

ارزیابی پروفیل جمعیت میکروبی پنی‌سنتی کردی و ارتباط آن با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی فراورده در طول دوره رسیدگی

سید علی مرتضوی^{۱*} - الناز میلانی^۲ - مرضیه معین فر^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۹/۰۶

چکیده

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

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

مقدمه

انواع مختلفی از پنی‌سنتی‌ها به طرق سنتی تولید می‌شود، به عنوان مثال در نواحی غربی پنی‌سنتی لبقوان و پنی‌سنتی کوزه و در نواحی شرقی، پنی‌سنتی کردی از طرفدارترین فراورده‌ها می‌باشند (Navidghasemzad, 2009, 2011, Edalatian et al.). پنی‌سنتی معمولاً از شیر گوسفند، بز، گاو و گاو میش تهیه می‌شود. ولی بیشتر از شیر گوسفند و بز تهیه می‌شود. در فرآیند تولید این نوع پنی‌سنتی مرحله ویژه‌ای وجود دارد که در آن محصول برای رسیدگی درون پوست نگهداری می‌شود، این امر باعث کاهش فشار اکسیژن و ایجاد شرایط مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌های میکروآئروفیل می‌شود. پنی‌سنتی‌های تولیدی از شیر خام، پروفیل طعمی گسترده‌تر و محسوس‌تری داشته و خصوصیات کیفی و ارگانولپتیکی آن نظیر بافت، بو، عطر و طعم، ظاهراً نتیجه‌ای از نوع شیر خام مصرفی، کیفیت میکروبی، تکنولوژی به کار رفته در

بر اساس آمارهای موجود حدود ۲۰ درصد شیر تولیدی در کشور در بخش صنایع لبنی به پنی‌سنتی تبدیل می‌شود؛ از این مقدار سهم تولید پنی‌سنتی حدود ۸۰ درصد است (آقازاده مشگی، ۱۳۸۶). پنی‌سنتی محلی حاصل از شیر خام، شامل مجموعه‌ای کامل از اکوسیستم میکروبی در میان سایر فراورده‌های لبنی است (pinto et al., 2006). در ایران

۱-استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲-استادیار، گروه فرآوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد

۳-دانشجوی دکتری دانشگاه پورتو، پرتغال

*- نویسنده مسئول: (Email: morteza1928@yahoo.com)

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

در شرایط سنتی ابتدا شیر تازه گوسفند پس از دوشش تا دمای حدود 37 ± 5 درجه سانتی‌گراد گرم شده و پس از خنک شدن رنین گوسفند یا رنین تجاری به میزان ۱٪ به آن افزوده شد، سپس شیر، به منظور انعقاد و تشکیل دلمه، در فاصله ۶۰-۴۵ دقیقه در همین دما نگهداری شده؛ پس از انعقاد، بر روی دلمه‌ها نمک پاشیده شده و برش دلمه انجام پذیرفت. پس از این مرحله به منظور خروج آب پنیر، دلمه‌ها داخل کیسه پارچه‌ای به حالت آویزان به مدت ۸-۱۰ ساعت نگهداری شدند. سپس دلمه‌ها از پارچه خارج و خرد شده و درون آب نمک ۱۵-۱۲ درصد قرار گرفتند. دلمه‌های تولیدی برای ۲ هفته داخل یخچال باقی مانده و سپس درون پوست بزغاله و آب نمک، در دمای یخچال تا پایان دوره رسیدگی نگهداری شدند. لازم به ذکر است؛ پوست بزغاله قبل استفاده کاملاً تمیز و در آب جوش قرار گرفته و سپس نمک زنی و خشک گردید. در زمان استفاده، پوست مجدد شسته شده و منافذ آن (قسمت‌های پا و دست) توسط نخ بسته شد.

آزمون‌های فیزیکیوشیمیایی

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

آزمون‌های میکروبی

ابتدا به منظور تهیه سوسپانسیون همگن، ۲۵ گرم نمونه پنیر همراه ۲۲۵ میلی‌لیتر محلول سیترات سدیم ۲٪ وزنی - حجمی ساخت شرکت سیگما، داخل بسته‌های مخصوص استریل (Interscience) منتقل گردید و توسط دستگاه استومکر (400 Circulator) به مدت ۵ دقیقه بطور کامل هموزن و فیلتر شد تا ذرات معلق آن حذف شود. به این ترتیب اولین رقت 10^{-1} ، تهیه شد. برای انجام پژوهش، سایر رقت‌ها (10^{-2} تا 10^{-7}) به کمک آب پیتونه استریل ۰/۱ درصد وزنی - حجمی تهیه شدند، سپس از لوله‌های حاوی رقت‌های تهیه شده به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر بوسیله سمپلر (کشت سطحی) روی سطح محیط‌های کشت منتقل گردید (۴). ارزیابی فلور میکروبی، در ۴ بازه زمانی ۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز پس از تولید و در ۳ تکرار انجام شد.

تهیه و شرایط رسیدگی است. بنابراین آگاهی از ترکیب فلور طبیعی و ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی پنیرهای سنتی، امکان عرضه فرآورده‌ای سالم با حفظ ویژگی‌های کیفی و حسی مطلوب را در زمان مناسب، فراهم می‌آورد. علی‌رغم برتری حسی پنیرهای سنتی به پنیرهای صنعتی، مسئله مهم، استفاده از شیر خام بوده و به دلیل آلوده شدن شیر در مراحل تولید و پس از دوشش احتمال آلودگی پنیرهای تولیدی به انواع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا وجود دارد (سالک مقدم، ۱۳۸۰ و خمیری ۱۳۸۵). حجم انبوهی از میکروارگانیسم‌ها طی دوره رسیدگی در پنیر یافت می‌شوند و هر کدام نقش بسزایی در ویژگی‌های فرآورده نهایی ایفا می‌نمایند (Tzanetakis 1993، Tornadijo 1995). میان این گروه عظیم میکروارگانیسم‌ها برهمکنش‌های متعددی رخ می‌دهد؛ به عنوان مثال برخی از آن‌ها با تجزیه پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و ویتامین‌ها، ترکیباتی را تولید می‌کنند که برای رشد دسته دیگری از میکروارگانیسم‌ها ضروری است (Albenzio, 2001، Bentsis, 2002). از میان پنیرهای سنتی که در سایر کشورها تولید می‌شود می‌توان به پنیرکانستراتو^۱، راس^۲، اورفا^۳ پراتو^۴، اتلو و پنیرترکی اشاره کرد. ماکدوو همکاران (۱۹۹۵)، میکروفلور پنیر سیرا^۵ را طی ۳۵ روز رسیدگی مورد بررسی قرار دادند. پس از گذشت ۷ روز، میزان میکروارگانیسم‌ها به حداکثر خود رسید و باکتری‌های اسیدلاکتیک و کلی‌فرم‌ها انواع غالب بودند.

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

موادوروش‌ها

نمونه برداری

نمونه برداری بصورت تصادفی و در فصل تابستان از نقاط مختلف

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

جدول ۱- مشخصات محیط کشت و شرایط گرمخانه گذاری برای تشخیص و شمارش باکتری‌ها

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

سیکلوهگزیمید^۲ اضافه شد (۳۱، ۳۸، ۴۹ و ۵۰)

ارزیابی حسی

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

جهت ارزیابی فلور میکروبی شامل شمارش کلی، کپک و مخمر، کلی فرم، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا، لاکتوباسیل، لاکتوکوکوس و انتروکوکوس‌ها، در کلیه آزمون‌ها پس از کشت در محیط‌های اختصاصی مطابق جدول ۱، شمارش پرگنه‌های تشکیل شده توسط دستگاه پرگنه شمار انجام شد (۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹). لازم به ذکر است کلیه محیط کشت‌های مصرفی، ساخت شرکت مرک آلمان بود. همچنین به منظور جلوگیری از رشد کپک و مخمر در محیط کشت M17، MRS و KAA^۱، آنتی بیوتیک

بود (جدول ۲). Aly و همکاران (۲۰۰۲) نیز در مشاهدات خود به نتایج مشابهی دست یافتند؛ مطابق گزارش وی، دلیل بروز پدیده اخیر می‌تواند ناشی از شدت تبخیر سطحی پنیر، پوست نفوذپذیر بزغاله و تخریب کمپلکس پروتئین و چربی باشد.

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

اثر زمان رسیدگی بر میزان تغییرات ماده جامد

چنانکه در جدول ۲ مشاهده می‌شود، زمان رسیدگی تاثیر معنی‌داری بر افزایش میانگین ماده جامد کل نمونه‌های پنیر داشت ($p < 0.05$). گزارش مشابهی توسط El-Owni و همکاران (۲۰۰۸) انتشار یافته است. افزایش ماده جامد کل بواسطه کاهش مداوم رطوبت قابل توجیه است (Aly et al., 2002).

اثر زمان رسیدگی بر میزان تغییرات چربی

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

اثر زمان رسیدگی بر میزان تغییرات پروتئین

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

اثر زمان رسیدگی بر میزان تغییرات فعالیت آبی

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

گرمی در اختیار ارزیابان قرار گرفت و از آنان خواسته شد قبل از انجام هر آزمون دهان خود را با آب بشویند (۲۲ و ۳۱).

روش تجزیه و تحلیل آماری

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

نتایج و بحث

اثر زمان رسیدگی بر میزان تغییرات pH

چنانکه در جدول ۲، مشاهده می‌شود، میانگین عددی pH نمونه‌های پنیر در روز تولید معادل ۵/۲۹ گزارش شد؛ در طول دوره رسیدگی و تا انتهای دوره ۶۰ روزه مطالعه، میزان pH پنیرهای کردی، از لحاظ آماری کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). مطابق گزارش Tayar و همکاران (۱۹۸۸)، وابسته به شرایط تولید و فرآوری پنیر، میزان تغییرات pH در طول دوره رسیدگی در محدوده ۵/۹۴-۴/۳۸ متغیر است. کاهش میزان pH در طول دوره رسیدگی پنیرهای اوئی و آرمدادا به ترتیب توسط Oner et al., 2006 و Warsama 2006، گزارش شده است. این پدیده بواسطه مجموعه فرآیندهای متابولیسی باکتری‌های اسید لاکتیک و تولید اسیدهای ارگانیک بویژه اسید لاکتیک، قابل توجیه است. میزان pH نمونه‌های پنیر متاثر از رشد و فعالیت باکتری‌های آغازگر و غیرآغازگر می‌باشد، البته باید توجه داشت که pH پنیر تنها به میزان اسیدلاکتیک تولید شده توسط فلور میکروبی وابسته نیست، بلکه ظرفیت بافری دلمه که خود ناشی از میزان کازئین، سیترات و فسفات است نیز در آن نقش دارد. با این حال در انتهای دوره رسیدگی، نرخ کاهش pH نمونه‌ها به شدت نیمه اول دوره رسیدگی نبود؛ حتی برخی مطالعات به افزایش pH پنیر در انتهای دوره رسیدگی اشاره نموده‌اند (McSweeney, 1993). دلیل بروز این پدیده می‌تواند ناشی از تاثیر میکروفلور سطح پنیر نظیر ژئوتریکوم کاندیدوم و پنی سیلیوم کامبرتی بوده که به سرعت سبب اکسیداسیون لاکتات به CO_2 و H_2O گردیده است، از این رو تا حدودی سبب خنثی نمودن طبیعت اسیدی فراورده می‌شود. همچنین مصرف اسید لاکتیک سبب آزادسازی فراورده‌های الکلی حاصل از تخریب پروتئین‌ها می‌شود (Macedoa, 1997).

اثر زمان رسیدگی بر میزان تغییرات رطوبت

محتوای رطوبت نمونه‌های پنیر با گذشت دوره رسیدگی بصورت نزولی کاهش یافت بطوریکه نرخ کاهش در محدوده ۲۳-۲۴ درصد

اثر زمان رسیدگی بر میزان تغییرات نمک

کیفیت نهایی پنیر تا حد زیادی به غلظت نمک، بدلیل تاثیر ویژه آن بر دامنه رشد باکتریهای اسیدلاکتیک، فعالیت آنزیمی و روابط بیوشیمیایی در طول دوره رسیدگی، وابسته است (Tayar, 1995). میزان نمک نمونه‌های پنیر افزایش قابل توجهی در طول دوره رسیدگی داشت ($p < 0.05$). نتایج پژوهش با مشاهدات Albenzio (2001)، Aly (2002) و Ceylan (2003) همراستا بود.

اثر زمان رسیدگی بر میزان خاکستر

میزان خاکستر موجود در پنیر به نمک افزوده شده به دلخواه و محتوای مواد معدنی آن نظیر کلرید، فسفات، پتاسیم، منیزیم، کلسیم و سیترات منیزیم وابسته است (Viana et al., 2009). میانگین عددی تغییرات خاکستر نمونه‌های پنیر در جدول ۲ مشاهده می‌شود؛ بر این اساس با افزایش زمان میزان خاکستر نمونه‌ها به طرز معنی داری افزایش یافت. پنیرهای تازه و نمونه‌های پنیر ۶۰ روزه به ترتیب داری کمترین (۳/۹۲ درصد) و بیشترین (۹/۹۶ درصد) میزان خاکستر بودند. El-Owni (2008) نتایج مشابهی را در خصوص پنیر سودانی گزارش نمودند.

اثر زمان رسیدگی بر شمارش کلی باکتری‌ها

نتایج نشان داد شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در روزهای نخست تولید نمونه‌های پنیر بیشترین مقدار و معادل $9/93 \log \text{cfu/g}^{-1}$ بود؛ پس از گذشت ۲۰ روز از شروع دوره رسیدگی تعداد میکروارگانیسم‌ها کاهش یافت با این حال از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P > 0.05$) و تا پایان دوره با کاهش تدریجی آن مواجه شدیم. شمارش بالای

میکروارگانیسم‌ها در روزهای اول احتمالاً به رشد سریع میکروارگانیسم‌ها در طی مراحل اولیه انبارداری و یا به دلیل میزان بالای کلی فرم وابسته است درحالیکه کاهش میزان باکتری هادر طول دوره رسیدگی احتمالاً به دلیل کاهش pH، ایجاد شرایط مطلوب برای باکتری‌های اسید لاکتیک و افزایش میزان اسید لاکتیک، قابل توجه است که می‌تواند مانع از رشد میکروارگانیسم‌ها شود (Litopoulou, Garcia Fontán 1990). نتایج حاضر مطابق گزارش García Fontán (1990) و همکاران (2001) و Oner و همکاران (2006) بود. محققین دیگری نیز نشان دادند که شمارش کلی باکتری‌ها برای پنیر آفونگال پیتو که سه روز از تولید آن می‌گذشت $9/26 \pm 0/56 \log \text{cfu/g}$ و در پنیری که ۶۰ روز از تولید آن می‌گذشت $8/06 \pm 0/47 \log \text{cfu/g}$ بود که بیانگر کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها طی دوره رسیدگی است (Warsama, 2006).

اثر زمان رسیدگی بر شمارش کپک و مخمر

نتایج حاصل از شمارش کپک و مخمر، افزایش معنی دار این دسته از میکروارگانیسم‌ها را در هر ۶ نمونه پنیر نشان داد ($P < 0.05$). میانگین بیشترین میزان کپک و مخمر در روز ۴۰ رسیدگی نمونه‌های پنیر معادل $6/04 \pm 1/22 \log \text{cfu/g}$ گزارش شد (جدول ۳). شمار کپک و مخمر با کاهش محتوی لاکتوز ناشی از مصرف لاکتیک اسید باکتری‌ها، ارتباط نزدیکی دارد، زیرا با تولید اسید لاکتیک و اسیدی شدن محیط شرایط برای رشد کپک و مخمر افزایش می‌یابد (Macedo et al., 1995).

جدول ۲- تغییر پارامترهای فیزیکیوشیمیایی \pm انحراف معیار در طول دوره رسیدگی پنیر سنتی کردی.

زمان رسیدگی	۰	۲۰	۴۰	۶۰
pH	$5/29 \pm 0/5^a$	$4/82 \pm 0/56^b$	$4/77 \pm 0/1^{bc}$	$4/69 \pm 0/1^c$
رطوبت (وزنی/وزنی)	$62/27 \pm 0/9^a$	$43/5 \pm 0/6^b$	$40/03 \pm 1^{bc}$	$33/91 \pm 0/4^c$
درصد ماده جامدکل	$38/73 \pm 0/2^a$	$56/85 \pm 0/56^b$	$60 \pm 0/85^{b,c}$	$64/07 \pm 0/4^c$
چربی (درصد)	$20/5 \pm 0/17^a$	$24/2 \pm 1^b$	$27/13 \pm 1^{bc}$	$28/1 \pm 0/3^c$
پروتئین (درصد)	$20/29 \pm 0/2^a$	$22/3 \pm 0/38^a$	$24/1 \pm 0/9^{ab}$	$26/03 \pm 0/3^b$
فعالیت آبی	$0/974 \pm 0/3^a$	$0/953 \pm 0/3^b$	$0/941 \pm 0/2^c$	$0/927 \pm 0/3^c$
نمک (درصد)	$3/18 \pm 0/39^a$	$5/55 \pm 0/11^b$	$5/64 \pm 0/3^b$	$5/71 \pm 0/4^b$
خاکستر (درصد)	$3/92 \pm 0/39^a$	$6/24 \pm 0/09^b$	$8/86 \pm 0/7^c$	$9/53 \pm 0/5^c$

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

تاثیر فرآیند رسیدن پنیر بر کاهش باکتری های کلی فرمی توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Macedo, 1995, Maher, 2001). تحقیقات Govaris و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد، اشرشیاکلی بعد از ۴۰ روز رسیدن در پنیر فتا و تلمز^۱ قابل جداسازی نبود. محققین دیگر نیز گزارش کردند، در پنیر سنتی کاشار^۲، به ترتیب بعد از ۳۰ و ۶۰ روز دوره رسیدن، هیچ گونه کلی فرمی قابل جداسازی نبود (Tarakci, 2009). نتایج بررسی دیگر نشان داد؛ میزان انتروباکترها در پنیر سنتی گستوسو طی ۲ روز رسیدگی به حداکثر خود رسید و بعد از آن شروع به کاهش نمود. بطوریکه بعد از ۶۰ روز هیچ اثری از این باکتری ها در پنیر رسیده یافت نشد (Albenzio, 2001). نتایج تحقیق El-Owni (۲۰۰۸)، نشان داد، میزان کلی فرم از روز اول تولید پنیر تا روز ۶۰ کاهش یافت، بطوریکه در روز ۲۸۰ کلی فرم در نمونه ها مشاهده نشد. میزان اشرشیاکلی نیز در پنیر به طور ناگهانی در روز ۶۰ کاهش یافت به طوریکه در روز ۸۰ هیچ اشرشیاکلی در نمونه ها مشاهده نشد.

اثر زمان رسیدگی بر شمار باکتری های اسید لاکتیک

باکتری های اسید لاکتیک بخشی از فلور میکروبی پنیر بوده که نقش مهمی را در طی رسیدن آن ایفا می کنند (et al., 1995, Tornadijo). این گروه میکروبی سبب افزایش میزان پپتیدهای کوتاه زنجیر، اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای چرب آزاد در پنیر می شوند (Albenzio, 2001, Arenas, 2004). نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد، این باکتری ها شامل فلور میکروبی غالب، در طول دوره رسیدگی نمونه های پنیر کردی بودند (جدول ۳). با این حال دوره رسیدگی تاثیر معنی داری در کاهش جمعیت باکتری های اسید لاکتیک داشت. میزان نرخ کاهش باکتری های اسید لاکتیک در طول دوره رسیدگی به عواملی نظیر حساسیت کشت آغازگر به نمک، فعالیت آبی و توانایی اتولیز سویه ها وابسته است (Vassiliadis, 2009).

Nespolo و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش نمودند شمار باکتری های اسید لاکتیک در طول روزهای اولیه تولید، تقریباً از $7 \log \text{cfu/g}$ به ۹ افزایش یافت و تا انتهای دوره رسیدگی ۳۰ روزه جمعیت بطور ثابت باقی ماند.

مطابق مشاهدات جدول ۳، تغییرات جمعیت لاکتوباسیلوس ها در ابتدا و انتهای دوره رسیدگی و همچنین در میان پنیرها چندان معنی داری نبود ($p > 0.05$). متابولیسم آهسته تر لاکتوباسیل ها و توانایی شان در تطابق با شرایط نامساعد محیطی (اسیدیته، فعالیت آبی پایین و نمک بالا) در مقایسه با سایر اسید لاکتیک باکتری ها می تواند دلیل وجود این گروه باکتریایی در مقادیر بالا در انتهای دوره رسیدگی

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

بررسی نتایج آقازاده مشگی (۱۳۸۶)، بیانگر این مطلب بود که کپکها و مخمرها با تعداد بسیار بالا در نمونه های پنیرکوزه حضور داشتند. بالا بودن تعداد آن ها می تواند نشان دهنده آلودگی محیط شیردوشی، مکان و لوازم یا دست آلوده افراد تهیه کننده پنیر باشد. نتایج Oner و همکاران (۲۰۰۶)، نشان داد؛ میزان کپک و مخمر طی ۱۰۵ روز رسیدگی پنیر سفید ترکی کاهش قابل توجهی نداشته است. حضور مخمرها در پنیر طی دوره رسیدگی ناشی از مقاومت در مقابل کاهش رطوبت و افت pH بواسطه قدرت متابولیزه کردن اسید و نیز فعالیت پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی این دسته از میکروارگانسیم هاست (Welthagen, 1998, Albenzio, 2001). البته یک عامل مهم در افزایش میزان مخمرها، آب نمک مورد استفاده در فرآیند تولید می باشد. با این وجود این نکته را نیز باید در نظر گرفت که میزان مخمرها از یک واحد تولیدی به واحد دیگر و حتی در یک واحد تولیدی یکسان، در روزهای مختلف تولید می تواند متفاوت باشد. این اختلاف می تواند به کارایی پاستوریزاسیون، اختلاف در غلظت آب نمک، درجه حرارت و آلودگی های ناخواسته به مخمرها در طی فرآیند تولید مربوط باشد (Bentsis, 2002).

اثر زمان رسیدگی بر شمار کلی فرم و اشرشیاکلی

مطابق نتایج جدول ۳، زمان رسیدگی تاثیر معنی داری بر شمار کلی فرم ها و اشرشیاکلی داشت ($P < 0.05$). بطوریکه جمعیت آنها در پنیرهای رسیده ۶ تا ۸ سیکل لگاریتمی کمتر از نمونه های پنیر تازه بود. اما در روز ۶۰ حذف کلی اشرشیاکلی در نمونه های پنیر رسیده مشاهده شد. براساس ضوابط استاندارد ایران شمار کلی فرم در پنیر سفید ایرانی نباید بیشتر از 10^6cfu/g بوده و همچنین فاقد اشرشیاکلی باشد (۶۰۵). آلودگی پوست بز، آلودگی دست هنگام انتقال پنیر به درون پوست یا آلودگی محیط کار از عوامل افزایش این گروه از میکروارگانسیم ها در روزهای اولیه تولید است با این حال فاکتورهای متعددی در کاهش میزان کلی فرمها در طی دوره رسیدگی نقش دارند که از این میان می توان به افزایش غلظت نمک، نگهداری در دمای پایین، فعالیت باکتری های اسید لاکتیک، کاهش pH، آنتاگونیسم ایجاد شده توسط سایر فرآورده های متابولیکی تولیدی و کاهش مواد مغذی اشاره نمود (Albenzio, 2001, Fox, 2000, Caridi, 2003, Bentsis, 2002). به عنوان مثال، سوش های لاکتوباسیلوس پاراکازئی زیرگونه پاراکازئی از طریق تولید باکتریوسین اثر آنتاگونیستی شدیدی علیه اشرشیاکلی اعمال می کنند (Ceylan, 2003, El-Owni, 2008).

1- Telemes

2- Kashar

حال مشخص است که بقای گونه‌های سالمونلا در پنیرهای مختلف، متفاوت می‌باشد و بیانگر این مطلب است که وضعیت فیزیولوژیکی و نیز سوش‌های مختلف این میکروارگانیسم، روی بقای آن تاثیر گذار می‌باشند. مشخص شده است که گونه‌های سالمونلا قادرند با تنش‌های مختلف موجود در محیط، خود را تطبیق دهند. به عنوان مثال سازگاری با اسید، نمک‌ها و دما که تمامی این موارد می‌تواند به افزایش بقای آن‌ها در محیط کمک کند (Leyer & Erkmén, 1995).

مطابق نتایج Bintsis و همکاران (۲۰۰۲)، در پنیر فتای حاصل از شیر خام، بطور کامل رشد سالمونلا متوقف شد، این پدیده بواسطه عدم تحمل غلظت بالای نمک (70g L^{-1}) این سویه قابل توجه است. نرخ کاهش جمعیت سالمونلا به عواملی نظیر غلظت نمک، فعالیت سویه آغازگر و زمان رسیدگی وابسته است (Ekmen *et al.*, 1995).

اثر زمان رسیدگی بر شمارش استافیلوکوک‌های کواگولاز مثبت
در پژوهش حاضر، گونه استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در انتهای دوره رسیدگی هیچ یک از نمونه‌های پنیر مشاهده نشد (جدول ۳).

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

در بررسی انجام شده توسط El Owni (۲۰۰۸) روی پنیر گینابایدا^۱ که از شیر خام تهیه می‌شود، شمارش استافیلوکوکوس

باشد (Arenas, 2004). نتایج پژوهش اخیر با مشاهدات Tornadijo (1995) در خصوص پنیر آرمادا، و Navidghasemzad و همکاران، (۲۰۰۹) در خصوص پنیر لیقوان، مطابقت داشت. براساس گزارشات بدست آمده در طول فرآیند تخمیر پنیر، متابولیت‌های متنوعی نظیر لاکتات، سترات، گلیسرول و آمینواسیدها تولید شده که به خوبی توسط لاکتوباسیلوس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Couret, 2003 و Oner *et al.*, 2006).

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

انتروکوکسی‌ها در گروه اسید لاکتیک باکتری‌های غیر آغازگر قرار گرفته و اهمیت تکنولوژیکی آن‌ها مربوط به توانایی شان در تولید اسیدیته و فعالیت لیپولیتیک و پروتئولیتیک می‌باشد (Menendez, 1998). لذا می‌تواند در رسیدگی پنیر نقش عمده‌ای را بر عهده داشته باشند. تعداد باکتری‌های انتروکوک می‌تواند در هر بار تولید پنیر متفاوت باشد که این تفاوت ناشی از آلودگی پنیر در طی مراحل ساخت به این گروه باکتریایی است (Arenas, 2004). شمارش انتروکوک‌ها نشان داد در ۲۰ روز اول دوره رسیدگی دارای جمعیت بیشینه بودند با این حال، مدت زمان رسیدگی تاثیر معنی‌داری بر تغییرات جمعیت این باکتری‌ها در نمونه‌های پنیر نداشت ($p > 0.05$). علت این افزایش می‌تواند ناشی از توانایی رشد باکتری‌های انتروکوک در غلظت‌های بالای نمک و همچنین قابلیت رقابت با سایر فلورهای میکروبی موجود در پنیر باشد (Vassiliadis, 2009). همکاران (۲۰۰۲)، نیز در گزارش خود به جمعیت بالای انتروکوکوس‌ها در نمونه پنیر تازه اشاره نمودند.

اثر زمان رسیدگی بر شمارش سالمونلا

نتایج آزمون‌های تاییدی به منظور شناسایی سالمونلا در جدول ۳ نشان داده شده است. مطابق نتایج، در انتهای دوره رسیدگی ۶ نمونه پنیر، هیچ گونه سالمونلا یافت نشد. فاکتورهایی که در پنیر بر رشد و بقای گونه‌های سالمونلا تاثیر می‌گذارند، هنوز به طور کامل مشخص نشده است. به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آب و اسیدیته پائین در بقای این میکروارگانیسم اثر مساعدی داشته باشد. تحقیقات نشان دادند، در صورت آلودگی شیر به گونه‌های سالمونلا بعد از انجام فرآیند پاستوریزاسیون، این میکروارگانیسم قادر است در طی پروسه تولید پنیر، بقای خود را حفظ کند و برای ماه‌ها در پنیر باقی بماند. با این

ارزیابی زمان رسیدن بر ویژگی حسی پنیر سنتی کردی

نتایج تجزیه آماری خواص حسی نمونه‌های پنیر در بازه ۶۰ تا ۱۲۰ و ۱۸۰ روز رسیدگی در جدول ۴ قابل مشاهده است. بر این اساس امتیاز ویژگی‌های حسی نظیر رنگ، بو و طعم، همزمان با افزایش دوره رسیدگی تا ۱۲۰ روز افزایش یافت. اما از لحاظ آماری اختلاف معنی دار نبود. پدیده حاضر بواسطه افزایش غلظت اسید چرب و گروه‌های اسید آمینه قابل توجه است. میانگین امتیازات مربوط به طعم نمونه‌های پنیر در جدول ۴ نشان داده شده است؛ همانطور که مشاهده می‌شود تأثیر زمان رسیدگی بر طعم پنیر معنی دار بود، چنانکه در پنیر رسیده ۱۸۰ روز امتیاز طعم به شدت کاهش یافت؛ اگرچه ایجاد طعم تلخ در برخی از انواع پنیر رسیده گزارش گردیده که ناشی از تجزیه بیشتر بتاکازین توسط پلاسمین در آنها می‌باشد اما به نظر می‌رسد که پروتئین‌های محلول موجود در پنیرهای تازه از فعالیت بیش از حد پلاسمین جلوگیری می‌کنند. لذا فاقد طعم تلخ می‌باشند (Bastian, 1996). اسیدهای چرب آزاد تولیدی طی فرآیند لیپولیزو یا متابولیسم کربوهیدرات و آمینواسیدها توسط باکتری‌ها، مستقیماً در توسعه طعم پنیر مؤثرند، بویژه زمانی که نوعی توازن مناسب میان فرآورده‌های پروتئولیزو و لیپولیزو سایر واکنش‌ها در پنیر موجود باشد. از این رو می‌توان دریافت؛ عطر و طعم پنیر ارتباط نزدیکی با اسیدیته، میزان چربی در ماده خشک و مقدار آمینواسید و اسید چرب آزاد دارد (Kanawjia, 1995).

اورئوس در روز تولید معادل $3/0.2 \pm 0/2$ Log CFU/g بود و پس از ۲۴۰ روز هیچ استافیلوکوکی در نمونه‌ها مشاهده نشد. افزایش فعالیت آغازگرها، رقابت میکروبی باکتری‌های مولد اسید لاکتیک، کاهش pH، تولید آب اکسیژنه توسط سیستم لاکتوز پراکسیداز، رقابت بر سر تامین مواد غذایی، ازدیاد مواد دفعی، دمای ذخیره‌سازی پنیر، افزایش غلظت نمک و حتی تولید مواد آنتی بیوتیکی مثل نایسین از دلایل کاهش تعداد یا حذف استافیلوکوکوس اورئوس در پایان دوره رسیدن به شمار می‌روند (Viana, 2009). برخی از باکتری‌های اسیدلاکتیک نه تنها در برابر اسید مقاوم بوده بلکه برای رشد نیازمند pH پایین نیز می‌باشند. لاکتوباسیل‌ها قادرند به راحتی در pH معادل ۳/۵ زنده بمانند (McDonald et al., 1999). توانایی اخیر نقش بارزی در تحمل رشد لاکتوباسیل‌ها در محدوده pH کشنده استافیلوکوک‌ها و سایر پاتوژن‌های وابسته در طول فرآیند تخمیر مواد غذایی ایفا می‌نماید (Oner et al., 2006). البته لازم به ذکر است که اگر چه استافیلوکوکوس اورئوس با گذشت زمان از بین می‌رود ولی انتروتوکسین تولید شده از آن می‌تواند فعالیت بیولوژیکی خود را همچنان حفظ کند. بنابراین عدم حضور باکتری به منزله ایمنی کامل محصول نیست و احتمال مسمومیت غذایی وجود دارد. بنابراین اگر قرار باشد نمونه پنیر از لحاظ حضور این میکروارگانیسم بررسی شود، آزمون باید بلافاصله بعد از تولید پنیر انجام شود (مطابق بررسی انجام شده در این مقاله) تا مشخص شود آیا میزان باکتری می‌تواند در محدوده تولید انتروتوکسین باشد. (McDonald et al., 1999, Lindqvist, 2002).

جدول ۳- تغییرات جمعیت میکروارگانیسم‌ها ($\log \text{cfu g}^{-1} \pm$ انحراف معیار) در طول دوره رسیدگی پنیر سنتی کردی.

جمعیت میکروارگانیسم	زمان رسیدگی (روز)			
	۰	۲۰	۴۰	۶۰
شمارش کلی	$9/93^{a*} \pm 1$	$9/48^{ab} \pm 0/7$	$9/28^{ab} \pm 1$	$9/06^{ab} \pm 0$
کپک و مخمر	$5/6^a \pm 0/9$	$5/95^{ab} \pm 0/4$	$6/04^b \pm 1/2$	$5/71^a \pm 0/8$
کلی فرم	$8/23^c \pm 0/1$	$7/99^{bc} \pm 1$	$5/13^b \pm 0/3$	$1/05^a \pm 0/5$
اشرشیاکلی	$5/27^{cd} \pm 0/2$	$5/09^c \pm 0/2$	$3/30^b \pm 0/1$	$0^a \pm 0$
سالمونلا	$2/11^b \pm 0/4$	$1/13^a \pm 1$	$0/518^a \pm 0/8$	$0^a \pm 0$
استافیلوکوک گواگولاز+	$3/06^b \pm 0/6$	$1/22^a \pm 0/4$	$1/02^a \pm 0/6$	$0^a \pm 0$
لاکتوکوکوس مزوفیل	$7/53^{ab} \pm 1$	$8/12^b \pm 0/1$	$7/39^a \pm 0/8$	$6/85^a \pm 0/6$
لاکتوکوکوس ترموفیل	$7/61^{ab} \pm 0/3$	$7/47^a \pm 0/03$	$7/17^a \pm 0/4$	$6/94^a \pm 0/8$
لاکتوباسیل مزوفیل	$7/68^a \pm 0/1$	$7/72^a \pm 1$	$7/36^a \pm 0/5$	$7/21^a \pm 1$
لاکتوباسیل ترموفیل	$8/27^b \pm 0/3$	$7/53^{ab} \pm 0/1$	$7/26^a \pm 0/7$	$7/07^a \pm 0/2$
انتروکوکوس	$6/98^a \pm 0/9$	$7/17^a \pm 0/5$	$6/96^a \pm 0/6$	$6/91^a \pm 0/7$

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

جدول ۴- ارزیابی ویژگی‌های حسی \pm انحراف معیار، در طول دوره رسیدگی پنیر سنتی کردی.

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

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

مصرف پنیر کردی بازه زمانی ۱ الی ۲ ماه می باشد.

نتیجه گیری

بررسی‌های میکروبی نشان دادند که در روزهای نخست بررسی، نمونه‌های پنیر کردی آلودگی داشتند اما به تدریج با افزایش دوره رسیدگی، به دلیل فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک، کاهش pH، افزایش غلظت نمک و نگهداری در دمای پایین، نمونه‌ها فاقد استافیلوکوک‌های کوآگولاز مثبت و سالمونلا بودند. با این وجود در زمان‌های مختلف و بسته به شرایط تولید نتایج متفاوتی را در این زمینه می‌توان انتظار داشت. پنیر تازه دارای کلی‌فرم و اشرشیاکلی بوده که بیانگر بار میکروبی بالای شیر مورد استفاده برای تولید این پنیر سنتی است؛ بنابراین مصرف این محصول در زمان تولید نادرست می‌باشد. اما تاکید بر طی شدن کامل زمان رسیدن به منظور کاهش pH و افزایش بار میکروبی مفید طی این دوره خطر آلودگی را کاهش می‌دهد. از این رو کاملاً مشهود است که مدت زمان رسیدگی به عنوان یک انتخاب کننده طبیعی عمل می‌کند؛ بدین سان باکتری‌های اسید لاکتیک در دوره زمانی مناسب بطور طبیعی از رشد پاتوژن‌ها ممانعت به عمل می‌آورند. بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی حسی، فیزیکی و شیمیایی و میکروبی، زمان مصرف پنیر کردی تولیدی از شیر خام، پس از حداقل ۶۰ روز رسیدگی پیشنهاد می‌شود.

عطر و طعم منحصر به فرد پنیرهای سفید نظیر پنیر کردی ناشی از میزان نمک و اسیدیته بالای آن است. کاهش امتیاز بو و طعم در پنیر رسیده ۳ ماهه به دلیل افزایش آبکافت پروتئین، تشکیل بیوپپتیدهای تلخ و افزایش فرآیند لیپولیز، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر قابل توجه است (Litopoulou, 1993 & El-Owni, 2008). آنالیز واریانس نتایج حاصل از ارزیابی بافت نمونه‌های پنیر نشان داد پنیرهای رسیده ۶۰ و ۱۲۰ روزه دارای بیشترین امتیاز بافت بودند؛ علت مطلوبیت بافت در نمونه‌های پنیر شاید به دلیل پایین بودن رطوبت و بالا بودن چربی و ماده خشک باشد. اما به تدریج با افزایش دوره رسیدگی بافت پنیرها به طرز نامطلوبی نرم شد، مطلب اخیر به موازات کاهش رطوبت پنیر سبب از بین رفتن بافت منسجم پنیر با کوچک‌ترین نیرو گردید. بطور کلی ارتباط میان پروتئولیز و تغییرات بافت پنیر طی رسیدگی بسیار پیچیده است. محققین تجزیه AS_1 کازئین به AS_1 -CN را عامل اصلی نرم شدن بافت پنیر عنوان کرده اند (De Jong, 1976).

چربی یکی از مهمترین عوامل ایجاد رنگ و آروما در پنیر است و افزایش فرآیند لیپولیز در انتهای دوره رسیدگی سبب افزایش رنگ پنیر از سفید به کرم گردید. امتیاز مربوط به رنگ نمونه‌های پنیر در طول دوره رسیدگی افزایش یافت اما از لحاظ آماری اختلاف معنی دار نبود. با ملاحظه جدول ۴ می‌توان دریافت که عامل زمان اثر معنی داری بر امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های پنیر داشته است. چنانکه نمونه‌های پنیر ۱۲۰ روزه دارای بالاترین امتیاز حسی بودند. از این رو با توجه به ایمنی مصرف پنیر کردی در طول دوره رسیدگی ۶۰ روزه زمان بهینه

منابع

- آقازاده مشگی، م.، ۱۳۸۶، بررسی پاره ای از خصوصیات میکروبیولوژیکی و شیمیایی پنیر کوزه در آذربایجان غربی. *مجله ی علوم غذایی و تغذیه*. دوره ۴، شماره ۳، صفحات ۸۷-۸۰.
- خمیری، م.، قاسمیان فرد، م.، ۱۳۸۵، مقایسه وضعیت میکروبی شیر خام تولید شده در دامداری‌های سنتی و صنعتی شهر گرگان و حومه. *مجموعه مقالات شانزدهمین کنگره ملی صنایع غذایی، گرگان*.
- سالک مقدم، ع.، فرحوش تهرانی، ه.، انصاری، ح.، روادگر، ب.، نورانی وطنی، الف و قاسمی، م.، ۱۳۸۰، بررسی آلودگی میکروبی در نمونه‌های پنیر غیر پاستوریزه در مقایسه با پنیرهای پاستوریزه و تاثیر مقادیر مختلف نمک اضافه شده به پنیر بر روی باکتری‌های بیماری‌زای آلوده کننده. *مجله ی دانشگاه علوم پزشکی ایران*. دوره ۸، شماره ۲۵، صفحات ۲۹۳-۲۹۹.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۱، شیر و فرآورده‌های آن - روش شمارش کلی پرگنه‌های میکروارگانیزم‌ها در ۳۰ درجه سلسیوس. استاندارد ملی ایران، شماره ۵۴۸۴.

- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۱، شیر و فرآورده‌های آن - شمارش کلی فرم‌ها قسمت دوم - روش شمارش بیشترین تعداد احتمالی ۳۰ درجه سلیسیوس. استاندارد ملی ایران، شماره ۲-۵۴۸۶.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۹، شیر و فرآورده‌های آن - شمارش اشریشیا کلی - روش بیشترین تعداد احتمالی (MPN). استاندارد ملی ایران، شماره ۵۲۳۴.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۶، شیر و فرآورده‌های آن - شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و یا مخمر - شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۱۵۴.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۸، شیر و فرآورده‌های آن - شناسایی سالمونلا. استاندارد ملی ایران، شماره ۴۴۱۳.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۵، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش استافیلوکوکوس‌های کوگولاز مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و سایر گونه‌ها). استاندارد ملی ایران، شماره ۳-۸۶۰۶.
- Albenzio, M., Corbo, M. R., Rehman, S. U., Fox, P. F., De Angelis, M., Corsetti, A., 2001. Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk, or by heating the curd in hot whey. *International Journal of Food Microbiology* 67, 35- 48.
- Aly, A S, and Galal E A .2002. Effect of milk pretreatment on the keeping quality of Domiati cheese. *Pakistan Journal of Nutrition* 1(3), 132-136.
- AOAC .2000. Official methods of analysis. VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Arenas, R., Gonzalez L., Bernardo A., Fresno J. M., & Tornadijo M. E. 2004. Microbiological and physico-chemical changes in Genestoso cheese, a Spanish acid curd variety, throughout ripening. *Food Control* 15, 271-279.
- Awad, S .2006. Texture and flavour development in Ras cheese made from raw and pasteurised milk. *Food Chemistry* 97, 394-400
- Bentsis, T and Papademas P .2002. Microbiological quality of white brined cheese, *International journal of dairy technology*. 55(3), 114-120.
- Caridi, P, Micari P, Caparra P, Cufari A, & Sarullo V .2003. Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physicochemical properties of the ewes cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal*, 13, 191-200.
- Ceylan, Z G, Turkoglu H, and Dayisoylu S .2003. The microbiological and chemical quality of Skima cheese produced in Turkey. *Pakistan Journal of Nutrition* 2, 95-97.
- Couret, V, Dubernet S, Bernardeau M, Gueg M .2003. Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Lait*, 83(4), 269-306
- Cuesta, P., Fernández-García, E., González de Llano, D., Montilla, A., Rodríguez, A. 1996. Evolution of the Microbiological and Biochemical Characteristics of Afuega'l Pitu Cheese during Ripening. *Journal of Dairy Science*. 79(10), 1693-1698.
- De Jong, L. 1976. Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. 1. Proteolysis and consistency of 'Noordhollandse' cheese. *Netherlands Milk Dairy Journal*. 30, 242-253.
- Edalatian, M R, Habibi Najafi M B, Mortazavi S A, Alegria A, Nassiri M R, Bassami M R & Mayo B. 2012. Microbial diversity of the traditional Iranian cheeses Lighvan and Koozeh, as revealed by polyphasic culturing and culture-independent approaches. *Dairy Science & Technology*. 92(1), 75-90
- El-Owni, O A and Hamid O I .2008. Effect of storage period on weight loss, chemical composition, microbiological and sensory characteristics of Sudanese white cheese. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7, 75-80.
- Erkmen, O .1995. Behaviour of *Staphylococcus aureus* in Turkish feta cheese during manufacture and ripening. *Journal of Food Protection* 58, 1201-1205.
- Fox, P F, Guinee T P, Cogan T M, McSweeney P L H .2000. Pathogens and food-poisoning bacteria in cheese, in *Fundamentals of Cheese Science*. Eds. Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M.,
- García Fontán M, Franco I, Prieto B .2001. Microbiological changes in San Simón cheese throughout ripening and its relationship with physico-chemical parameters. *Food Microbiology*. 18(1), 25-33
- Govaris, A., Papageorgiou, D. K., Papatheodorou, K. 2002. Behavior of *Escherichia coli* 0157:H7 during the manufacture and after. *Journal of Food Protection*, 65, 609-615
- Hayaloglu, A. A., Cakmakci, S., Brechany, E. Y., Deegan, K. C. McSweeney, P. L. H. 2007. Microbiology, Biochemistry, and Volatile composition of Tulum Cheese Ripened in Goat's Skin or Plastic Bags, *Journal of Dairy Science*, 90(3), 1102-1121.
- Kanawjia, S.K. Rajesh, P. Singh S. 1995. Flavour, chemical and textural profile changes in accelerated ripened Gouda cheese. *LWT - Food Science and Technology*. 28(6), 577-583
- Lindqvist R, Sylve'n S, & Vagsholm I .2002. Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 155-170.
- Litopoulou, T E, Tzanetakis N, and Vafopoulou A .1993. Effect of the type of lactic starter on microbiological, chemical and sensory characteristics of feta cheese. *Food Microbiology* 10, 31-41.
- Macedo A C, Malcata F X, Hogg T A, .1995. Microbiological profile in Serra ewe' s cheese during ripening. *Journal of Applied Bacteriology*. 79, 1-11.
- Maher, M M, Jordan K N, Upton M E, Coffey A .2001. Growth and survival of *E. coli* O157:H7 during the

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

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

S.A. Mortazavi^{1*}-E. Milani² -M. Moeenfar³

Received:20-06-2012

Accepted: 27-11-2013

Abstract

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

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

1 Professor. , Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

2 Assistant professor. Iranian Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Mashhad, Iran

3 PhD. student, University of Porto, Portugal

(* - Corres ponding Author Email: Mortaza1973@yahoo.com)