بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبیولوژیکی پنیر چدار پروبیوتیک طی دوره نگهداری

لیلا ناطقی*

استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۵ تاریخ پذیرش:۹۵/۱۲/۳

چکیده

میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک سبب بهبود تعادل فلور میکروبی روده گردیده و از رشد میکروارگانیسم‌های مضر جلوگیری می کنند. در این تحقیق خصوصیات فیزیکوشیمیایی، درصد ازت غیرپروتئینی(NPN)، حسی و قابلیت زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک بکار رفته در پنیر چدار طی ۶۰ روز نگهداری در دمای ۸ درجه‌سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار گرفت. چهار تیمار مطابق با طرح کاملا تصادفی شامل پنیر چدار حاوی 10^8 cfu/g، *لاکتوباسیلوس کازئی* (LC) و 10^8 cfu/g، *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* (LH) و (10^4+10^4) cfu/g مخلوط *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* (LC+LH) و تیمار شاهد (پنیر چدار بدون پروبیوتیک) طراحی گردید. نتایج نشان داد استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک اثر معنی‌داری روی خواص فیزیکوشیمیایی پنیرهای چدار بلافاصله پس از تولید نداشته است. مطابق با نتایج میزان NPN طی دوره رسیدن در همه نمونه‌ها افزایش یافت ولی این افزایش در نمونه‌های تلقیح شده با LH به شکل معنی‌داری نسبت به سایر نمونه‌های مورد آزمایش بیشتر بود. نتایج آزمون pH نشان داد که pH تا روز بیستم کاهش و سپس از روز بیستم تا شصتم افزایش داشت. نتایج حاصل از آزمون زنده‌مانی نشان داد که در کلیه نمونه‌های مورد آزمون میکروارگانیسم پروبیوتیک تا روز ۶۰ زنده باقی ماندند اما این زنده مانی به طور معنی‌داری در نمونه تلقیح شده با LC+LH، بالاتر از دیگر نمونه‌ها بود که حاصل از اثر سینرژیستی *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* بود. بالاترین امتیاز پذیرش کلی در آزمون حسی مربوط به تیمار پنیر چدار LC+LH بود. لذا پنیر چدار پروبیوتیک حاوی LC+LH به‌عنوان تیمار برتر از لحاظ خصوصیات حسی و تغذیه‌ای انتخاب گردید.

واژه های کلیدی : پنیر چدار، ، پروبیوتیک، رسیدن پنیر ، زنده مانی، NPN

* مسوول مکاتبات: leylanateghi@yahoo.com

۱- مقدمه

پنیر چدار برای اولین بار در روستایی بنام سامرست در انگلستان در قرن ۱۶ میلادی تولید شد و امروزه یکی از محبوبترین پنیرهای تولید شده در دنیا است (۲۹). پنیرها منبع غذایی بسیار خوبی از پروتئین، ویتامین‌ها و مواد معدنی مانند کلسیم هستند(۳۱). با توجه به اینکه امروزه مصرف کنندگان علاوه بر کیفیت و سلامت مواد غذایی به افزایش ارزش تغذیه‌ای و اثرات سلامت بخش آن نیز توجه بسیار دارند بنابراین تقاضا برای تولید مواد غذایی عملگرا افزایش یافته است (۱۸).

باکتری‌های پروبیوتیک به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده‌ای معرفی می‌گردند که بعد از مصرف مقدار کافی سبب اعمال فواید سلامتی در انسان می‌گردند. پروبیوتیک‌ها باعث کاهش عدم تحمل لاکتوز، درمان اسهال، خواص ضد سرطانی کاهش کلسترول خون و بهبود سیستم ایمنی در بدن می‌گردند(۳۰). برای اثر بخشی فواید پروبیوتیک باید تعداد آن حداقل $۱۰^{۷}$ سلول زنده در هر گرم محصول باشد برای همین بررسی در تغییر تعداد باکتری‌های زنده در طول مدت نگهداری محصول بسیار حائز اهمیت می‌باشد(۳۱و۳۰). محصولات متنوعی از جمله شیر، بستنی، ماست، آبمیوه، می‌تواند به‌عنوان حامل پروبیوتیک واقع گردند. اما این محصولات با چالش‌های متعددی برای نگهداری باکتری‌های پروبیوتیکی روبه‌رو هستند این چالش‌ها شامل pH پایین در ماست تخمیر شده، شرایط هوازی تولید و بسته‌بندی، حضور $H_۲O_۲$ توسط باکتری‌های آغازگر سبب کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در محصول نهایی می‌گردد (۲۷). پنیر با توجه به pH بالاتر و ثبات بیشتر شبکه جامدش و محتوای بالای چربی آن می‌تواند قابلیت بیشتری در حفاظت باکتری‌های پروبیوتیکی طی دوره نگهداری، حین عبور از دستگاه گوارش و تحویل آن‌ها به روده نسبت به دیگر محصولات پروبیوتیکی از جمله ماست و شیرهای تخمیری داشته باشد (۱۹). از آن‌جایی‌که بافت پنیر محل خوبی برای محافظت از باکتری‌های پروبیوتیکی می‌باشد بنابراین استفاده از پروبیوتیک‌ها در پنیر فرصت بزرگی را برای تولید غذاهای فراسودمند ایجاد کرده است (۲۸). مزیت دیگر استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک این است که پروبیوتیک‌ها قادرند با افزایش پروتئولیز کمک قابل توجهی به رسیدن پنیر چدار بخصوص در شکل‌گیری پپتیدهای کوچک و اسیدهای‌آمینه با جرم مولکولی کم کنند (۲۰). فرآیند رسیدن پنیر چدار یک فرآیند طولانی و پرهزینه است ازاین‌رو هرگونه کاهش در زمان رسیدن پنیر بدون اینکه تاثیری بر عطر و طعم و بافت آن داشته باشد قابل توجه می‌باشد. واکنش‌های بیوشیمیایی که تولید ترکیبات عطر و طعم در پنیر می‌کنند با افزایش درجه حرارت و استفاده از کشت آغازگر اضافی افزایش یافته که یک روش تکنولوژی ساده برای رسیدن پنیر محسوب می‌گردد (۲۶).تحقیقات نشان داده است که *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* در طی رسیدن پنیر چدار

منجر به افزایش پروتئولیز و بهبود عطر و طعم پنیر می‌گردد (۲۵). مطالعات انجام شده توسط دراک* و همکاران (۱۹۹۷)، نشان داد که نمونه‌های پنیر چدار حاوی *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس*† پروتئولیز بیشتر و تلخی کمتری را در مقایسه با نمونه شاهد نشان دادند(۱۷). مطابق با نتایج اونگ‡ و همکاران (۲۰۰۷) افزودن کشت *لاکتوباسیلوس کازئی*§ باعث افزایش شدت عطر و پروتئولیز در نمونه‌های پنیر چدار گردید(۲۸). از آن‌جایی‌که مصرف‌کنندگان پنیر در نقاط مختلف جهان عطر و طعم‌های متفاوتی را ترجیح می‌دهند. بنابراین درک درستی از توسعه و تغییراتی که در عطر و طعم در طول رسیدن پنیر چدار رخ می‌دهد ابزار مهمی در برآورده کردن انتظارات مردم می‌باشد .

در طول ساخت و رسیدن پنیر یک هماهنگی عالی و ظریف بین مجموعه‌ای از وقایع بیوشیمیایی، که به صورت متوالی و همزمان رخ می‌دهد منجر به تولید محصولی با رایحه مناسب می‌شود. ولی درصورت عدم تعادل بین واکنش‌های

* Drake
† *Lactobacillus Helveticus*
‡ Ong
§ *Lactobacillus casei*

بیوشیمیایی مذکور رایحه نامطبوع در محصول ایجاد می‌گردد. بنابراین دستیابی به فرمولاسیون پنیر چدار پروبیوتیکی که علاوه بر داشتن کیفیت لازم و خواص سلامت بخشی عطر و طعم مورد پسند مصرف کننده را طی زمان کوتاهتری تامین نماید ضرروی به نظر می‌رسد. لذا هدف از این پژوهش بررسی خواص فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبیولوژی پنیر چدار حاوی گونه‌های *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* به‌صورت منفرد و ترکیبی طی ۶۰ روز دوره رسیدن در دمای ۸ درجه‌سانتی‌گراد و مقایسه آن با شاهد و تعین فرمولاسیون مناسب جهت تولید پنیر چدار پروبیوتیک بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

شیر تازه ۳/۵ درصد چربی از شرکت تولیدی دامداران (شهریار) تهیه شد. کشت آغازگر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و کشت آغازگر مزوفیل (DVS, R-704) و رنت (مشتق شده از کیموزین) از شرکت کریستین هانسن* دانمارک خریداری شد و سایر مواد شیمیایی از شرکت مرک† آلمان تهیه گردید.

۲-۲- تولید پنیر چدار

پنیرهای چدار مطابق با روش آواد‡ و همکاران (۲۰۰۵) به روش زیرتهیه گردیدند(۹). در ابتدا شیر ۳/۵ درصد چربی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه‌سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه بن‌ماری پاستوریزه شد. پس از تثبیت دما در ۳۲ درجه‌سانتی‌گراد کشت آغازگر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* به صورت منفرد با غلظت 10^8 cfu/g، و مخلوط *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* هر کدام در غلظت 10^4 cfu/g (مجموعا 10^8 cfu/g) همراه با کشت آغازگر مزوفیل به میزان (۰/۰۱۵ گرم بر کیلوگرم) به شیر پنیرسازی اضافه شدند و کاملاً هم زده شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگهداری شدند. نمونه شاهد بدون میکروارگانیسم پروبیوتیک، و فقط حاوی کشت آغازگر مزوفیل تهیه گردید. سپس مایه‌پنیر رنت به مقدار ۲/۵ درصد به شیر اضافه گردید و به مدت ۲ دقیقه به‌آرامی هم زده شد تا رنت به‌طور کامل پخش شود و ۴۵ دقیقه شیرهای حاوی کشت آغازگر و رنت در حالت ساکن در دمای ۳۲ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از ۴۵ دقیقه استراحت لخته‌ها تشکیل گردید. سپس لخته‌ها به‌آرامی به ابعاد ۱ سانتی‌متر مکعب برش داده شدند و به لخته‌های برش خورده ۱۵ دقیقه زمان داده شد تا ته‌نشین شوند. سپس درجه حرارت ظرف را توسط بن ماری طی مدت ۳۰ دقیقه از ۳۰ به ۳۹ درجه‌سانتیگراد رسانیده و در دمای ۳۹ درجه به مدت ۱۵ دقیقه نگه‌داشته شد. مخلوط لخته‌ها و آب‌پنیر به‌وسیله توری جدا گردید و عملیات چدارینگ تا pH= ۵/۴۲ ادامه داده شد و بعد لخته‌ها به ابعاد کوچکی (۰/۵×۰/۵×۰/۵) برش داده شدند و به لخته‌ها به میزان ۰/۲۰ درصد وزنی/وزنی نمک زده شد. لخته‌های پنیر تحت نیروی پرس ۱۰ کیلوگرمی به مدت ۱۲ ساعت فشرده شدند و سپس در کیسه‌های وکیوم بسته‌بندی و در انکوباتور یخچال‌دار در دمای ۸ درجه‌سانتیگراد به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. آزمون‌های مورد نظر روی پنیرهای مورد آزمون در روزهای صفر، ۲۰،۴۰ و ۶۰ انجام گردید.

۲-۳- ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری رطوبت، خاکستر، چربی و pH توسط استانداردهای ملی ایران به شماره‌های۱۷۵۵، ۱۷۵۳، ۲۸۵۲، ۷۶۰ به ترتیب انجام شد(۵-۲). پروتئین کل به روش AOACبه شماره ۹۴۵/۰۱ انجام گردید (۸). اندازه‌گیری نمک به روش موهر انجام گردید(۹).

اندازه‌گیری ازت غیرپروتئینی (NPN)§ به وسیله تری کلرواستیک مطابق با روش باربانو** و همکاران (۱۹۹۱)

* Christian Hansen
† Merck
‡ Awad
§ Non-protein nitrogen
** Barbano

انجام شد (۱۰). بازدهی پنیر به روش توزین وزن پنیر حاصله تقسیم بر وزن شیر × ۱۰۰ محاسبه شد (۶).

۲-٤- ارزیابی خصوصیات میکروبیولوژی

آزمون زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در طی۶۰ روز دوره نگهداری مطابق با روش ویندرولا* (۲۰۰۰) انجام گردید(۳۲).

۲-۵- ارزیابی خصوصیات میکروبیولوژی

آزمون ارزیابی حسی به روش هدونیک پنج نقطه‌ای با استفاده از ۱۰ نفر ارزیاب آموزش دیده برای شاخص‌های طعم، بافت و پذیرش کلی انجام شد که عدد ۱ به معنی خیلی بد و عدد ۵ به معنی خیلی خوب بود (۲۲).

۲-٦- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

چهار تیمار مطابق با طرح کاملا تصادفی طراحی گردید و کلیه آزمونها در سه تکرار انجام شدند و داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه و دو طرفه به کمک نرم افزار مینی تب ،۱۶ با احتساب دامنه اطمینان ۹۵٪ آنالیز شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌ها بلافاصله پس از تولید

خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و شاهد بلافاصله بعد از تولید در جدول ۱، آورده شده است. مطابق با نتایج، استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در نمونه‌های پنیر چدار LC، LH، LC+ LH هیچ تاثیر مستقیمی بر میزان خاکستر، پروتئین کل، بازدهی و نمک در مقایسه با شاهد نداشته است (p>۰/۰۵).

در تایید نتایج حاصل از تحقیق حاضر دایگل† و همکاران (۱۹۹۹)، بیان نمودند هیچ اختلاف معنی‌داری بین میزان چربی، پروتئین، رطوبت، نمک و خاکستر پنیرهای چدار تولید شده با *بیفیدوباکتر*‡ و بدون بدون *بیفیدوباکتر* مشاهده نگردیده است (۱۴). دسفوسز-فوکالت§ و همکاران، (۲۰۱۲)، نیز گزارش کردند اختلاف معنی‌داری بین میزان چربی و پروتئین پنیرهای چدار پروبیوتیک تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس*، *بیفیدوباکتر* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*** در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده نگردیده است است(۱۵). نتایج تحقیقات دوس‌سانتوس†† و همکاران (۲۰۱۲)، نشان داد بین میزان پروتئین و خاکستر پنیر بز غنی شده با لینولئیک اسید و حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*‡‡ با پنیر بز غنی شده با لینولئیک اسید و بدون میکروارگانیسم پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردیده است(۱۶).

* Vinderola

† Daigle
‡ *bifidobacteria*
§ Desfosses-Foucault
** *Lactobacillus rhamnosus*
†† Dos Santos
‡‡ *Lactobacillus acidophilus*

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و شاهد بلافاصله بعد از تولید

نوع پنیر	خاکستر (درصد)	پروتئین کل (درصد)	بازدهی (درصد)	نمک (درصد)
LC	۲/۱۷±۰/۱۰[a]	۱۷/۲۷±۰/۲۱[a]	۱۳/۹۷±۱/۱۵[a]	۱/۹۵±۰/۱۰[a]
LH	۲/۳۲±۰/۰۶[a]	۱۷/۵۸±۰/۲۱[a]	۱٤/۰۹±۱/۰۳[a]	۱/۹۳±۰/۱۲[a]
LC+LH	۲/۳٦±۰/۱۰[a]	۱۷/٤٦±۰/۲۰[a]	۱٤/۰۸±۱/۰۳[a]	۱/۹۷±۰/۱۰[a]
شاهد	۲/۳۱±۰/۱٤[a]	۱۷/۲۳±۰/۲۱[a]	۱٦/۰۲±۱/۵۰[a]	۱/۹۳±۰/۱۳[a]

۳-۲- تغییرات چربی نمونه‌ها طی دروه نگهداری

تغییرات چربی پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و شاهد طی ۶۰ روز نگهداری در جدول ۲، گزارش شده است. نتایج نشان داد میزان درصد چربی در کلیه نمونه‌های تولیدی اعم از نمونه شاهد و نمونه‌های پروبیوتیک اختلاف معنی‌داری نداشتند و استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک هیچ تاثیر مستقیمی بر میزان چربی پنیر چدار نداشته است.

یرلیکایا و اوزر* (۲۰۱۴)، گزارش کردند چربی و ماده خشک پنیرها تحت تاثیراضافه کردن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نیست (۳۳). اونگ† و همکاران، (۲۰۰۷) خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژی پنیر چدار را در طی رسیدن در حضور *بیفیدوباکتریوم لانگوم*‡، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بررسی نمودند نتایج نشان داد استفاده از میکروارگانیسم‌های مذکور اثر معنی‌داری روی تغییرات چربی نداشته است (۲۸). در تحقیقی دیگر دسفوسز-فوکالت و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند اختلاف معنی‌داری بین میزان چربی پنیرهای چدار پروبیوتیک تلقیح شده با یک میکروارگانیسم پروبیوتیک یا مخلوطی از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در مقایسه با نمونه شاهد نبوده است (۱۵). میزان چربی در تمام نمونه‌های مورد آزمون پس ۶۰ روز نگهداری اندکی افزایش نشان داد که این می‌تواند بدلیل از دست دادن رطوبت و افزایش مواد جامد کل طی دوره نگهداری باشد.

* Yerlikaya and Ozer
† Ong
‡ *bifidobacterium longum*

جدول ۲- تغییرات چربی پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و شاهد طی دوره نگهداری

نوع پنیر	میزان چربی بلافاصله پس از تولید (درصد وزنی/وزنی)	میزان چربی در روز شصتم (درصد وزنی/وزنی)
LC	۲۳/۰۰±۰/۰۵^{aA}	۲۳/۵۳±۰/۱۵^{abB}
LH	۲۲/٦٦±۰/۲۸^{aA}	۲۳/۱۳±۰/۱۱^{bB}
LC+LH	۲۳/۱٦±۰/۲۸^{aA}	۲۳/٦۵±۰/۰۷^{aB}
شاهد	۲۲/٦٦±۰/۲۸^{aA}	۲۳/۱۹±۰/۱۲^{abB}

۳-۳- تغییرات رطوبت نمونه‌ها طی دروه نگهداری

با توجه به مشاهدات صورت گرفته در جدول ۳، میزان رطوبت در نمونه‌های حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و نمونه شاهد بلافاصله پس از تولید و پس از ۶۰ روز نگهداری هیچ گونه تفاوت معنی‌داری نداشتند. دسفوسز-فوکالت و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در فرمولاسیون پنیر چدار اثر معنی‌داری بر تغییرات میزان رطوبت در مقایسه با نمونه شاهد نداشته است (۱۵).

گاردینر* و همکاران (۱۹۹۸)، ۵ گونه مختلف *لاکتوباسیلوس کازئی* را از روده کوچک انسان جدا کردند و به پنیر چدار اضافه نمودند و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن‌ها را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد استفاده از *لاکتوباسیلوس‌های* پروبیوتیک به‌عنوان مکمل کشت‌های آغازگر تاثیر مستقیمی بر ترکیبات پنیر نداشته است بطوریکه میزان رطوبت تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند(۱۹). نتایج جدول ۴، نشان داد میزان رطوبت پنیرهای چدار مورد آزمون در روز شصتم کاهش معنی‌داری نسبت به روز اول تولید نشان داد. در تایید نتایج حاصل از تحقیق حاضرکبرای† و همکاران، (۱۹۹۶)، به منظور تسریع فرایند رسیدن در پنیر راس کم‌چرب و پرچرب از *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* استفاده کردند نتایج نشان داد میزان رطوبت در تمامی پنیرها با افزایش زمان رسیدن به شکل معنی‌داری کاهش یافت (۲۴) .جیرسرایی و همکاران (۱۳۹۵)، نیز روند کاهشی میزان رطوبت طی دوره نگهداری را در پنیر فتای فراپالایش سین‌بیوتیک گزارش کردند(۱).

* Gardiner
† Kebray

جدول ۳- تغییرات رطوبت پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و شاهد طی دوره نگهداری

نوع پنیر	رطوبت بلافاصله پس از تولید (درصد)	رطوبت در روز شصتم (درصد)
LC	۳۹/٤٥±۰/۱٥^{aA}	۳۸/۹۷±۰/۱۰^{aB}
LH	۳۹/٥۹±۰/۱٦^{aA}	۳۹/۰۸±۰/۰٤^{aB}
LC+LH	۳۹/۷۳±۰/۲۸^{aA}	۳۹/۱۲±۰/۱۷^{aB}
شاهد	۳۹/۸٤±۰/۲۸^{aA}	۳۹/۱۹±۰/۰۹^{aB}

۳-٤- تغییرات pH نمونه‌ها طی دوره نگهداری

نتایج تغییرات pH در جدول ۴، آورده شده است. با توجه به نتایج، pH تمام پنیرهای چدار تولید شده با میکروارگانیسم‌های مختلف در روز صفر تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند که این می‌تواند به‌دلیل توانایی‌های مختلف میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک برای متابولیسم لاکتوز که بستر اصلی برای تولید اسید لاکتیک در تولید پنیر چدار است باشد.

نتایج نشان داده شده در جدول ۴، ثابت کرد که pH در تمامی نمونه‌ها به شکل معنی‌داری تا ۲۰ روز کاهش و سپس اندکی افزایش نشان داد. کاهش pH می‌تواند به‌دلیل فعالیت متابولیک باکتری‌های اسید لاکتیک و تولید اسیدهای ارگانیک بویژه اسید لاکتیک باشد. در تایید نتایج حاصل از تحقیق حاضر مرتضوی و همکاران، (۱۳۹۳) گزارش کردند تغییرات pH پنیر تنها به میزان اسید لاکتیک تولید شده توسط فلور میکروبی وابسته نیست، بلکه ظرفیت بافری دلمه که خود ناشی از میزان کازئین، سیترات و فسفات است نیز در آن نقش دارد. آنها گزارش کردند افزایش pH در انتهای دوره رسیدگی ناشی از تاثیر میکروفلور سطح پنیر می‌باشد که به سرعت باعث اکسیداسیون لاکتات به H2O و CO2 و به دنبال آن خنثی نمودن طبیعت اسیدی پنیر می‌گردد. بنابراین با مصرف اسید لاکتیک محصولات غیر اسیدی و آزادسازی فراورده‌های الکلی حاصل از پروتئولیز می‌شود. در انتهای دوره رسیدگی نیز، فعالیت پروتئولتیکی، سبب تولید آمونیوم و افزایش pH می‌گردد (۷). هاشمی* و همکاران (۲۰۰۹)، مشاهده کردند میزان pH پنیر سفید آب‌نمکی پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و همچنین نمونه شاهد طی ۴ هفته نگهداری افزایش یافته است (۲۱).

کات‌سیاری† و همکاران (۲۰۰۲)، نیز گزارش کردند روند تغییرات pH در پنیرهای کم‌چرب و پرچرب کفالوگراویرا‡ تهیه شده با و بدون کشت‌های آغازگر اضافی طی دوره نگهداری صعودی بود (۲۳).

* Hashemi
† Katsiari
‡ Kefalograviera

جدول ٤- تغییرات pH پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و شاهد طی ٦٠ روز نگهداری

نوع پنیر چدار	روز			
	٠	٢٠	٤٠	٦٠
LC	٥/٢٣±٠/٠٠٥^{bA}	٥/١٥±٠/٠١٠^{aC}	٥/١٩±٠/١٩^{aB}	٥/٢٤±٠/٠٠٥^{aA}
LH	٥/١٣±٠/٠٠٥^{dC}	٥/٠٦±٠/٠٠٥^{bD}	٥/١٦±٠/٠٠٥^{bB}	٥/٢٥±٠/٠٠٥^{aA}
LC+LH	٥/٢٠±٠/٠٠٥^{cA}	٤/٨٩±٠/٠٠٥^{dD}	٤/٩٣±٠/٠٠٥^{dC}	٥/٠٧±٠/٠٠٥^{bB}
شاهد	٥/٢٥±٠/٠٠٥^{aA}	٥/٠١±٠/٠١٠^{cD}	٥/٠٣±٠/٠١^{cC}	٥/٠٦±٠/٠١^{bB}

۳-۵- درصد ازت غیر پروتئینی (NPN) نمونه‌ها طی دوره نگهداری

آزمون اندازه‌گیری درصد ازت‌غیرپروتئینی یک تکنیک مفید برای ارزیابی پپتیدهای متوسط تا کوچک و اسیدهای‌آمینه و ترکیبات کوچکتر از جمله آمونیوم و اوره و ترکیبات آمین‌دار است. تغییرات درصد ازت غیرپروتئینی در جدول ۵، نشان داده شده است. نتایج نشان داد که درصد ازت غیرپروتئینی در روز صفر در تمامی نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند به‌طوری‌که بیشترین میزان درصد ازت غیرپروتئینی در روز صفر مربوط به نمونه پنیر چدار LH و کمترین میزان درصد ازت غیرپروتئینی در روز صفر مربوط به نمونه پنیر چدار شاهد بود که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری داشتند. در انتهای دوره رسیدن نیز بیشترین میزان درصد ازت غیرپروتئینی متعلق به نمونه پنیر چدار LH و کمترین میزان درصد ازت غیر پروتئینی مربوط به نمونه پنیر چدار شاهد بود که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری داشتند که این می‌تواند بعلت فعالیت پروتئولتیکی بالاتر نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* در مقایسه با *لاکتوباسیلوس کازئی* و شاهد باشد که منجر به آزاد شدن پپتیدهای بیشتری شده است. مطالعات دابور* و همکاران (۲۰۰۶)، نشان داد میزان ازت غیرپروتئینی در نمونه‌های پنیر چدار حاوی اگزوپلی‌ساکارید و به طور معنی‌داری در طول زمان رسیدن افزایش یافته است (۱۳).

بر طبق نتایج حاصل از تحقیق حاضر درصد ازت غیرپروتئینی در نمونه‌های حاوی کشت آغازگر پروبیوتیک افزایش بیشتری نسبت به نمونه شاهد در تمام طول زمان رسیدن داشتند که این می‌تواند به علت فعالیت بیشتر پروتئولیتیکی آن‌ها در مقایسه با نمونه شاهد باشد. از آن‌جایی‌که رنت و کشت‌های آغازگر اضافی به شکل‌گیری پپتیدها و پپتیدهای محلول کمک می‌کنند بنابراین آنزیم‌های پپتیداز و پروتئیناز موجود در کشت‌های آغازگر پروبیوتیک قادرند پروتئین‌ها را به شکل موثری هیدورلیز نمایند و منجر به آزادی پپتیدهایی با سایز متوسط و کوچک شوند. اونگ† و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند که ترکیبات نیتروژنی محلول می‌توانند مستقیما روی عطر و طعم و بافت پنیر تاثیر بگذارند(۲۸). نتایج نشان داد که افزایش درصد ازت غیرپروتئینی در ۲۰ روز اول دوره رسیدن تمامی نمونه‌ها شدیدتر بود مشابه این روند تغییرات درصد ازت غیرپروتئینی توسط کات‌سیاری‡ و همکاران (۲۰۰۲)، برای پنیرهای کم‌چرب و پرچرب کفالوگراویرا تهیه شده با و بدون کشت‌های آغازگر اضافی مشاهده گردید (۲۳).

نتایج نشان داد بعد از روز ۲۰ میزان درصد ازت غیرپروتئینی به صورت تدریجی افزایش یافت که احتمالا به دلیل در دسترس قرار گرفتن محصولات پروتئولیز اولیه، به‌عنوان

* Dabour

† Ong

‡ Katsiari

سوبسترا برای ادامه پروتئولیز بوده است. مشابه این تغییرات در درصد ازت غیرپروتئینی در پنیر چدار حاوی *بیفیدوباکتریوم لانگوم* ، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* توسط اونگ[1] و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش گردید (۲۸).

جدول ۵- تغییرات ازت غیرپروتئینی پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و شاهد طی ٦٠ روز نگهداری

نوع پنیر	روز			
	۰	۲۰	٤٠	٦٠
LC	۰/٤۳±۰/۰٦^{bD}	۲/۲۳±۰/۰۹^{bC}	۲/۷۸±۰/۰٦^{bB}	۳/۰۳±۰/۰٦^{bA}
LH	۰/٥٦±۰/۰٦^{aD}	۲/٤۹±۰/۰٤^{aC}	۳/۱۲±۰/۰۲^{aB}	۳/٦۰±۰/۰۷^{aA}
LC+LH	۰/٤۹±۰/۰۸^{abD}	۲/۰۱±۰/۰۳^{cC}	۲/۳۹±۰/۰٤^{cB}	۲/٥۸±۰/۰٥^{cA}
شاهد	۰/۳۸±۰/۰٦^{bD}	۱/٦۰±۰/۰٦^{dC}	۱/۸٤±۰/۰٦^{dB}	۲/۱۱±۰/۰٦^{dA}

۳-٦- زنده‌مانی نمونه‌ها طی دوره نگهداری

مهمترین فاکتور در استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک در پنیر، زنده‌مانی آنها طی فرآوری و تا زمان مصرف بدون تاثیر نامطلوب بر خواص حسی محصول می‌باشد(۱۲). در جدول ۶، میزان زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک طی ۶۰ روز نگهداری نمونه‌های پنیر چدار نشان داده شده است. میزان زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در روز صفر برای نمونه پنیر چدار LC و LH و LC+LH به ترتیب $۲/۴۶ \times ۱۰^{۸}$ و $۲/۵۰ \times ۱۰^{۸}$ و $۲/۷۶ \times ۱۰^{۸}$ بود که بیشترین میزان زنده‌مانی برای نمونه پنیر چدار LC+LH بود و کمترین میزان زنده‌مانی برای نمونه پنیر چدار LC بود که از لحاظ آماری هیچ گونه اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند .مطابق با نتایج جدول ۶، میزان زنده‌مانی تمام نمونه‌ها طی ۶۰ روز نگهداری به شکل معنی‌داری کاهش پیدا کرد که این امر می‌تواند به‌دلیل کاهش توانایی رشد و تکثیر باکتری‌های پروبیوتیک طی زمان نگهداری باشد. جیرسرایی و همکاران، (۱۳۹۵) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند آن‌ها گزارش کردند زنده‌مانی پنیرهای سفید فراپالایش پروبیوتیک در حضور لاکتولوز و اینولین طی ۶۰ روز نگهداری به شکل معنی‌داری کاهش یافت(۱). دابور و همکاران، (۲۰۰۶) کاهش میزان باکتری‌های پروبیوتیک را طی۶ ماه نگهداری در پنیر چدار پروبیوتیک حاوی اگزوپلی‌ساکاریدها مشاهده نمودند (۱۳).

میزان زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در روز ۶۰ برای نمونه پنیر چدار LC و LH و LC+LH به ترتیب $۰/۵۶ \times ۱۰^{۷}$ و $۰/۵۰ \times ۱۰^{۷}$ و $۱/۰۰ \times ۱۰^{۸}$ بود که بیشترین میزان زنده مانی برای نمونه پنیر چدار LC+LH بود و کمترین میزان زنده‌مانی برای نمونه پنیر چدارLH بود که از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی‌داری داشتند. نتایج نشان داد که کاهش باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه پنیر چدار LC+LH به میزان کمتری نسبت به نمونه‌های پنیر چدار LC و LH بود که این می‌تواند به‌دلیل اثر سینرژیستیی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* باشد. با توجه به نتایج آزمون زنده‌مانی طی دوره رسیدن که در جدول ۸، آورده شده است مشاهده می‌گردد که در روز ۶۰ حداقل $۱۰^{۷}$ cfu/g باکتری پروبیوتیک در تمام نمونه‌های پنیر چدار پروبیوتیک مورد آزمون وجود داشت که این میزان برای بروز اثرات سلامت بخشی ناشی از مصرف محصولات پروبیوتیکی کافی است و این می‌تواند به‌دلیل شبکه جامد موجود در پنیر چدار باشد که می‌تواند در حفظ باکتری‌های پروبیوتیک طی دوره رسیدن موثر باشد (۳۰).

جدول ٦- نتایج آزمون زنده مانی پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک طی ٦٠ روز نگهداری

نوع پنیر	روز			
	٠	٢٠	٤٠	٦٠
LC	$٢/٤٦\times١٠^{٨}\pm٠/٢٢\times١٠^{٨}$ aA	$١/٣٣\times١٠^{٨}\pm١/٥٢\times١٠^{٧}$ aB	$٠/٩٦\times١٠^{٧}\pm٥/٧٧\times١٠^{٦}$ aC	$٠/٥٦\times١٠^{٧}\pm٥/٧٧\times١٠^{٦}$ bD
LH	$٢/٥٠\times١٠^{٨}\pm٢/٦٤\times١٠^{٧}$ aA	$١/٣٦\times١٠^{٨}\pm١/٥٢\times١٠^{٧}$ aB	$٠/٩٠\times١٠^{٧}\pm١/٠٠\times١٠^{٧}$ aC	$٠/٥٠\times١٠^{٧}\pm١/٠٠\times١٠^{٧}$ bD
LC+LH	$٢/٧٦\times١٠^{٨}\pm١/٥٢\times١٠^{٧}$ aA	$١/٦٠\times١٠^{٨}\pm١/٠٠\times١٠^{٧}$ aB	$١/٢٠\times١٠^{٨}\pm١/٠٠\times١٠^{٧}$ bC	$١/٠٠\times١٠^{٨}\pm١/٠٠\times١٠^{٧}$ aC

۳-۷- ارزیابی حسی نمونه‌ها طی دوره نگهداری

میزان ارزیابی بافت و طعم و پذیرش‌کلی نمونه‌های پنیرهای چدار در جدول ۷، آورده شده است. بر اساس ارزیابی گروه ارزیابان حسی امتیاز بافت، طعم و پذیرش‌کلی تمامی نمونه‌های پنیرهای چدار حاوی کشت آغازگر پروبیوتیک بلافاصله بعد از تولید و پس از طی ۶۰ روز رسیدن به‌شکل معنی‌داری بالاتر از نمونه شاهد بودند که این می‌تواند به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بیشتر نمونه‌های حاوی میکروارگانیسم پروبیوتیک باشد که می‌توانند اثر معناداری بر توسعه آرومای بهتر و ایجاد بافت نرم‌تر داشته باشند. بنابراین تمامی نمونه‌های پنیر چدار پروبیوتیک بعلت داشتن عطر و طعم مطلوبتر از امتیاز پذیرش‌کلی بالاتری برخوردار بودند. نتایج حاصل از این تحقیق با مطالعات هاشمی* و همکاران (۲۰۰۹)، برای پنیر سفید آب‌نمکی پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* منطبق بود (۲۱). بسیجیت† و همکاران (۲۰۰۹)، پنیر سفید بیازترکیه‌ای حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاریوم*‡ و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*§ را تولید نمودند، آن‌ها گزارش کردند استفاده از میکروارگانیسم‌های مذکور در کنار کشت‌های آغازگر معمول در پنیر باعث بهبود خواص حسی آن گردیده است (۱۱).

در بین نمونه‌های پنیرهای چدار پروبیوتیک بیشترین امتیاز بافت، طعم و پذیرش‌کلی در تمامی مراحل دوره رسیدن مربوط به پنیر LC+LH بود که از لحاظ آماری با نمونه پنیرهای LC و LH اختلاف معنی‌داری داشت که این می تواند حاکی از اثر سینرژیستی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* باشد که باعث توسعه بهتر عطر و طعم و در نتیجه پذیرش‌کلی در پنیر مذکور شده است.

*Hashemi
† Basyigit
‡ *Lactobacillus planetarium*
§*lactobacillus fermentum*

جدول ۷- ارزیابی بافت پنیرهای چدار حاوی میکروارگانیسم‌های مختلف پروبیوتیک و شاهد طی ٦٠ روز نگهداری

نوع پنیر	روز			
	۰	۲۰	٤٠	٦٠
بافت				
LC	۱۱/۲۰±۱/۷۸ abB	۱۱/۲۰±۱/۷۸ bB	۱۲/۸۰±۱/۷۸ bAB	۱٤/٤٠±۲/۱۹ bA
LH	۱۲/۰۰±۰/۰۰ abB	۱۲/۰۰±۰/۰۰ bB	۱۳/٦۰±۲/۱۹ bAB	۱۵/۲۰±۱/۷۸ bA
LC+LH	۱۳/٦۰±۲/۱۹ aC	۱٦/۰۰±۰/۰۰ aB	۱۷/٦۰±۲/۱۹ aAB	۱۹/۲۰±۱/۷۸ aA
شاهد	۹/٦۰±۲/۱۹ bB	۱۰/٤۰±۲/۱۹ bAB	۱۱/۲۰±۱/۷۸ bAB	۱۲/۸۰±۱/۷۸ bA
طعم				
LC	٦/٦۰±۱/۳٤ aB	۸/٤۰±۲/۵۰ abAB	۹/٦۰±۱/۳٤ bA	۱۰/۸۰±۲/٦۸ bA
LH	٦/٦۰±۱/۳٤ aC	۹/٦۰±۱/۳٤ aB	۱۰/۲۰±۱/٦٤ abAB	۱۲/۰۰±۲/۱۲ abA
LC+LH	۷/۸۰±۱/٦٤ aC	۱۰/۸۰±۱/٦٤ aB	۱۲/۰۰±۲/۱۲ aAB	۱۳/۸۰±۱/٦٤ aA
شاهد	٤/۲۰±۱/٦٤ bB	٦/۰۰±۲/۱۲ bAB	٦/٦۰±۱/۳٤ cAB	۷/۸۰±۱/٦٤ cA
پذیرش‌کلی				
LC	۲۳/۰۰±۲/۸۲ bA	۲۵/۲۰±۳/٤۲ cA	۳۰/۰۰±۲/٤٤ cA	۳۳/۲۰±۳/۸۹ cA
LH	۲۳/۸۰±۱/۰۹ abB	۲۷/۲۰±۱/۷۸ bA	۳۱/۰۰±٤/۰٦ bA	۳۵/۲۰±۳/۵٦ bA
LC+LH	۲٦/٦۰±۱/۵۱ aB	۳۲/۸۰±۱/٦٤ aA	۳۷/۲۰±۵/۱٦ aA	٤۱/۰۰±٤/۳۰ aA
شاهد	۱۹/۰۰±۳/۵۳ cB	۲۱/٦۰±٤/۱۵ dA	۲۳/۸۰±۲/٤۸ dA	۲٦/٦۰±۲/۱۹ dA

٤- نتیجه‌گیری

در این پژوهش خواص فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبیولوژی پنیر چدار حاوی گونه *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* به‌صورت منفرد و ترکیبی طی ٦٠ روز دوره رسیدن در ۸ درجه‌سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد استفاده از میکروارگانیسم‌های فوق اثر معنی‌داری روی خواص فیزیکوشیمیایی پنیر چدار نداشته است. بقاء میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک طی دوره نگهداری نشان داد که پنیر بستر خوبی برای محافظت از باکتری‌های پروبیوتیکی فراهم می‌نماید. درصد ازت غیرپروتئینی در نمونه‌های حاوی کشت آغازگر پروبیوتیک افزایش بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشت. نتایج آزمون حسی نیز اثبات کرد که فعالیت پروتئولیز میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک منجر به تولید عطر و طعم و آروما مورد پسند در پنیر مذکور در مدت زمان کوتاهتری می‌شود. بنابراین می‌توان با استفاده از میکرواگانیسم‌های پروبیوتیک فعالیت پروتئولیتیکی پنیر چدار را طی دوره رسیدن بالا برد تا زمان رسیدن پنیر چدار را از شش ماه به دو ماه تقلیل داد. لذا علاوه بر تولید یک پنیر چدار سالم و فراسودمند از نظر هزینه نیز مقرون به صرفه می‌باشد.

۵- منابع:

۱. جیرسرایی، ب. پوراحمد، ر. فدائی نوغانی، و. ۱۳۹۵. اثر اینولین و لاکتولوز بر زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر فتای فراپالایش پروبیوتیک، علوم غذایی و تغذیه، (۱)۱٤، ۳۵-٤٦.

۲. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،۱۳٥٦، تعیین مقدار خاکستر پنیر، استاندارد ملی ایران،شماره ۱۷۵۵.

۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،۱۳۷۳،روش تعیین ماده خشک پنیر و پنیرهای ذوب شده، استاندارد ملی ایران، شماره ۱۷۵۳.

٤. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،۱۳٦٦، روش تعیین اسیدیته کل و H یا تراکم یونهای H در شیر و فرآورده‌های آن، استاندارد ملی ایران، شماره ۲۸۵۲.

۵. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۵، تعیین مقدار چربی پنیر و پنیرهای ذوب شده، استاندارد ملی ایران، شماره۷٦۰.

٦. مرتضوی، ع. ۱۳۷۵. تکنولوژی شیر و فراوردههای لبنی، انتشارات دانشگاه مشهد.

۷. مرتضوی، ع. معین فرد، م. میلانی، ا. ۱۳۹۳. ارزیابی تغییرات جمعیت میکروبی بیماریزا در طول دوره رسیدگی پنیر سنتی کردی، نشریه ی نوآوری در علوم و فنّاوری غذایی، (۲)٦، ۸۳-۹۲.

8. AOAC. 1990, The total nitrogen (N) content was measured by the kjeldahl method, 954.01.
9. Awad, S., Hassan, A.N and Halaweish, F. 2005. Application of exopolysaccharide producing cultures in reduced fat Cheddar cheese: Composition and proteolysis, *Journal of Dairy Science*, 88: 4195-4203.
10. Barbano, D.M., Lynch, J.M and Fleming, J.R. 1991. Direct and indirect determination of true protein content of milk by Kjeldahl analysis: collaborative study: collaborative study. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 74: 281-288.
11. Basyigit Kılıç G, Kuleashan H, Eralp I and Karahan A, 2009. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. LWT - Food Science and Technology. 42(5): 1003-1008 .
12. Boylston, T. D., Vinderola, C. G., Ghoddusi, H. B and Reinheimer, J. A. 2004. Incorporation of *bifidobacteria* into cheeses: challenges and rewards. *International Dairy Journal*, 14: 375-387.
13. Dabour, N., Kheadr, E., Benhamou, N., Fliss, I and LaPointe, G. 2006. Improvement of texture and structure of reduced-fat cheddar cheese by exopolysaccharide producing lactococci, *Journal of Dairy Science*, 89: 95-110.
14. Daigle, A., Roy, D., Bélanger, G and Vuillemard, J.C. 1999. Production of probiotic cheese (cheddar-like cheese) using enriched cream fermented by *Bifidobacterium* infantis. *Journal of Dairy Science*, 82(6):1081-1091.
15. Desfosses-Foucault, E., Dussault-Lepage, V., Le Boucher, C., Savard, P., Lapointe, G and Roy, D. 2012. Assessment of probiotic viability during cheddar cheese manufacture and ripening using propidium monoazide-PCR quantification, *Frontiers in Microbiology*, 3, 1-11.
16. Dos Santos, K.M.O., Bomfim, M.A.D, Vieira, A.D.S., Benevides, S.D., Saad, S.M.I., Buriti, F.C.A and Egito, A.S. 2012. Probiotic caprine Coalho cheese naturally enriched in conjugated linoleic acid as a vehicle for Lactobacillus acidophilus and beneficial fatty acids. *International Dairy Journal*, 24: 107-112.
17. Drake, M.A., Boylston, T.D., Spence, N.K.D and Swansona, B. G. 1997. Improvement of sensory quality of reduced fat Cheddar cheese by a lactobacillus adjunct. *Food Research*

18. FAO. 2001, Available from evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Food and agriculture organization of united nations, Co´rdoba, Argentina.
19. Gardiner, G., Ross, R.P., Collins, J.K., Fitzgerald, G and Stanton, C. 1998. Development of probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains, *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 2192-2199.
20. Gomes, A.M.P and Malcata, F.X. 1998. Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation, *Journal of Dairy Science*, 81: 1492-1507.
21. Hashemi, M., Azar, M and Mazlumi, M.T. 2009. Effect of commercial adjunct lactobacilli on biochemical and sensory characteristics of Iranian white-brined cheese, *International Journal of Dairy Technology*, 62: 48-55.
22. International Dairy Federation. 1997, Sensory evaluation of dairy products by scoring. Part IV: Recommended method for sensory evaluation of cheese.
23. Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P and Kondyli, E. 2002. Improvement of sensory quality of low-fat kefalograviera-type cheese with commercial adjunct cultures, *International Dairy Journal*, 12: 757-764.
24. Kebary, K.M.K., Khader, A.E., Zedan, A.N and Mahmoud, S.F. 1996. Accelerated ripening of low fat ras cheese by attenuated lactobacilli cells. *Food Research International*, 29(8): 705-713.
25. Kiernan, R.C., Beresford, T.P., O'Cuinn, G and Jordan, K.N. 2000. Autolysis of lactobacilli during Cheddar cheese ripening, *Irish Journal of Agriculture and Food Research*, 39: 95–106.
26. Law, B.A. 2001. Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technologies, *International Dairy Journal*, 11: 383–398.
27. Lankaputhra, W.E.V and Shah, N.P. 1998. Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids, *Mutation Research*, 397: 169–182.
28. Ong, L., Henriksson, A and Shah, NP. 2007. Chemical analysis and sensory evaluation of cheddar cheese produced with *lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium sp*, *International Dairy Journal*, 17: 937–945.
29. Rogers, N.R. 2009. The effect of fat content and aging on the texture of cheddar cheese. north carolina state university. *Master of Science thesis*.
30. Shah, N.P. 2000. Some beneficial effects of probiotic bacteria. *Bioscience Microflora*, 19: 99-106.
31. Shibashi, N and Shimamura, S. 1993. *Bifidobacteria*: research and development in Japan. *Food Technology*, 47: 126-135.
32. Vinderola, C., Prosello, W., Ghiberto, D and Reinheimer, J.A. 2000. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* & *Lactobacillus casei*) & nonprobiotic microflora in argentinian fresco cheese, *Journal of Dairy Science*, 83(9): 1905-1911.
33. Yerlikaya, O and Ozer, E. 2014. Production of probiotic fresh white cheese using co-culture with *Streptococcus thermophiles*, *Food Science and Technology*, 34(3): 471-477.