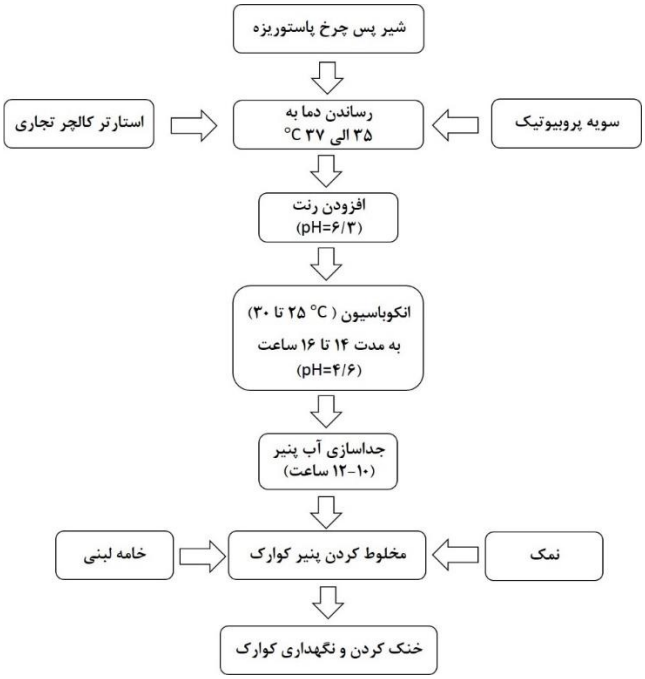
جدول ۱- ویژگی‌های شیر مصرفی برای تولید پنیر کوارک

چربی (درصد)	پروتئین (درصد)	ماده خشک بدون چربی (درصد)	اسیدیته (درجه دورنیک)	pH
۰/۲ ۰±/۰۰۵	۳/۱ ۰±/۰۷	۸/۵ ۰±/۰۹	۱۴/۰ ۰±/۳۷	۶/۸۱ ۰±/۰۵

مایه پنیر CHY-MAX Powder Extra NB از شرکت پیشگامان پخش صدیق (تهران) تهیه گردید. مقدارمصرف مایه پنیر ۱/۵ گرم به ازاء هر یک کیلوگرم شیر بود. استارتر کالچر تجاری پنیر با نام تجارتی CHOOZIT MA 11 LYO 125 DCU از شرکت دانیسکو (فرانسه) تهیه گردید. مقدار مصرف استارتر کالچر ۲۲/۸۶ میلی گرم برای هر کیلوگرم شیر بود. دو سویه پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* (FD-DVS nu-trish LA-5) و *Lactobacillus casei* (FD-DVS nu-trish L.casei-431) ساخت شرکت CHR Hansen از شرکت پیشگامان پخش صدیق (تهران) تهیه گردید. طبق برشور شرکت سازنده، مقدار مصرف باکتری های پروبیوتیک ۲۵ میلی‌گرم برای هر کیلو شیر بود. خامه استریل (فاقد قوام دهنده) با درصد چربی ۳۰٪ از شرکت لبنیات میهن (تهران) تهیه شد. نمک بدون ید تصفیه شده از شرکت سپید دانه (تهران) خریداری شد. مقدار مصرف خامه ۲۰ درصد (وزنی/وزنی) پنیر کوارک بود. نمک نیز به مقدار ۲/۵ درصد (وزنی/وزنی) پنیر در مراحل پایانی تولید پنیر کوارک همزمان با مخلوط کردن خامه به آن اضافه شد.

تولید پنیر کوارک

تولید پنیر کوارک مطابق شکل ۱ انجام شد.



شکل ۱- فلودیاگرام مراحل تولید پنیر کوارک پروبیوتیک

تولید پنیر کوارک پروبیوتیک همانند مراحل فوق انجام شد با این تفاوت که به همراه استارتر کالچر تجاری سویه‌های پروبیوتیک *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس* (LA) و *لاکتو باسیلوس کازئی* (LC) در مرحله افزودن استارتر اضافه شد. طبق برشور شرکت سازنده، مقدار باکتری‌های پروبیوتیک ۲۵ میلی‌گرم پودر لیوفلیزه به ازای هر کیلوگرم شیر به‌طور مستقیم به شیر اضافه شد. هر سه نمونه پنیر کوارک کنترل (بدون سویه پروبیوتیک)، نمونه LA و نمونه LC در یک روز تحت شرایط کاملا یکسان تولید شده و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی زیپ‌لاک بسته بندی و در دمای یخچال نگهداری گردیدند. ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی آن‌ها در روزهای مختلف نگهداری ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمایش‌های شیمیایی پنیر

اندازه‌گیری رطوبت، خاکستر، چربی، پروتئین و pH با روش‌های استاندارد ملی ایران به ترتیب به شماره‌های ۱۷۵۳، ۱۷۵۵، ۷۶۰، ۹۱۸۸-۱ و ۲۸۵۲ انجام شد (ISIRI, 1968, 1977, 2002, 2006, 2015). مقدار کربوهیدرات کل پنیر از کم کردن مجموع مقادیر چربی، پروتئین و خاکستر از مقدار ماده خشک پنیر بدست آمد (Kroger, 1980). برای تعیین اسیدیته قابل تیتر پنیر، به مقدار ۵ گرم پنیر داخل ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری، مقدار ۱۰۰ میلی-لیتر آب اضافه گردید. پس از همگن کردن نمونه، روی آن ۶ قطره محلول ۱٪ فنل فتالئین به عنوان شناساگر اضافه گردید. سپس نمونه با محلول هیدروکسید سدیم (NaOH) ۰/۱نرمال تا ظهور رنگ صورتی پایدار تیتر شد و اسیدیته قابل تیتر بر حسب درصد اسید لاکتیک محاسبه گردید (AOAC, 2000).

اندازه‌گیری ازت محلول (شاخص شدت پروتئولیز)

روش‌های مختلفی برای ارزیابی نرخ پروتئولیز در پنیر وجود دارد. این روش‌ها شامل روش‌های عمومی (درصد ازت محلول در آب و درصد ازت محلول در pH=4، ازت غیر پروتئینی) و روش اختصاصی (الکتروفورز) است. در روش‌های عمومی پیشرفت پروتئولیز براساس درجه تجزیه کازئین‌ها ارزیابی می‌شود. مقدار تجزیه کازئین‌ها به صورت پروتئولیز اولیه و ثانویه مورد بررسی قرار می‌گیرد. برای ارزیابی پروتئولیز اولیه درصد ازت محلول در آب و درصد ازت محلول در pH=4.6 محاسبه می‌شود. برای بررسی شاخص رسیدن پنیر معمولا نسبت ازت محلول به ازت کل مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. برای ارزیابی پروتئولیز ثانویه درصد ازت محلول در تری کلرواستیک اسید ۱۲٪ اندازه گیری می‌شود که به این شاخص ازت غیر پروتئینی[1] گفته می‌شود. با توجه به اینکه پنیر کوارک جزو پنیرهای تازه (نارس) با رطوبت بالا است تغییرات پروتئولیتیک خیلی بارز مورد انتظار نبود، لذا فقط به ارزیابی شاخص پروتئولیز اولیه یا همان اندازه‌گیری درصد ازت محلول در پنیرها پرداخته شد. تغییرات این شاخص نشان دهنده تجزیه اولیه کازئین پنیر است. آماده‌سازی و استخراج ازت محلول در pH= ۴/۶ طبق روش اصلاح شده Kuchroo & Fox (1982)صورت گرفت.

اندازه‌گیری درصد اسیدهای چرب آزاد[2] پنیر (شاخص شدت لیپولیز)

وجود اسیدهای چرب آزاد در پنیر معیاری از دامنه لیپولیز چربی شیر بوده و این معیار به‌عنوان شاخص لیپولیز مورد استفاده قرار گرفته و با واحد درصد اسید اولئیک بیان می‌شود. رخ دادن شدید واکنش‌های لیپولیز در طول نگهداری پنیر باعث کاهش زمان ماندگاری محصول و ایجاد بد طعمی در پنیر می‌شود. برای تعیین مقدار کل اسیدهای چرب آزاد نمونه‌های پنیر از روش Nouira *et al.*, (2011) با اندکی تغییرات استفاده شد. اساس این روش استخراج چربی از مقدار معینی پنیر و تعیین درصد اسیدهای چرب آزاد آن با روش تیتراسیون در مقابل یک قلیای استاندارد بود. برای این منظور حدود ۵ گرم نمونه پنیر در یک لوله مدرج درپوش دار ۶۰ میلی لیتری توزین شد. روی آن ۵ میلی لیتر آب اضافه شد تا پنیر سوسپانسه گردد. سپس به آن ۱۰ میلی لیتر مخلوط استخراج شامل ایزوپروپانول (۲-پروپانول)، پترولیوم اتر و اسید سولفوریک ۴ نرمال به نسبت به ترتیب ۴۰ به ۱۰ به ۱ اضافه

1. Non Protein Nitrogen (NPN)

2. Free Fatty Acids (FFA)

شد. سپس مقدار ۶ میلی‌لیتر پترولیوم اتر اضافی هم به مخلوط افزوده شد. درپوش لوله‌ها بسته شده و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه متعادل گردید. سپس مخلوط داخل لوله به شدت به‌مدت ۲۰ ثانیه تکان داده شد. سپس لوله‌ها به‌منظور جدا شدن لایه فوقانی نگه داشته شده (به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه) و لایه چربی رویی (حدود ۵ میلی‌لیتر) جدا شده و به ارلن مایر ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. روی آن دو قطره معرف آلفا نفتول فنل فتالئین[1] متانولی (۱ گرم آلفا نفتول فنل فتائین در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) اضافه شد و محتویات ارلن با محلول پتاس (KOH) متانولی ۰/۰۲ نرمال تیتر گردید. تیتراسیون یکبار دیگر برای لوله شاهد (بدون نمونه) انجام شد. سپس درصد اسیدهای چرب آزاد پنیر کوارک از رابطه (۱) محاسبه گردید:

(رابطه ۱)

$$FFA\ (\%\ Oleic\ Acid) = \frac{(mL\ KOH\ for\ sample - ml\ KOH\ for\ Blank) \times N \times 100}{Weight\ of\ Fat\ (g)}$$

آزمون‌های میکروبی

در این تحقیق ویژگی‌های میکروبیولوژیکی پنیر کوارک در مدت زمان نگهداری از حیث باکتری‌های کلی‌فرم، کپک و مخمر و باکتری‌های پروبیوتیک مطابق روش‌های ذیل مورد بررسی قرار گرفت.

شمارش باکتری‌های کلی فرم

شمارش باکتری‌های کلی‌فرم با روش پور پلیت[2] و با استفاده از محیط کشت Violet Red Bile Agar (pH 7.4±0.1) انجام شد. پلیت‌های تهیه شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. کلنی‌های با رنگ قرمز تیره شمارش و تعداد باکتری‌ها برحسب log cfu/g نمونه پنیر گزارش گردید (ISIRI 9263).

شمارش کپک و مخمرها

شمارش کپک و مخمرها در نمونه‌های پنیر در محیط کشت Potato Dextrose Agar (pH 3.5±0.1) انجام شد. پلیت‌های تهیه شده در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵ روز گرمخانه‌گذاری شدند. شمارش کپک و مخمرها برحسب log cfu/g در نمونه پنیر گزارش گردید (ISIRI 10899).

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

برای تهیه رقت از نمونه‌های پنیر، مقدار ۵ گرم پنیر همگن شده در کیسه‌های زیپ‌دار استریل حاوی ۴۵ میلی‌لیتر سیترات سدیم ۲ ٪ توزین و همگن گردید. سری رقت‌ها با افزایش یک میلی‌لیتر از هر رقت به ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد استریل تهیه شد. باکتری‌های پروبیوتیک در محیط کشت MRS bile agar با روش پورپلیت کشت داده شدند. گرمخانه گذاری پلیت‌ها در شرایط هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد (Oliveira *et al*., 2009).

تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی تأثیر افزودن سویه‌های پروبیوتیک *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتو باسیلوس کازئی* بر ویژگی‌های مختلف پنیرکوارک در زمان‌های مختلف نگهداری از طرح کاملا تصادفی (CRD[3]) استفاده شد. برای تعیین معنی‌دار بودن یا نبودن داده‌ها مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی داری $p<0.05$ استفاده شد. نرم افزار مورد استفاده SPSS انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی پنیر کوارک تهیه شده از سویه‌های میکروبی مختلف

ویژگی‌های شیمیایی پنیر پروبیوتیک حاوی سویه‌های میکروبی مختلف در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی پنیر پروبیوتیک (روز اول) حاوی سویه‌های میکروبی مختلف در مقایسه با کنترل

	پنیر کنترل	پنیر پروبیوتیک حاوی *L. casei*	پنیر پروبیوتیک حاوی *L. acidophilus*
رطوبت (٪)	۶۸/۱۰ ± ۰/۴۰ ^{c}	۷۰/۱۰ ± ۰/۳۰ ^{a}	۶۹/۵۰ ± ۰/۲۵ ^{b}
ماده خشک (٪)	۳۱/۹۰ ± ۰/۴۰ ^{a}	۲۹/۹۰ ± ۰/۳۰ ^{c}	۳۰/۵۰ ± ۰/۳۰ ^{b}
خاکستر (٪)	۱/۴۵ ± ۰/۰۲ ^{c}	۱/۵۱ ± ۰/۰۵ ^{a}	۱/۴۸ ± ۰/۰۳ ^{b}
پروتئین (٪)	۱۰/۸۰ ± ۰/۴۵ ^{a}	۱۰/۳۵ ± ۰/۲۱ ^{a}	۱۰/۸۵ ± ۰/۳۲ ^{a}
چربی (٪)	۷/۲۰ ± ۰/۳۵ ^{a}	۶/۸۲ ± ۰/۲۰ ^{a}	۶/۹۱ ± ۰/۳۰ ^{a}
کربوهیدرات کل (٪)	۱۲/۴۵ ± ۰/۲۵ ^{a}	۱۱/۲۲ ± ۰/۳۰ ^{b}	۱۱/۲۶ ± ۰/۲۰ ^{b}
pH	۴/۵۸ ± ۰/۰۴ ^{a}	۴/۵۲ ± ۰/۰۳ ^{a}	۴/۵۴ ± ۰/۰۲ ^{a}
اسیدیته (٪ لاکتیک اسید)	۰/۶۸ ± ۰/۰۱ ^{a}	۰/۶۷ ± ۰/۰۱ ^{a}	۰/۶۸ ± ۰/۰۱ ^{a}

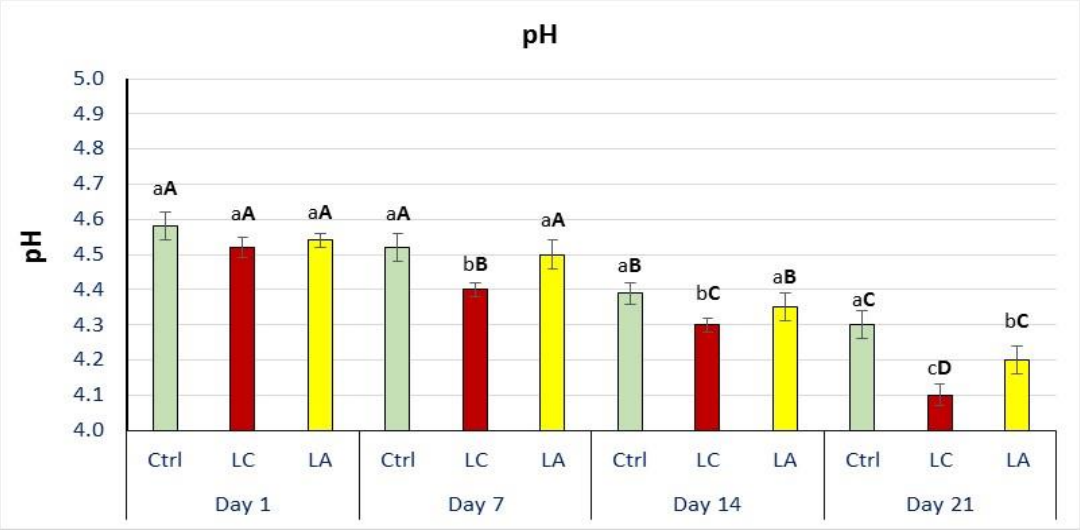
داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار (SD) و حروف لاتین غیرمشابه در هر سطر بیانگر اختلاف معنی دار ($p<0.05$) بین میانگین‌ها است.

1. Methanolic alpha-naphtholphthalein
2. Pour plate method
3. Completely Randomized Design

همانطور که از جدول فوق ملاحظه می‌شود، باستثناء رطوبت (ماده خشک)، بین بقیه ویژگی‌های پنیرهای مورد آزمون اختلاف معنی داری ($p<0.05$) مشاهده نشد. رطوبت پنیر کنترل نسبت به پنیرهای پروبیوتیک کمترین مقدار (۶۸/۱ درصد) و رطوبت پنیر پروبیوتیک LC بیشترین مقدار (۷۰/۱ درصد) را داشت. در این پنیر احتمالا به دلیل عملکرد بهتر باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* شبکه کازئینی منعقد شده در پنیر توانسته رطوبت بیشتری حفظ نماید. در چنین حالتی سینرسیس یا آب اندازی دلمه کمتر شده و راندمان تشکیل دلمه افزایش می یابد. احتمال رخداد واکنش‌های تجزیه‌ای پروتئین و چربی مانند پروتئولیز و لیپولیز در طول رسیدن پنیر در چنین حالتی می‌تواند با روند بهتری صورت گیرد. گزارش شده که در پنیر با رطوبت بالاتر پروتئولیز با شدت بیشتری اتفاق می‌افتد. محتوای رطوبتی بالاتر دسترسی به آنزیم‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک را افزایش داده و نتیجه آن تسریع پروتئولیز و لیپولیز می‌باشد (Zisu & Shah, 2005). می‌توان نتیجه گرفت که نوع باکتری پروبیوتیک می‌تواند خواص شیمیایی و به تبع آن احتمالا خواص عملکردی پنیر را در دوره رسیدن تحت تأثیر قرار دهد.

تغییرات pH نمونه‌های پنیر

شکل ۲. تغییرات pH نمونه‌های پنیر کوارک پروبیوتیک نسبت به نمونه کنترل و نیز تغییرات pH هر تیمار در طول زمان نگهداری را نشان می‌دهد. همانطور که از این شکل ملاحظه می‌شود، در پنیر تازه تولید شده (روز اول) تفاوت معنی داری ($p<0.05$) بین pH نمونه‌ها وجود نداشت و pH پنیرها مشابه مقدار آن در دلمه تازه بسته شده (pH=4.6) بعد از مدت زمان گرمخانه گذاری بود. البته در نمونه‌های پروبیوتیک حاوی هر دو سویه باکتریایی مقدار pH اندکی پایین تر (pH=4.52-4.54) از نمونه کنترل (pH=4.58) بود، اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در پنیرهای نگهداری شده در زمان‌های مختلف، به ازای افزایش زمان نگهداری تفاوت pH بین نمونه‌های پروبیوتیک افزایش یافت. در روز هفتم نگهداری pH نمونه LC نسبت به دو نمونه کنترل و LA به طور معنی‌دار کاهش یافت. این رویه در روز چهاردهم نگهداری هم مشاهده شد. در روزهای هفتم و چهاردهم بین نمونه کنترل و LA از لحاظ تغییرات pH تفاوت معنی‌داری نبود، اما نمونه LC به طور معنی‌دار pH پایین‌تری نسبت به دو نمونه دیگر نشان داد. در روز بیست و یکم نگهداری تفاوت بین سه نمونه پنیر کاملا معنی دار شد و به ترتیب نمونه‌های LC، LA و کنترل دارای کمترین pH بودند و این تفاوت معنی‌دار ($p<0.05$) بود. در همه نمونه های پنیر، به ازای زمان نگهداری pH به‌طور معنی داری ($p<0.05$) کاهش یافت. البته نرخ این کاهش در نمونه LC بیشتر از LA و آن هم بیشتر از نمونه کنترل بود. در نمونه‌های LA و کنترل در بین روزهای اول و هفتم نگهداری کاهش معنی داری در pH ملاحظه نشد اما در نمونه LC این کاهش معنی‌دار وجود داشت. در بین سویه‌های پروبیوتیک، نمونه LC نسبت به LA توانایی تولید اسید بیشتری داشته و باعث کاهش بیشتر pH پنیر شد.

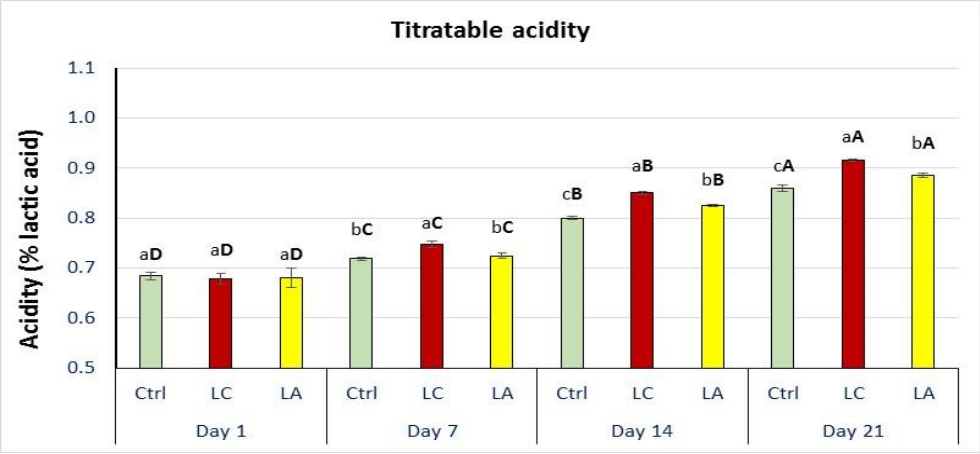


شکل ۲- تغییرات pH نمونه‌های پنیر کنترل (Ctrl)، پنیر پروبیوتیک تهیه شده از *لاکتوباسیلوس کازئی* (LC) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA) در فواصل زمانی یک هفته‌ای نگهداری. داده‌ها میانگین سه بار اندازه گیری (n=3)، بازه‌های خطا معرف انحراف معیار (SD) و حروف لاتین کوچک غیرمشابه مربوط به هر بازه زمانی با تیمارهای مختلف و حروف لاتین بزرگ غیر مشابه مربوط به مقایسه هر تیمار در روزهای مختلف نگهداری، بیانگر اختلاف معنی دار ($p<0.05$) بین میانگین‌ها است.

گزارش شده است که نوع کشت آغازگر تأثیر معنی‌داری بر pH پنیر دارد. طی دوره رسیدن، پنیرهای تهیه شده با آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید EPS^+ دارای pH بالاتری نسبت به پنیر تهیه شده با آغازگرهای EPS^- و مخلوط آغازگرها بودند (Zare-Jamshidi & Hesari, 2013). pH از عواملی است که تأثیر زیادی بر پایداری پنیر و شرایط رشد میکروارگانیسم‌ها، فعالیت آنزیمی و سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی در طی رسیدن پنیر دارد. کاهش pH طی دوره رسیدن بیشتر مربوط به تخمیر لاکتوز و تا حدودی در زمان‌های طولانی رسیدن پنیر های سنتی مربوط به تولید اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب در اثر پروتئولیز و لیپولیز می‌باشد، اما عامل مهم در کاهش pH مربوط به تولید اسید لاکتیک است (Fox *et al.*, 2000). کاهش سریع در مقدار pH طی مراحل اولیه در تهیه پنیر یک اصل ضروری برای تشکیل لخته و پیش‌گیری یا کاهش رشد میکروفلور نامطلوب در صنعت پنیرسازی است (Sarantinopoulos *et al.*, 2001). در مطالعه خواص پنیر کوارک پروبیوتیک تلقیح شده با *بیفیدوباکتریوم لانگوم* گزارش شده که pH پنیر پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه کنترل پایین‌تر بود (Song *et al.*, 2017). همچنین نگهداری پنیر کوارک به مدت ۱۰ روز باعث کاهش pH نمونه‌های پنیر شد. این محققان علت کاهش pH را تخمیر لاکتوز به اسید لاکتیک و اسیدهای چرب آزاد عنوان کردند که در پنیر کوارک پروبیوتیک نگهداری شده، توسعه یافتند. همچنین این محققان گزراش کردند که مقادیر اسید لاکتیک و اسید استیک در پنیر کوارک پروبیوتیک نسبت به نمونه کنترل در پایان زمان نگهداری بیشتر بود. این افزایش هم‌راستا با کاهش مقدار لاکتوز نمونه‌های پنیر در طول زمان نگهداری بود. در همه زمان‌های نگهداری نمونه‌های LC کمترین pH را نسبت به سایرین داشت. که این امر به توانایی تولید اسید بیشتر نمونه LC نسبت به LA بر می‌گردد که باعث کاهش بیشتر pH پنیر شده است.

تغییرات اسیدیته قابل تیتر نمونه‌های پنیر

شکل ۳ تغییرات اسیدیته نمونه‌های پنیر کوارک پروبیوتیک نسبت به نمونه کنترل و نیز تغییرات اسیدیته هر تیمار در طول زمان نگهداری را نشان می‌دهد. در پنیر تازه تولید شده (روز اول) تفاوت معنی داری ($p<0.05$) بین اسیدیته نمونه‌ها وجود نداشت. در پنیرهای نگهداری شده در زمان‌های مختلف، به ازای افزایش زمان نگهداری تفاوت اسیدته بین نمونه‌های پروبیوتیک افزایش یافت. در روز هفتم نگهداری، اسیدیته نمونه LC نسبت به دو نمونه کنترل و LA به طور معنی‌دار ($p<0.05$) افزایش یافت. در روزهای چهاردهم و بیست و یکم نگهداری تفاوت بین میانگین سه تیمار کاملا معنی‌دار ($p<0.05$) بوده و به ترتیب نمونه‌های LC، LA و کنترل دارای بیشترین اسیدیته بودند. روند افزایش اسیدیته در نمونه‌های پنیر مشابه روند کاهش pH بود هر چند که تغییرات اسیدیته بین تیمارها و تفاوت‌های بین آنها بارزتر بود.



شکل ۳- تغییرات اسیدیته نمونه‌های پنیر کنترل (Ctrl)، پنیر پروبیوتیک تهیه شده از *لاکتوباسیلوس کازئی* (LC) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA) در فواصل زمانی یک هفته‌ای نگهداری. داده‌ها میانگین سه بار اندازه گیری (n=3)، بازه‌های خطا معرف انحراف معیار (SD) و حروف لاتین کوچک غیرمشابه مربوط به هر بازه زمانی با تیمارهای مختلف و حروف لاتین بزرگ غیر مشابه مربوط به مقایسه هر تیمار در روزهای مختلف نگهداری، بیانگر اختلاف معنی دار ($p<0.05$) بین میانگین‌ها است.

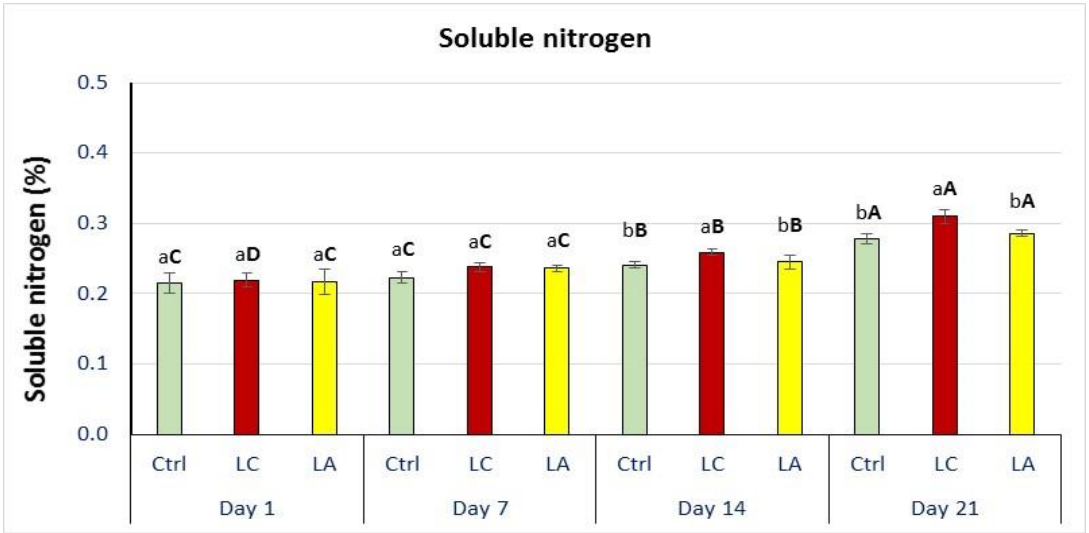
در همه نمونه های پنیر، به ازای زمان نگهداری از روز اول تا بیست و یکم، اسیدیته به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) افزایش یافت. روند افزایش اسیدیته نمونه‌های پنیر در روزهای نگهداری همانند روند کاهش pH در آنها بود. در واقع در هر دو سویه

لاکتوباسیلوس کازئی و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* توسعه اسیدیته و به تبع آن کاهش pH در زمان نگهداری پنیر احتمالا در اثر تخمیر لاکتوز و تولید اسید لاکتیک بیشتر از نمونه فاقد سویه پروبیوتیک بوده است. هر چند که در نمونه کنترل هم روند افزایش اسیدیته در طول زمان کاملا شاخص بود. بنظر می‌رسد با توجه به اینکه پنیر کوراک جزو پنیرهای نرم بوده و رطوبت بالایی دارد و نیز مقدار نمک آن در مقایسه با پنیرهای سنتی ناچیز است، زمینه برای رشد و فعالیت باکتری‌های استارتری و پروبیوتیکی بیشتر از پنیرهای سنتی که دارای ماده خشک و نمک بیشتری هستند، مهیا است.

گزارش شده که اسیدیته پنیر سفید ایرانی پروبیوتیک حاوی سویه‌های *لاکتوباسیلوس رامنوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* درطول نگهداری نسبت به نمونه کنترل که فقط حاوی استارتر کالچر تجارتی بود، افزایش نیافت (Mahmodi, 2010)، که این نتایج با یافته‌های ما در این پژوهش مطابقت ندارد. این محققان عنوان کردند که پایین بودن اسیدیته و بالا بودن pH پنیرهای پروبیوتیک فاقد استارتر تجاری می‌تواند به این دلیل باشد که پروبیوتیک‌ها همانند باکتری‌های استارتر قادر به تخمیر لاکتوز، تولید اسید لاکتیک و کاهش pH نیستند. این امر مشابه یافته های دیگر پژوهشگران است (Sousa et al., 2001; Atasoy & Turkoglu, 2008). همچنین گزارش شده که نوع میکروارگانیسم‌های مورد استفاده، دما و زمان رسیدن تأثیر متقابلی بر توسعه اسیدیته پنیر دارد (McSweeney & Fox, 2004). بنظر می‌رسد که با توجه به اینکه در تولید پنیر کوارک در این پژوهش سویه‌های پروبیوتیک به همراه استارتر کالچر تجاری بطور همزمان مورد استفاده قرار گرفته‌اند لذا اثر تخمیری آنها روی لاکتوز و تولید اسید لاکتیک در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک بیشتر از نمونه کنترل بود.

تغییرات ازت محلول نمونه‌های پنیر

در پنیر کوارک تولید شده در روز اول و هفتم نگهداری تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) بین مقدار ازت محلول نمونه‌ها وجود نداشت (شکل ۴). در روز چهاردهم مقدار ازت محلول در نمونه پنیر LC نسبت به هر دو نمونه LA و کنترل افزایش معنی‌داری ($p<0.05$) یافت. این روند در روز بیست و یکم نگهداری هم دیده شد. نمونه‌های LC با ۰/۳۱۰ ٪، نسبت به نمونه‌های LA با ۰/۲۸۶ ٪ و نمونه کنترل با ۰/۲۷۸ ٪ دارای بیشترین ازت محلول بودند.



شکل ۴- تغییرات ازت محلول نمونه‌های پنیر کنترل (Ctrl)، پنیر پروبیوتیک تهیه شده از *لاکتوباسیلوس کازئی* (LC) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA) در فواصل زمانی یک هفته‌ای نگهداری. داده‌ها میانگین سه بار اندازه گیری (n=3)، بازه‌های خطا معرف انحراف معیار (SD) و حروف لاتین کوچک غیرمشابه مربوط به هر بازه زمانی با تیمارهای مختلف و حروف لاتین بزرگ غیر مشابه مربوط به مقایسه هر تیمار در روزهای مختلف نگهداری، بیانگر اختلاف معنی دار ($p<0.05$) بین میانگین‌ها است.

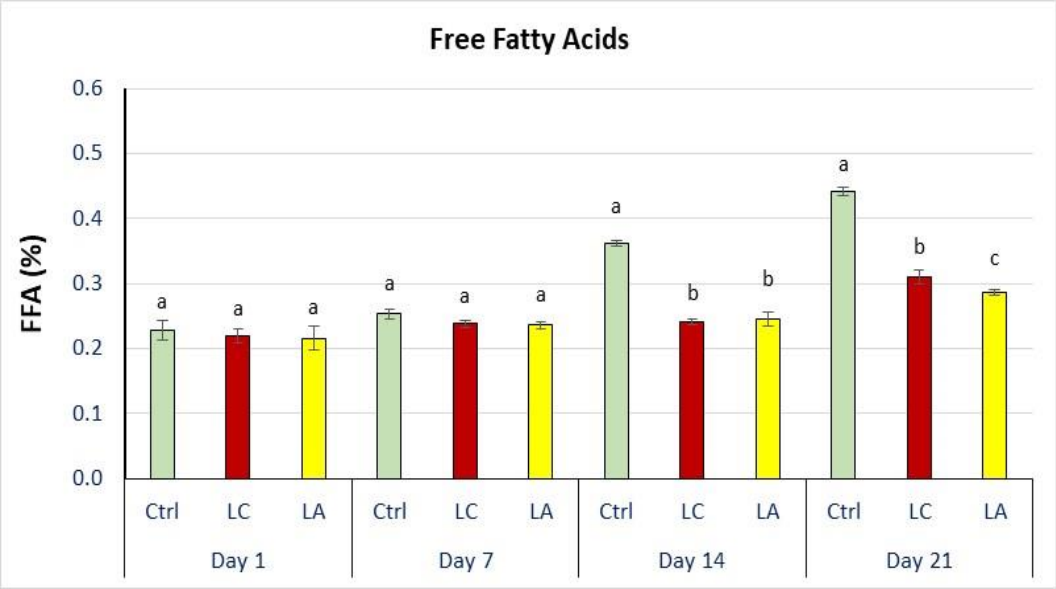
با توجه به اثر متقابل سویه‌های پروبیوتیک با باکتری‌های استارتری پنیر که در این پژوهش بطور همزمان به پنیر تلقیح شدند، فعالیت پروتئولیتیکی این سویه‌ها نسبت به زمانی که فقط از استاتر کالچر استفاده شد، افزایش یافت. در این میان، اثر پروتئولیتیکی سویه *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشتر از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود. در مطالعه‌ای تأثیر سویه‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر خصوصیات پنیر گوسفندی پاستوریزه بررسی و گزارش گردید که زمانی که پنیر بدون سویه‌های پروبیوتیک و فقط با استارتر کالچر تجاری تولید شده بود ازت محلول آن افزایش کمتری نسبت به زمانی که پنیر حاوی

سویه‌های لاکتوباسیلوس بود، داشت. همچنین معلوم شد که افزایش ازت محلول پنیر در مورد سویه *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشتر از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود (Sobhi Sarabi, 2012).

در همه نمونه های پنیر، به ازای زمان نگهداری مقدار ازت محلول به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) افزایش یافت. این افزایش در روزهای اول تا هفتم در مورد نمونه کنترل و پنیر حاوی LA با شدت کمتری (به‌طور غیرمعنی‌دار) بود اما از روز هفتم تا بیست ویکم در همه تیمارهای پنیر ازت محلول به طور معنی‌داری ($p<0.05$) زیاد شد. این نتایج مشابه یافته‌های دیگر پژوهشگران بود که گزارش کردند که ازت محلول پنیر در طول زمان نگهداری افزایش می‌یابد (Sobhi Sarabi, 2012).

تغییرات اسیدهای چرب آزاد (FFA) به عنوان شاخص لیپولیز در نمونه‌های پنیر

نتایج حاصل از آنالیز اسیدهای چرب آزاد در فاز چربی استخراج شده از نمونه‌های پنیر کوارک تهیه شده از سویه‌های میکروبی مختلف در شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵- تغییرات درصد اسیدهای چرب آزاد (شاخص لیپولیز) نمونه‌های پنیر کنترل (Ctrl)، پنیر پروبیوتیک تهیه شده از *لاکتوباسیلوس کازئی* (LC) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA) در فواصل زمانی یک هفته‌ای نگهداری. داده‌ها میانگین سه بار اندازه گیری (n=3)، بازه‌های خطا معرف انحراف معیار (SD) و حروف لاتین غیرمشابه در داخل هر بازه زمانی، بیانگر اختلاف معنی دار ($p<0.05$) بین میانگین‌ها است.

همانطور که از این شکل ملاحظه می‌شود در روزهای اول و هفتم نگهداری تفاوت معنی‌دار ($p<0.05$) بین مقدار اسیدهای چرب آزاد نمونه‌ها دیده نشد. در واقع شاخص لیپولیز پنیر کوارک کنترل با نمونه‌های حاوی سویه های پروبیوتیک تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اما با گذشت زمان تا روز چهاردهم، نمونه کنترل نسبت به دو نمونه پروبیوتیک LC و LA اندیس لیپولیز بیشتری نشان داد. با این وجود، در این روز بین دو نمونه پروبیوتیک تفاوت معنی داری دیده نشد. در روز بیست و یکم نگهداری نمونه کنترل مقدار لیپولیز خیلی بیشتری نسبت به دو نمونه پروبیوتیک نشان داد (۰/۴۴۱ ٪) و بعد از آن نمونه LC (۰/۳۱۰ ٪) و سپس نمونه LA (۰/۲۸۶ ٪) اسیدهای چرب آزاد بیشتری داشتند. در حالت کلی می‌توان گفت که تفاوت در فعالیت لیپولیتیک باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده قابل ملاحظه نبود. همچنین زمانی که باکتری‌های پروبیوتیک به‌طور همزمان با سویه‌های استارتر کالچر تجاری پنیر تلقیح می‌شوند مانع از فعالیت لیپولیتیکی سویه های استارتری می‌شوند، طوری‌که با گذشت زمان ماندگاری پنیر (از هفته دوم به بعد) در غیاب *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* شاخص لیپولیز پنیر کوارک کنترل به طور قابل ملاحظه‌ای زیادتر شد.

هیدرولیز چربی شیر طی تهیه پنیر و رسیدگی به عمل لیپازهای طبیعی شیر، آنزیم‌های لیپولیتیک باکتری‌های آغازگر و غیرآغازگر، لیپازهای باکتری‌های سایکروتروفیک نسبت داده می‌شود. این فرآیند به نوع پنیر و آنزیم‌های خارجی بستگی دارد. اسیدهای چرب تولید شده در ادامه می‌توانند به متیل کتون‌ها و تیواسترها که ترکیبات مسئول عطر و طعم هستند، تبدیل شوند (Sarantinopoulos *et al.*, 2001). همچنین اثر استارترهای تولید کننده اگزو پلی ساکارید بر لیپولیز پنیر UF را مورد بررسی قرار گرفته و گزارش شده که ضمن آنکه اندیس لیپولیز با گذشت زمان

رسیدن پنیر افزایش یافت، اما بین باکتری‌های آغازگر مورد استفاده تفاوت معنی‌داری از حیث شدت لیپولیز وجود نداشت (Zare-Jamshidi & Hesari, 2013). این یافته ها ضمن تأیید نتایج بدست آمده در پژوهش ما، نتایج یافته‌های Sobhi Sarabi (2012) را نیز تأیید کرد. در این پژوهش گزارش شده که اندیس لیپولیز پنیر در نمونه‌های کنترل (فاقد سویه آغازگر) بیشتر از مقدار آن در نمونه‌های پنیر حاوی سویه‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود.

مطالعه تغییرات اندیس لیپولیز نمونه‌های پنیر به تفکیک نوع سویه پروبیوتیک به ازای زمان نگهداری (شکل ۵) نشان داد که در نمونه کنترل افزایش اندیس لیپولیز به ازای زمان نگهداری شدیدتر از دو نمونه پنیر LC و LA بود. در خصوص پنیرهای پروبیوتیک تنها در زمان ۲۱ روز نگهداری شاخص لیپولیز افزایش معنی‌داری نشان داد. از این نتایج می‌توان عنوان کرد که پنیرهای حاوی هر دو نوع سویه پروبیوتیک مورد استفاده در این تحقیق، در هفته های اول و دوم دستخوش تغییرات لیپولیتیک نشدند.

نتایج آزمون‌های میکروبی

شمارش باکتری‌های کلی‌فرم

نتایج شمارش باکتری‌های کلی‌فرم در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک در مقایسه با نمونه کنترل در روزهای نگهداری مختلف در جدول ۳ آمده است. همانطور که از این جدول ملاحظه می‌شود شمارش باکتری‌های کلی‌فرم در نمونه پنیر کوارک کنترل در تمام روزهای نگهداری به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) بیشتر از شمارش آن در پنیرهای پروبیوتیک بود. با این وجود تعداد کلیفرم‌ها در همه نمونه‌های پنیر کنترل و بویژه پنیرهای پروبیوتیک ناچیز و کمتر از ۱۰ cfu/g بود. با توجه به اینکه پنیر کوارک تولید شده از شیر پاستوریزه و در شرایط کاملا بهداشتی تهیه شد انتظار می‌رفت که باکتری‌های کلیفرم در تمام پنیرهای تولیدی منفی باشد. تعداد بسیار کم (بین ۳ تا ۸ cfu/g) کلنی‌های شمارش شده نمونه‌های مختلف پنیر نیز احتمالا مربوط به آلودگی ثانویه ظروف و تجهیزات تهیه پنیر می تواند باشد.

جدول ۳- نتایج شمارش کلی‌فرم‌ها، کپک و مخمرها و لاکتوباسیل‌ها در نمونه‌های پنیر کوارک پروبیوتیک و نمونه کنترل نگهداری شده در دمای یخچال – مقایسه بین تیمارهای مختلف در یک زمان مشخص

		کلیفرم‌ها		کپک و مخمرها		لاکتوباسیل ها	
		mean	SD	mean	SD	mean	SD
Day 1	Ctrl	۰/۹۵ ^{a}	۰/۱۵	۰/۹۰ ^{a}	۰/۰۵	-	-
	LC	۰/۶۰ ^{b}	۰/۰۹	۰/۶۰ ^{b}	۰/۰۷	^{a}۸/۶۰	۰/۲۵
	LA	۰/۷۰ ^{b}	۰/۰۸	۰/۷۷ ^{b}	۰/۰۵	^{a}۸/۵۰	۰/۲۷
Day 7	Ctrl	۰/۷۷ ^{a}	۰/۰۸	۱/۱۸ ^{a}	۰/۱۲	-	-
	LC	۰/۴۸ ^{b}	۰/۱۱	۰/۷۷ ^{b}	۰/۰۹	^{a}۸/۷۰	۰/۳۶
	LA	۰/۶۰ ^{b}	۰/۱۵	۰/۸۴ ^{b}	۰/۱۳	^{a}۸/۶۳	۰/۲۵
Day 14	Ctrl	۰/۷۷ ^{a}	۰/۰۵	۱/۴۸ ^{a}	۰/۱۵	-	-
	LC	۰/۴۸ ^{c}	۰/۰۷	۰/۷۷ ^{b}	۰/۰۹	^{a}۸/۵۴	۰/۱۸
	LA	۰/۷۰ ^{b}	۰/۰۵	۰/۹۵ ^{b}	۰/۰۸	^{a}۸/۳۴	۰/۳۴
Day 21	Ctrl	۰/۷۰ ^{a}	۰/۱۲	۱/۸۵ ^{a}	۰/۰۸	-	-
	LC	۰/۴۸ ^{b}	۰/۰۹	۰/۸۴ ^{b}	۰/۱۱	^{a}۸/۱۴	۰/۳۰
	LA	۰/۶۰ ^{a}	۰/۱۳	۰/۸۴ ^{b}	۰/۰۸	^{a}۸/۲۰	۰/۲۷

داده‌های جدول میانگین سه بار اندازه گیری (n=3) است. حروف لاتین غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار ($p<0.05$) بین میانگین‌ها در داخل هر بازه زمانی مشخص به صورت مجزا است.

نتایج این پژوهش مشابه یافته‌های Zakrzewski *et al.*, (1991) بود که شمارش کلیفرم ها در پنیر کوارک را ناچیز یا منفی گزارش کردند. در پژوهش دیگری نیز گزارش گردید که در پنیر کوارک نگهداری شده در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد بمدت ۶ هفته، تعداد کلیفرم‌ها ناچیز بود (Sohal *et al.*, 1988). Sobhi Sarabi (2012) نیز گزارش کردند که به غیر از پنیرگوسفندی کنترل، شمارش کلیفرم‌ها در پنیرهای تلقیح شده با سویه‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ناچیز و در حدود زیر ۱۰ cfu/g بود.

شمارش کپک و مخمرها

نتایج شمارش کپک و مخمر در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک در مقایسه با نمونه کنترل در روزهای نگهداری مختلف در جدول ۳ آمده است. همانطورکه ملاحظه می‌شود در هر بازه زمانی مورد

اندازه‌گیری، تعداد کپک و مخمر پنیرهای کنترل به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) بیشتر از نمونه‌های پروبیوتیک بود. بین نمونه‌های پروبیوتیک در هر بازه زمانی نیز اختلاف معنی‌داری از لحاظ کپک و مخمرها مشاهده نشد. نتایج ما مشابه یافته‌های Sobhi Sarabi (2012) بود که گزارش کردند که در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک تلقیح شده با سویه‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* تعداد کپک و مخمر در همه روزهای نگهداری پنیر به‌طور معنی داری کمتر از پنیر پنیر پاستوریزه فاقد سویه‌های پروبیوتیک بود. دلیل پایین بودن تعداد کلنی‌های مربوط به کپک و مخمر در نمونه‌های پنیر کوارک پروبیوتیک نسبت به نمونه پنیر کنترل، احتمالا مربوط به اثر بازدارندگی باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری های اسیدلاکتیک موجود در پنیر پروبیوتیک بر رشد میکروارگانیسم‌ها باشد. در مطالعه‌ای گزارش شده که پپتیدهای خاص تولید شده توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک قادر به مهار رشد میکروارگانیسم‌های مضر در فراورده‌های تخمیری و لبنی هستند (Ljungh & Wadström, 2006). این محققان همچنین گزارش کردند که میکروارگانیسم‌های پاتوژن گوارشی نظیر *هلیکوباکتر پیلوری* توسط پروتئین‌های خاص ترشح شده توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مهار شده‌اند.

جدول ۴ اثر زمان نگهداری بر رشد کپک و مخمرها در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک در مقایسه با نمونه کنترل را نشان می‌دهد. تعداد کپک و مخمر در نمونه کنترل با افزایش زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک با افزایش زمان نگهداری یک افزایش جزئی در تعداد کپک و مخمر مشاهده شد، اما این اختلاف معنی دار ($p<0.05$) نبود.

جدول ۴- نتایج شمارش کلی‌فرم‌ها، کپک و مخمرها و لاکتوباسیل‌ها در نمونه‌های پنیر کوارک پروبیوتیک و نمونه کنترل نگهداری شده در دمای یخچال – مقایسه یک تیمار در زمان‌های نگهداری مختلف

		کلیفرم‌ها		کپک و مخمرها		لاکتوباسیل ها	
		mean	SD	mean	SD	mean	SD
Ctrl	Day 1	۰/۹۵^{a}	۰/۱۵	۰/۹۰^{d}	۰/۰۵	-	-
	Day 7	۰/۷۷^{a}	۰/۰۸	۱/۱۸^{c}	۰/۱۲	-	-
	Day 14	۰/۷۷^{a}	۰/۰۵	۱/۴۸^{b}	۰/۱۵	-	-
	Day 21	۰/۷۰^{a}	۰/۱۲	۱/۸۵^{a}	۰/۰۸	-	-
LC	Day 1	۰/۶۰^{a}	۰/۰۹	۰/۶۰^{a}	۰/۰۷	۸/۶۰^{a}	۰/۲۵
	Day 7	۰/۴۸^{a}	۰/۱۱	۰/۷۷^{a}	۰/۰۹	۸/۷۰^{a}	۰/۳۶
	Day 14	۰/۴۸^{a}	۰/۱۱	۰/۷۷^{a}	۰/۰۹	۸/۵۴^{a}	۰/۱۸
	Day 21	۰/۴۸^{a}	۰/۰۹	۰/۸۴^{a}	۰/۱۱	۸/۱۴^{a}	۰/۳۰
LA	Day 1	۰/۷۰^{a}	۰/۰۸	۰/۷۷^{a}	۰/۰۵	۸/۵۰^{a}	۰/۲۷
	Day 7	۰/۶۰^{a}	۰/۱۵	۰/۸۴^{a}	۰/۱۳	۸/۶۳^{a}	۰/۲۵
	Day 14	۰/۷۰^{a}	۰/۰۵	۰/۹۵^{a}	۰/۰۸	۸/۳۴^{a}	۰/۳۴
	Day 21	۰/۶۰^{a}	۰/۱۳	۰/۸۴^{a}	۰/۰۸	۸/۲۰^{a}	۰/۲۷

داده‌های جدول میانگین سه بار اندازه گیری ($n=3$) است. حروف لاتین غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار ($p<0.05$) بین میانگین‌ها در زمانهای نگهداری اول تا بیست و یکم (در هر ستون) مربوط به هر نمونه پنیر است.

این نتایج مغایر با یافته‌های Sobhi Sarabi (2012) در مورد پنیر گوسفندی پاستوریزه تلقیح شده با سویه‌های پروبیوتیک بود که نشان دادند به ازای زمان رسیدن پنیر از ۱ تا ۴۵ روز در نمونه پنیرهای تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس کازئی* تعداد کپک و مخمر از ۱ تا ۲/۵ log CFU/g افزایش یافت.

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

نتایج شمارش لاکتوباسیل‌ها در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک در روزهای نگهداری مختلف در جدول ۴ آمده است. این جدول نشان دهنده تعداد اولیه لاکتوباسیل‌های تلقیح شده می‌باشد که در روز اول ارزیابی تعداد هر دو باکتری تلقیح شده ۸/۵ تا ۸/۶ log CFU/g بود. همانطور که از جدول ۴ ملاحظه می‌شود زمان ماندگاری پنیر تا ۲۱ روز اثر معنی داری ($p<0.05$) بر کاهش یا افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها نداشت و در مورد هر دو باکتری تعداد باکتری‌های شمارش شده بالاتر از ۸ log CFU/g باقی ماند.

پنیر کوارک به دلیل داشتن pH نسبتا بالا (۴/۵) (نسبت به سایر محصولات لبنی مانند ماست و دوغ)، رطوبت بالا (بالای ۶۵ درصد) و نیز چربی نسبتا بالا (حدود ۷ تا ۱۰ درصد) که نقش محافظتی بر حفظ لاکتوباسیل‌ها دارد می‌تواند بستر مناسبی برای حفظ و انتقال باکتری‌های پروبیوتیک به بدن انسان باشد. محققان

متعددی گزارش کردند که تعداد لاکتوباسیل‌ها در پنیر تازه در حد قابل قبول آنها برای پروبیوتیک بودن به تعداد ۷ تا ۹ log CFU/g حفظ شده و اینکه پنیرهای تازه مانند پنیر کوارک حامل خوبی برای انتقال باکتری‌های پروبیوتیک به بدن انسان هستند (Buriti *et al*., 2007; Gomes & Malcata, 1999; Vinderola *et al*., 2000). در پژوهشی گزارش شده که تعداد باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در پنیر کوارک به ازای زمان نگهداری افزایش یافت و در طول کل مدت زمان نگهداری پنیر تا ۳۰ روز تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک کمتر از ۷ log CFU/g نبود (Kadiya *et al*., 2014). همچنین گزارش شده که تعداد باکتری های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در طول نگهداری پنیر سفید گوسفندی بمدت ۶۰ روز افزایش معنی‌داری یافته و از حدود ۶ log CFU/g در زمان تولید به حدود ۱۰ log CFU/g در پایان مدت نگهداری رسید (Sobhi Sarabi, 2012) . همچنین نشان داده شده که تعداد باکتری‌های پروبویتیک *بیفیدوباکتریوم لانگوم* در پنیر کوارک پروبیوتیک از ۶/۵ در زمان تلقیح به ۷/۶ log CFU/g در پایان زمان نگهداری رسید (Song *et al*., 2017). چند فاکتور هنگام افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به مواد غذایی تخمیری مانند پنیر باید مدنظر قرار گیرد. عمدتا، تعداد باکتری-های تلقیح شده در محصول باید طوری باشد که هنگام مصرف محصول تعداد آنها در حداکثر خود باشد تا مزایای مورد نظر از مصرف محصولات پروبیوتیک تأمین گردد (Song *et al*., 2017). برای تأمین حداکثر مزایای پروبیوتیکی، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در یک محصول لبنی هنگام مصرف باید حداقل 10^6 تا 10^7 CFU/g باشد و این محصول لبنی باید بطور منظم روزانه ۱۰۰ گرم مصرف شود (Boylston *et al*., 2004; Gomes & Malcata, 1999).

نتیجه گیری

خصوصیات مورد آنالیز پنیر مانند پروتئین، چربی، خاکستر، کربوهیدرات کل، pH و اسیدیته (بر حسب اسید لاکتیک) در روز اول، بین نمونه‌های پروبیوتیک و کنترل تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) نداشتند. از روز هفتم نگهداری تا روز بیست و یکم pH پنیر کوارک پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* (LC) نسبت به نمونه کنترل و نیز پنیر کوارک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA) به طور محسوس کاهش یافت. در پنیر کوارک که جزو پنیرهای تازه است عامل مهم در کاهش pH احتمالا بیشتر مربوط به تولید اسید لاکتیک است. در همه زمان‌های نگهداری نمونه‌های LC کمترین pH را نسبت به سایرین داشت. که این امر به توانایی تولید اسید بیشتر نمونه LC نسبت به LA بر می‌گردد که باعث کاهش بیشتر pH پنیر شده است. در همه پنیرهای مورد آزمون با گذشت زمان، pH به‌طور معنی داری کاهش یافت. از روز هفتم تا بیست و یکم نگهداری، اسیدیته نمونه LC نسبت به دو نمونه کنترل و LA به طور معنی‌داری ($p<0.05$) افزایش یافت. در هر دو سویه LC و LA توسعه اسیدیته و به تبع آن کاهش pH در زمان نگهداری پنیر بیشتر از نمونه فاقد سویه پروبیوتیک بود. نتایج اندازه‌گیری ازت محلول نشان داد که در هفته‌های اول و دوم نگهداری تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) بین نمونه‌های پنیر وجود نداشت. در هفته سوم مقدار ازت محلول در نمونه پنیر LC نسبت به هر دو نمونه LA و کنترل افزایش معنی-داری ($p<0.05$) یافت که نشان‌دهنده پروتئولیز اولیه کازئین بود. در همه نمونه‌های پنیر، به ازای زمان نگهداری از روز هفتم تا بیست و یکم مقدار ازت محلول به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) افزایش یافت. در بررسی شاخص لیپولیز نیز معلوم شد که در روزهای اول و هفتم نگهداری بین شاخص لیپولیز پنیر کوارک کنترل با نمونه‌های حاوی سویه‌های پروبیوتیک تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) وجود نداشت. اما با گذشت زمان تا روز ۱۴، نمونه کنترل نسبت به دو نمونه پروبیوتیک LC و LA اندیس لیپولیز بیشتری نشان داد. در حالت کلی می‌توان گفت که تفاوت در فعالیت لیپولیتیک باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده قابل ملاحظه نبود. نتایج بررسی ویژگی‌های میکروبی نمونه‌های پنیر کوارک نشان داد که تعداد کلیفرم‌ها در همه نمونه‌های پنیر کنترل و بویژه پنیرهای پروبیوتیک ناچیز و کمتر از ۱۰ cfu/g بود. در هر بازه زمانی مورد اندازه‌گیری، تعداد کپک و مخمر پنیرهای کنترل به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) بیشتر از نمونه‌های پروبیوتیک بود. نتایج شمارش لاکتوباسیل‌ها در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک نشان داد که در روز اول ارزیابی تعداد هر دو باکتری تلقیح شده ۸/۵ تا ۸/۶ log CFU/g بود. زمان ماندگاری پنیر تا ۲۱ روز اثر معنی داری بر کاهش یا افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها نداشت و در مورد هر دو باکتری تعداد باکتری‌های شمارش شده بالاتر از ۸ log CFU/g باقی ماند. پنیر کوارک به دلیل داشتن pH نسبتا بالا (۴/۵) و اسیدیته قابل تیتر کم‌تر (نسبت به سایر محصولات لبنی مانند ماست و دوغ)، ظرفیت بافری بالاتر، رطوبت بالا (بالای ۶۵ درصد) و نیز چربی نسبتا بالا (حدود ۷ تا ۱۰ درصد) که نقش محافظتی بر حفظ لاکتوباسیل‌ها دارد می‌تواند بستر مناسبی برای حفظ و انتقال باکتری‌های پروبیوتیک به بدن انسان باشد. این عوامل باعث افزایش پایداری و بقای پروبیوتیک ها در پنیر می شود. در نمونه‌های پنیر تلقیح شده با لاکتوباسیل‌ها در مدت زمان

نگهداری تا ۲۱ روز، رشد کپک مخمرها به طور معنی‌داری کمتر از تعداد آنها در نمونه کنترل بود. در نتیجه این مدت زمان نگهداری از لحاظ ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی در خصوص پنیر کوارک پروبیوتیک مشکلی ایجاد نکرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از مدیریت و پرسنل محترم شرکت پگاه تبریز بخاطر همکاری‌های ارزنده در به ثمر رسیدن این پژوهش اعلام می‌دارند.

REFERENCES

AOAC, Association of Official Analytical Chemist. (2000). Official methods of analysis Washington. D. C.

Atasoy, A. F. & Turkoglu, H. (2008). Changes of composition and free fatty acid content of Urfa cheeses (a white-brined Turkish cheese) during ripening: Effect of heat treatments and starter cultures. *Food Chemistry*, 110, 598-604.

Bergamini, C. V., Hynes, E. R., Quiberoni, A., Suarez, V. B. & Zalazar 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, 597–604.

Bomba, A., Nemcova, R., Mudronova, D., & Guba, P. (2002). The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends in Food Science and Technology* 13(4), 121-126.

Boylston, T. D., Vinderola, C. G., Ghoddusi, H. B. & Reinheimer, J. A. (2004). Incorporation of *bifidobacteria* into cheeses: challenges and rewards. *International Dairy Journal* 14, 375-387.

Buriti, F. C. A., Okazaki, T. Y., Alegro, J. H. A. & Saad S. M. I. (2007). Effect of a probiotic mixed culture on texture profile and sensory performance of Mina's fresh cheese in comparison with the traditional products. *Archivos Latino Americanos De Nutricion* 57(2), 179-185

Djurić, M. S., Ilićić, M. D., Milanović, S.D., Carić, M. D. & Tekić, M. N. (2007). Nutritive characteristics of probiotic Quarg as influenced by type of starter. *Acta Periodica Technologica* 38,11-19.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2000). *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg, Aspen: Wiley

Fuller, R. (1997). Probiotics 2: application and practical aspects. London: Chapman and Hall

Gardiner, G., Ross, R. P., Wallace, J. M., Scanlan, F. P., Jagers, P. P.J. M., Fitzerald, G., Collins, J. K. & Stanton, C. (1999). Influence of a probiotic adjunct culture of *Enterococcus faecium* on the quality of Cheddar cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4907-4916.

Gibson, G. R. & Fuller, R. (1998). The role of probiotics and probiotics in the functional food concept. In: M. J. Sadler & M. Slatmarsh (Eds.), *Functional foods: The consumer, the products and the evidence* (pp. 3-14), Cambridge: Royal Society of Chemistry.

Gomes, A. M. P. & Malcata, F. X. (1999). *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 139-157.

ISIRI. 1968. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Determination of cheese and processed cheese fat content (Reference method). *ISIRI* number 760.

ISIRI. 1977. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Determination of the ash content of processed cheese. *ISIRI* number 1755.

ISIRI. 2002. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Cheese and processed cheese-determination of total solids (Reference method).*ISIRI* number 1753.

ISIRI. 2006. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and dairy products: Determination of fat acidity and pH. *ISIRI* number 2852.

ISIRI. 2007. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding- Horizontal method for the enumeration of coliforms- Colony count technique. *ISIRI* number 9263.

ISIRI. 2007. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding- Horizontal method for the enumeration of yeast and molds. *ISIRI* number 10899.

ISIRI. 2015. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and dairy products: Determination of nitrogen content- Part 1: calculation of crude protein using Kjeldahl method. *ISIRI* number 9188-1.

Kadiya, K.S., Kanawjia, S. K. & Solanki, A. K. (2014). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of Quarg cheese. *International Journal of Fermented Foods*, 3(1), 61-76.

Karimi, R., Sohrabvandi, S. & Mortazavian, A., M. (2012). Review Article: Sensory characteristics of probiotic cheese. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 437-452.

Kroger, M. (1980). The manufacture of Quarg cheese. *Cultured Dairy Products Journal* 15(3), 11-14

Kuchroo, C. N. & Fox, P. F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Michwissenchaft*, 37, 331-335.

Ljungh, A. & Wadström, T. (2006). Lactic acid bacteria as probiotics. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 7(2), 73-89.

Mahmodi, M. (2010). *The influence of probiotic bacteria on the properties of Iranian white cheese*. M Sc. thesis, Urmia University. Urmia, Iran. (In Persian).

Mara, O. & Kelly A. L. (1998). Contribution of milk enzymes, starter and rennet to proteolysis during storage of Quarg. *International Dairy Journal*, 8, 973-979.

McSweeney, P. L. H. & Fox, P. F. (2004). Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, M. C. Timothy, & P. G. Timothy (Eds.) 3rd Ed.. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. (pp. 361-371). London: Elsevier Academic Press.

Milanović, S. D., Panić, M. D. & Carić, M. D. (2004). Quality of Quarg produced by probiotics application. *Acta Periodica Technologica*, 35, 37-48.

Nouira, W., Park, Y. W., Guler, Z. & Terrill, T. (2011). Comparison of free fatty acid composition between low-fat and full-fat goat milk cheeses stored for 3 months under refrigeration. *Open Journal of Animal Sciences*, 1(2), 17-23.

Oliveira, R. P. S., Florence, A. C. R., Silva, R. C., Perego, P. & Converti A. (2009). Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profile in nonfat symbiotic fermented milk. *International Journal of Microbiology*, 128, 467-472.

Renner, E. (1993). Nutritional aspects of cheese. In: *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, (Vol. 1). (pp: 557-559.). London: Elsevier Academic Press.

Saad, S. M. I. (2006). Probiotics and prebiotics: the state of the art. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(1),1-16.

Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M. D., Rea, M. C., Lombardi, A., Cogan, T. M., Kalantzopoulos, G. & Tsakalidou, E. (2001). Biochemical properties of *enterococci* relevant to their technological performance. *International Dairy Journal*, 11, 621-647.

Shah, N. P. (2007). Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*, 17(11), 1262-1277.

Schulz, D., Senge, B. & Krenkel, K. (1999). Investigations into the combined enzymatic and lactic acid milk coagulation. *Milchwissenschaft*, 54, 363-367

Sobhi Sarabi, Y. (2012). Effects of Lactobacillus casei and L. plantarum strains isolated from traditional Lighvan cheese on pasteurized sheep's cheese. M Sc. Thesis, University of Tabriz, Tabriz, Iran. (In Persian)

Sohal, T. S., Roehl, D. & Jelen, P. (1988). Rennet as a cause of bitterness development in Quarg. *Journal of Dairy Science*, 71, 3188-3196.

Song, M., Park, W. S., Yoo, J., Han, G., Kim, B., Seong, P., Oh, M., Kim, K. & Jam, J. (2017). Characteristics of Kwark cheese supplemented with *Bifidobacterium longum* KACC 91563. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37 (5), 773-779

Sousa, M. J., Adro, Y. & McSweeney, P. L. H. (2001). Advances in in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal* 11, 327-345.

Sulieman, A. M. E., Mohamed Ali, R. A. & Abdel Razig, K. A. (2012). Production and effect of storage in the chemical composition of Mozzarella cheese. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2(3), 21-26.

Vinderola, C. G., Prosello, W., Ghiberto, D. & Reinheimer, J. A. (2000). Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei)* and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, 83(9), 1905-1911.

Zare-Jamshidi, N & Hesari, J. (2013). The effect of exopolysaccharid –producing starters on the proteolysis and lipolysis of the ultrafiltered white cheese. *Food Science Research*, 23(2), 249-257. (In Persian)

Zakrzewski, E, Stepaniak, L., Abrahamsen R. K. & Sorhaug, T. (1991). Effect of thermization on the quality of Quarg. *International Dairy Journal*, 1, 199-208.

Zisu, B. & Shah, N. P. (2005). Textural and functional changes in low-fat Mozzarella cheeses in relation to proteolysis and microstructure as influenced by the use of fat replacers, pre-acidification and EPS starter. *International Dairy Journal* 15, 957–972.