

# **Investigating the effect of ozone on the physicochemical, microbial and sensory properties of brined ultrafiltered cheese during ripening**

**Aliakbar Gholamhosseinpour<sup>1\*</sup>, Ali Karimi Davijani<sup>2</sup>, Mostafa Karami<sup>3</sup>**

1. Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

2. Former Msc. Student of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

3. Associate Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

<sup>1\*</sup>Aliakbar Gholamhosseinpour (Corresponding author)

Email: gh\_ali58@yahoo.com; ghal@jahromu.ac.ir

## **Introduction**

Cheese is the general name of a group of fermented dairy products that are produced all over the world in a variety of flavours, textures, and shapes. This product contains various proteins, minerals, and vitamins, all of which add to its high nutritional quality. White-brined cheeses are soft cheeses that ripen in brine. Today, brined ultrafiltered cheese, as a popular product, has allocated a broad consumer market in our country. The use of thermal processes to prolong the shelf life of foods has long been considered, but these methods lead to a decrease in nutritional value and product quality. Emerging non-thermal technologies, including ultrasound, pulsed electric field, high hydrostatic pressure, cold plasma and ozone have revolutionized the food processing sector. These processes can improve the safety and quality of food products and increase their shelf life by reducing food spoilage. In addition to increasing food storage time, these technologies are expanding in the industry due to reduced energy consumption. Ozone is one of the most effective disinfectants known that does not leave any dangerous residue on food or other surfaces in contact with it. Ozone treatment does not require heat and therefore saves energy. Ozonation, as a novel technology, is widely used in preserving meat, processing oysters, inhibiting microbial growth, and oxidizing phenolic compounds. Ozone has been mainly used in the dairy industry to reduce or inhibit the growth of

pathogenic or spoilage microorganisms, in contrast, its effect on the non-microbial properties of dairy products has not been studied much.

### Materials and methods

Cheese production was carried out by ultrafiltration technology in the Hamedan Pegah dairy complex (Hamedan, Iran). The starter culture used in cheese production was R708 (containing *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* and *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*), which was obtained from Christian Hansen, Denmark. Microbial renin enzyme (Proteria, Handry company, Belgium) was also used for coagulation. Analytical grade chemicals were also purchased from Merck, Darmstadt, Germany. Ozone gas at concentrations of 2 and 5 ppm was used in different stages of brined ultrafiltered cheese production and then the samples were subjected to physicochemical (total solids (TS), ash, pH, salt, protein, fat, acid degree value (ADV)), microbiological and organoleptic (based on the 5-point hedonic scale) analyses at 35-day intervals during a ripening period of 105 days. Ozone treatments were: Ozonation of concentrate simultaneously with starter inoculation (OA), Ozonation of concentrate before starter inoculation (OB), Ozonation of concentrate (before starter inoculation) and brine (OC), Ozonation of brine (OD) and control (C). Statistical analysis (One-way ANOVA and Duncan) was performed at a significance level of 95% by the SPSS package program (v. 20.0, Chicago, IL, USA).

### Results and discussion

Based on the results, the amounts of total solids, ash, salt, ADV and syneresis of cheeses increased significantly ( $p \leq 0.05$ ), while the protein and fat contents of the samples decreased significantly ( $p \leq 0.05$ ) during the ripening period. The pH of the samples decreased from day 0 to 35 and then increased in most samples until the end of the ripening period. The total counts in the samples increased initially until day 70 but then decreased until the end of the ripening period. In general, during the ripening, cheeses treated with 5 ppm ozone had lower microbial load and higher lipolysis compared to samples treated with 2 ppm ozone. In addition, in most treatments, the sensory scores of cheeses at the end of the ripening period were significantly ( $p \leq 0.05$ ) higher than those at the beginning of the ripening period. Although the use of ozone treatment was able to improve some of the sensory properties of the cheeses, in general, this increase was not significant compared to the control, especially at the end of the ripening period.

The positive microbial and physicochemical effects of ozone treatment on cheese samples increased the shelf life of brine cheese up to 105 days (30 days more than usual) without having a negative effect on its sensory properties. Therefore, ozone can be used as a non-thermal treatment to increase shelf life and improve some physicochemical characteristics of cheese.

**Keywords:** Ozonation, Brined cheese, storage period, physicochemical properties

# بررسی اثر ازن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی پنیر فراپالایش آب‌نمکی

## طی دوره رسیدگی

علی‌اکبر غلامحسین‌بور<sup>۱\*</sup>، علی کریمی‌داویجانی<sup>۲</sup>، مصطفی کرمی<sup>۳</sup>

۱. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

۲. دانشجوی سایق گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

۳. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

<sup>۱\*</sup>علی‌اکبر غلامحسین‌بور (نویسنده مسئول):

ایمیل: gh\_ali58@yahoo.com; ghali@jahromu.ac.ir

## چکیده

ازن یک فرایند غیرحرارتی است که می‌تواند باعث بهبود کیفیت و ارتقای اینمی مواد غذایی شده و دوره نگهداری آنها را افزایش دهد. در این پژوهش، از گاز ازن در غلظت‌های ۲ و ۵ ppm، در تولید پنیر فراپالایش آب‌نمکی استفاده گردید و پس از آن نمونه‌ها طی دوره رسیدگی ۱۰۵ روزه مورد آزمایش‌های میکروبی، فیزیکوшیمیایی و حسی قرار گرفتند. ازن‌رتبه کنسانتره همزمان با تلقیح آغازگر (OA)، ازن‌رنی کنسانتره قبل از تلقیح آغازگر (OB)، ازن‌رنی کنسانتره (قبل از تلقیح) و آب‌نمک (OC)، ازن‌رنی آب‌نمک (OD) و نمونه شاهد (C) تیمارهای مورد استفاده بودند. طبق نتایج، مقادیر مواد جامد، خاکستر، نمک، عدد اسیدی و آب‌اندازی پنیرها با گذشت زمان رسیدگی به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) افزایش پیدا کرد، در حالی که مقادیر پروتئین و چربی نمونه‌ها به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) کاهش یافت. pH نمونه‌ها نیز از روز صفر تا ۳۵ کاهش و پس از آن در اکثر نمونه‌ها تا انتهای دوره رسیدگی افزایش پیدا کرد. شمارش کلی میکروبی نمونه‌ها نیز ابتدا تا روز ۷۰ افزایش یافت، اما در ادامه تا انتهای دوره رسیدگی کاهش پیدا کرد. طی رسیدگی، شمارش کلی پنیرهای تیمار شده با دوز ۵ ppm ازن، کمتر از نمونه‌های تیمار شده با دوز ۲ ppm ازن بود. پنیرهای تیمار شده با دوز ۵ ppm ازن نیز عدد اسیدی بیشتری از نمونه‌های تیمار شده با دوز ۲ ppm ازن داشتند. با افزایش زمان رسیدگی، عدد اسیدی نمونه‌های OB5 و OC5 به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. آب‌اندازی نمونه‌های OA5 و OB5 از روز ۷۰ به بعد به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) از دیگر نمونه‌ها بالاتر بود. در بیشتر تیمارها، امتیاز حسی پنیرهای انتهایی دوره رسیدگی در مقایسه با پنیرهای ابتدایی دوره به طور معنی‌داری

( $p \leq 0.05$ ) بالاتر بود و هرچند تیمار ازن توانست برخی از ویژگی‌های حسی پنیرها را ارتقا دهد، اما در کل این افزایش نسبت به نمونه شاهد، خصوصاً در انتهای دوره رسیدگی، معنی‌دار نبود.

### واژه‌های کلیدی: ازن‌زنی، پنیر آبنمکی، دوره نگهداری، ویژگی‌های فیزیکوشیمیابی

## مقدمه

استفاده از فرایندهای حرارتی به منظور افزایش ماندگاری مواد غذایی از دیرباز مورد توجه بوده است، اما این روش‌ها منجر به کاهش ارزش غذایی و افت کیفیت محصول می‌شوند. فناوری‌های غیرحرارتی نوظهور از جمله فراصوت، میدان الکتریکی پالسی، فشار هیدرواستاتیک بالا و فناوری ازن بخش فرآوری مواد غذایی را متحول کرده و با کاهش فساد مواد غذایی، باعث بهبود و ارتقای سطح ایمنی و کیفی مواد غذایی و افزایش ماندگاری آنها شده‌اند (Allai *et al.*, 2022).

ازن یکی از مؤثرترین مواد ضد عفونی کننده شناخته شده است که هیچ‌گونه باقی‌مانده خط‌ناکی بر سطوح مواد غذایی و یا سایر سطوح در تماس با آن باقی نمی‌گذارد. تیمار ازن نیاز به گرم‌انداشته و از این رو باعث صرفه‌جویی در مصرف انرژی می‌شود (Khadre, 2001). ازن، به عنوان یک گاز بسیار واکنش‌پذیر، نسبتاً ناپایدار بوده و در محلول آبی (آب مقطر ۲۰ درجه سانتی‌گراد) نیمه عمری حدود ۲۰ تا ۳۰ دقیقه دارد. در صورت وجود مواد آلی در محیط، نیمه عمر ازن کوتاه‌تر خواهد بود (Eglezos and Dykes, 2018). تأثیرات ضد میکروبی ازن بر طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و اسپورهای باکتریابی تأیید شده است (Kunicka-Styczyńska and Rajkowska, 2011). ازن کاربردهای بسیاری در زمینه‌های مختلف از جمله نگهداری گوشت، فرآوری صدف، جلوگیری از رشد مخمرها و کپک‌های موجود در میوه‌جات، تخم مرغ و پنیر، اکسایش آهن و منگنز موجود در آب آشامیدنی، اکسایش ترکیبات فنی و سوموم دفع آفات و همچنین کنترل رنگ آبهای سطحی و حضور جلبک‌ها دارد (O'Donnell *et al.*, 2012).

پنیر نام عمومی گروهی از فراورده‌های لبنی تخمیری است که در سراسر جهان در طعم، بافت و شکل‌های بسیار متنوعی تولید می‌شود (Gunasekaran and Ak, 2002). پنیرهای سفید تهیه شده در آب نمک اساساً جزء پنیرهای نرم می‌باشند که در آب نمک رسیده و نگهداری می‌شوند. مهمترین دلایل استفاده از آب نمک در این فرآورده‌ها جذب آب اضافی و تکمیل آب‌گیری دلمه، افزایش قوام و استحکام دلمه، جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب، تعدیل رشد میکروارگانیسم‌های مطلوب از جمله باکتری‌های اسید لакتیک، کنترل فعالیت آنزیمی طی دوره رسیدگی پنیر و ایجاد عطر و طعم مناسب از طریق کنترل واکنش‌های بیوشیمیابی نظریه پروتولیز،

لیپولیز و گلیکولیز می‌باشند (Dorostti *et al.*, 2011). امروزه پنیر فراپالایش آبنمکی، به عنوان یک محصول پر طرفدار، بازار مصرف مناسبی را به خود اختصاص داده است.

هدف تیمار محصولات لبنی با اُزن، افزایش کیفیت و کاهش آلودگی میکروبی آنها می‌باشد. در یک پژوهش مشخص شد که اُزن باعث غیر فعال شدن کامل لیستریا مونوستیوئنر در شیر خام می‌گردد (Sheelamary and Muthukumar, 2011). در پژوهشی دیگر از اُزن برای پیش تیمار شیر خام، قبل از فرآیند حرارتی پاستوریزاسیون، استفاده گردید. این فرآیند باعث ماندگاری طولانی شیر با حفظ محتوای چربی و پروتئین گردید و هیچ اثری از اکسیداسیون مشاهده نشد (Varga and Szigeti, 2016).

سگات و همکاران (Segat *et al.*, 2014)، آب اُزینیزه را به عنوان یک ضدغوفونی کننده موثر برای سطح پنیر موزارلا پیشنهاد کردند. در مطالعه آنها، پیش تیمار آب با ۲ میلی‌گرم در لیتر اُزن منجر به بهبود کیفیت میکروبی و افزایش ماندگاری محصول نهایی گردید. سوبراپتو و همکاران (Suprapto *et al.*, 2021)، تأثیر اُزن بر فعالیت فیزیکوشیمیایی و میکروبی شیر تازه را مورد مطالعه قرار دادند. آنها شیر را به مدت صفر (شاهد)، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه تحت تیمار اُزن (۷۰٪ / ۰.۲ میلی‌گرم در دقیقه) قرار داده و تأثیر آن را بر دانسیته، پروتئین، چربی و شمارش کلی باکتری‌ها بررسی کردند. نتایج نشان داد که تیمار اُزن تأثیر معنی‌داری بر دانسیته، پروتئین و چربی شیر نداشت، اما اثر آن بر شمارش کلی باکتری‌ها معنی‌دار بود ( $p \leq 0.05$ ) و تعداد آنها در طول زمان قرار گرفتن در معرض اُزن کاهش یافت. در پژوهش دیگری، آب اُزینیزه (۲ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱ تا ۲ دقیقه) برای بهبود کیفیت میکروبی پنیر میناس فرسکال مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که اگرچه اُزن تعداد کل مزوپلی‌های هوایی، باکتری‌های اسید لاکتیک، کپک و مخمرا کاهش داد، اما پس از ۳۰ روز نگهداری، بر میزان بقای این میکروارگانیسم‌ها تأثیری نداشت. با این وجود، اُزن توانست خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اولیه پنیر را حفظ کند (Cavalcante *et al.*, 2013).

در پژوهش حاضر تأثیر اُزن بر ویژگی‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر فراپالایش آبنمکی طی دوره رسیدگی بررسی گردید. به دلیل غیر مداوم بودن خط تولید پنیر فراپالایش آب نمکی امکان بروز آلودگی ثانویه در خط پسیار شایع می‌باشد که یکی از اهداف این پژوهش بررسی قابلیت کاربردی اُزن جهت رفع این مشکل می‌باشد. علاوه بر این، پتانسیل اُزن در افزایش دوره نگهداری پنیرها نیز مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، با توجه به ضعیف بودن خواص حسی پنیر فراپالایش، یکی دیگر از اهداف، بررسی اثر اکسایشی اُزن جهت اصلاح خواص ارگانولپتیک محصول طی دوره رسیدگی بود.

## مواد و روش‌ها

### تولید پنیر

نمونه‌های پنیر در کارخانه پگاه همدان تولید شدند. پس از استانداردسازی و تهیه کنسانتره، عملیات هموژنیزاسیون و سپس پاستوریزاسیون (۷۵ درجه سانتی‌گراد) انجام گردید. در ادامه کنسانتره جهت تلقیح آغازگر تا دمای ۴۰ الی ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک گردید. پس از تلقیح آغازگر و به‌منظور تشکیل دلمه اولیه، رنت با کنسانتره مخلوط شد و حلب‌ها به صورت لایه لایه با کنسانتره پر گردیدند. به منظور کاهش pH تا ۴/۸، پنیرها حدود ۱۵ تا ۱۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از این مدت، عملیات برش‌زنی دلمه توسط تیغه‌های مخصوص انجام شد و سپس آب‌نمک ۱۰ تا ۱۲ درصد به پنیرها اضافه گردید. در نهایت نیز حلب‌ها دربندی شده و برای انجام آزمون‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی طی دوره رسیدگی ۱۰۵ روزه به سرخانه ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. تیمارهای اعمال شده از ن در مراحل مختلف تولید پنیر عبارت بودند از: اُرن‌زنی کنسانتره همزمان با تلقیح آغازگر (OA)، اُرن‌زنی کنسانتره قبل از تلقیح آغازگر (OB)، اُرن‌زنی کنسانتره (قبل از تلقیح آغازگر) و آب‌نمک (OC) و اُرن‌زنی آب‌نمک تنها (OD). در تمامی تیمارها از اُرن گازی در غلظت‌های ۲ و ۵ پی‌پی‌ام استفاده گردید. از این رو، اعداد بعد از کد هر تیمار بیانگر میزان دوز مصرفی اُرن می‌باشد. کد C نیز نمونه شاهد یا بدون تیمار اُرن می‌باشد.

### شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

جهت شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها طبق استاندارد ملی ایران، از روش کشت مخلوط در محیط کشت پلیت کانت آگار و گرمخانه‌گذاری به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید (ISIRI, 2015).

### ماده خشک

اندازه‌گیری ماده جامد بر اساس روش وزنی انجام پذیرفت (AOAC, 2005).

### خاکستر

مقدار خاکستر نمونه‌ها توسط کوره الکتریکی در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به روش وزنی اندازه‌گیری گردید (AOAC, 2005).

### pH

برای اندازه‌گیری pH، طبق استاندارد ملی ایران، پس از کالیبراسیون pH متر Metrohm سوئیس با بافرهای ۴ و ۷، الکترود دستگاه به طور مستقیم درون قالب پنیر قرار گرفت (ISIRI, 2022).

## نمک

برای اندازه‌گیری مقدار نمک از روش مور استفاده شد. در این روش، از نیترات نقره ۱٪ نرمال به عنوان عامل تیترکننده و از کرومات پتاسیم به عنوان شناساگر استفاده گردید (IDF, 1988).

## پروتئین کل

ازت کل نمونه‌های پنیر بهروش کلداخ اندازه‌گیری شد. مقدار نمونه برای هر یک از پنیرها ۵ گرم بود، مقدار پروتئین کل از حاصل ضرب مقدار ازت اندازه‌گیری شده در ضریب تبدیل ۶/۲۵ محاسبه گردید (AOAC, 2005).

## چربی

مقدار چربی نمونه‌ها بهروش ژربر و با استفاده از سانتریفیوژ ژربر Funke ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد (BSI, 1989).

## عدد اسیدی (لیپولیز)

میزان لیپولیز پنیرهای تولیدی، که به صورت مقدار درجه اسیدی (ADV) نشان داده می‌شود، طبق روش نونز-الیسا و داونپورت (Nunez-Elisea and Davenport, 1986)، اندازه‌گیری گردید. بدین منظور ابتدا ۱۰ گرم پنیر با ۶ گرم سولفات سدیم بدون آب محلوت و سپس ۶۰ میلی‌لیتر حلال دی‌اتیل اتر، جهت استخراج چربی، به ترکیب اضافه شد، برای اختلاط کامل و خروج بهتر چربی از نمونه، از همزن مغناطیسی استفاده گردید. محلوت حاصله با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۲۲ صاف شد. رسوب باقی‌مانده دو بار متوالی و هر بار با ۲۰ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر شسته شد. محلول زیر صافی با محلول پتاوس اتانولی ۱٪ نرمال در حضور معرف فلفتالئین تا ایجاد رنگ ارغوانی پایدار به مدت ۲۰ ثانیه تیتر گردید. بعد از تیتراسیون، حلال با استفاده از دستگاه اوپراتور چرخان، تبخیر شد. در نهایت چربی باقی‌مانده توزین و مقدار کل اسیدهای چرب آزاد در پنیر بر حسب میلی‌اکی‌والان در ۱۰۰ گرم چربی گزارش شد.

## آب‌اندازی (سینرسیس)

برای تعیین مقدار آب‌اندازی پنیرها، آب نمک خروجی از دلمه، وزن شده و به صورت درصدی از وزن کل محتويات درون کاپ بیان گردید (Karimi et al., 2012).

## ارزیابی حسی

ارزیابی خصوصیات حسی نمونه‌ها بر مبنای مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای صورت گرفت. ارزیابی حسی توسط ۱۰ نفر از ارزیابان آموزش دیده در روزهای اول و آخر دوره نگهداری پنیر انجام شد. در این آزمون مکعب‌های ۲۰ گرمی پنیر در اختیار ارزیابان قرار گرفت و از آنان خواسته شد تا قبل از انجام هر آزمون دهان خود را با آب بشوینند. بدین منظور، صفات طعم، آroma، بافت، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022). طعم مجموع کل تاثیرات حسی یا احساسات درک شده هنگام قرار گرفتن ماده غذایی در دهان می‌باشد. آroma درک ما از ترکیبات فرآری است که از غذا آزاد می‌شوند. بافت اصطلاح پیچیده‌ای است که با ساختار ماده غذایی مرتبط بوده و خواص مکانیکی، هندسی و رطوبتی آن را در بر می‌گیرد. رنگ به عنوان ادرک ناشی از نور در تعامل با ماده غذایی تعریف می‌شود. پذیرش کلی نیز درک کلی و نهایی ما از ماده غذایی با در نظر گرفتن ویژگی‌های مختلف حسی می‌باشد (Clark *et al.*, 2009).

## تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش، از آزمون فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی استفاده گردید. آنالیز واریانس با استفاده از ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۰۱۹ انجام گرفت. رسم منحنی‌ها نیز با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2016 صورت پذیرفت.

## نتایج و بحث

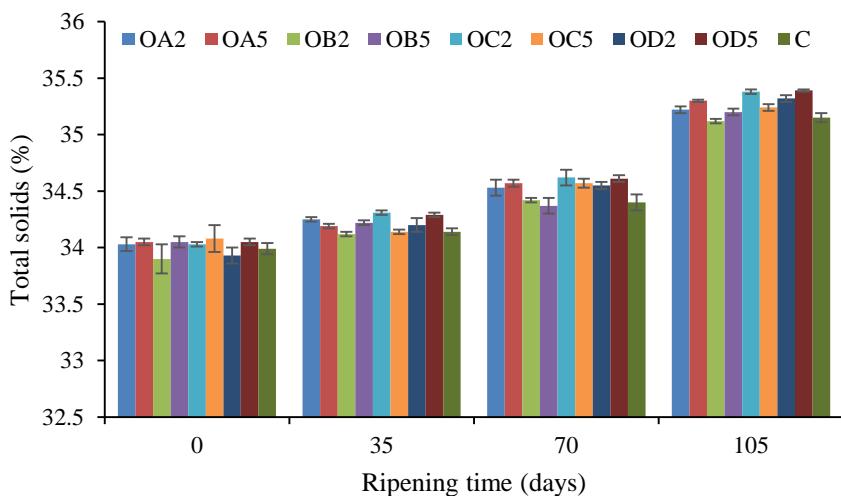
### تأثیر تیمار اُزن بر میزان مواد جامد کل پنیر طی دوره رسیدگی

شکل ۱ اثر تیمار اُزن بر میزان مواد جامد کل نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی را نشان می‌دهد. میزان مواد جامد کل در تمام نمونه‌ها از روز صفر تا ۱۰۵ دوره رسیدگی به‌طور پیوسته و معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) افزایش یافت. کمترین و بیشترین میزان مواد جامد کل به ترتیب مربوط به نمونه‌های OD2 (۳۳/۹۳٪ در روز صفر) و OD5 (۳۵/۳۹٪ در روز ۱۰۵) بود. بیشتر بودن مواد جامد در نمونه‌های تیمار شده با دوز بالاتر اُزن ممکن است به‌دلیل دناتوراسیون گسترده‌تر پروتئین باشد که نگهداری آب را کاهش داده و باعث خروج بیشتر سرم از دلمه و به دنبال آن افزایش ماده خشک پنیر می‌شود. در اکثر زمان‌های رسیدگی، نمونه‌های OC2 و OD5 مواد جامد کل بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند. در انتهای دوره رسیدگی، مقدار مواد جامد کل نمونه OD5 به‌طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) از میزان مواد جامد کل سایر نمونه‌ها، به جز نمونه‌های OC2 و OD2 بالاتر بود. میزان مواد جامد کل نمونه شاهد در ۳۵ روز ابتدایی دوره رسیدگی، با

اکثر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت، اما با افزایش زمان رسیدگی این اختلاف بیشتر شد، به‌گونه‌ای که در روز ۱۰۵ دوره رسیدگی به‌طور معنی‌داری از مواد جامد کل سایر نمونه‌ها، به جز نمونه‌های OA2، OB5 و OB2، کمتر بود.

نتایج یافته‌های ذوبی و گلی (Zonoubi and Goli, 2021) بر روی پنیر فتا نشان داد که مواد جامد کل پنیر طی ۶۰ روز رسیدگی روند افزایشی داشته است. سربازی و همکاران (Sarbazai *et al.*, 2015) در پژوهش خود بر روی پنیر کوزه، دلیل افزایش مواد جامد کل پنیر را افزایش میزان جذب نمک طی دوره رسیدگی عنوان کردند. به‌طور کلی، دمای بالای نگهداری پنیر (با تاثیر بر هیدراتسیون کازئین)، افزایش غلظت نمک در دلمه (با افزایش میزان آب‌اندازی)، تبخیر آب طی دوره رسیدگی، جذب پایین آب در پنیرهای با pH پایین (به‌دلیل افزایش سرعت نوارابی پیوندهای پروتئین-پروتئین در ژلهای کازئینی با کاهش pH) از جمله دلایل افزایش میزان مواد جامد کل می‌باشد (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022).

سرت و مرکان (Sert and Mercan, 2021) در بررسی اثر ازن بر ویژگی‌های میکروبیولوژیک و فانکشنال شیر خشک پس‌چرخ گزارش کردند که این تیمار حتی به مدت ۱۲۰ دقیقه نیز تاثیر معنی‌داری بر محتوای رطوبتی محصول نداشت. گراسو و همکاران (Grasso *et al.*, 2023) با بررسی اثر تیمار ازن گازی (۳۰۰ و ۲۰۰ pbb) بر ویژگی‌های کیفی پنیر پکورینو، در انتهای دوره رسیدگی ۵ ماهه تفاوت معنی‌داری را بین میزان مواد جامد نمونه‌های شاهد و تیمار شده با ۳۰۰ ppb ازن مشاهده نکردند، هر چند میزان مواد جامد نمونه‌های تیمار شده با دوز ۳۰۰ ppb ازن به‌طور معنی‌داری از دو مورد دیگر بیشتر بود.



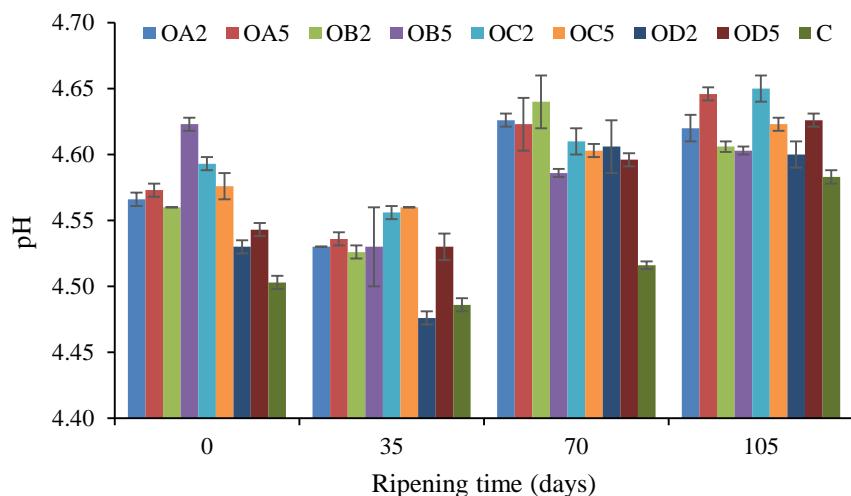
شکل ۱- تأثیر تیمار ازن بر میزان مواد جامد کل پنیر طی دوره رسیدگی  
Fig. 1. The effect of ozone treatment on the amount of cheese total solids during ripening

تأثیر تیمار ازن بر pH پنیر طی دوره رسیدگی

اثر تیمار ازن بر pH نمونه‌های مختلف پنیر طی دوره رسیدگی در شکل ۲ ارائه شده است. مقدار pH نمونه‌های مختلف طی دوره رسیدگی از ۴/۴۸ در روز ۳۵ برای نمونه OC2 تا ۴/۶۵ در روز ۱۰۵ برای نمونه OC2 متغیر بود. pH نمونه‌ها از روز صفر تا ۳۵ کاهش و پس از آن تا روز ۷۰ دوره رسیدگی افزایش یافت و این روند در اکثر نمونه‌ها تا روز ۱۰۵ ادامه پیدا کرد. برای تمام نمونه‌ها، pH روز ۳۵ به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) پایین‌تر از pH انتهای دوره رسیدگی بود. به طور کلی، بین نمونه‌های مختلف، نمونه شاهد کمترین مقدار pH را طی دوره رسیدگی نشان داد، به جز روز ۳۵ که آن هم تفاوت معنی‌داری با نمونه OD2 نداشت.

برخی پژوهشگران نیز پس از کاهش اولیه pH، عدم تغییر و یا افزایش pH در انتهای دوره رسیدگی را گزارش کردند (Özer *et al.*, 2003; Lopez *et al.*, 2007 (دربوکسیلا سیون و دامینا سیون) اسیدهای آمینه نظیر آمونیاک و همچنین متابولیسم اسید لاکتیک تو سط مخمرها و کپک‌ها عنوان شده است (Gobbetti *et al.*, 1997; Hayaloglu *et al.*, 2007).

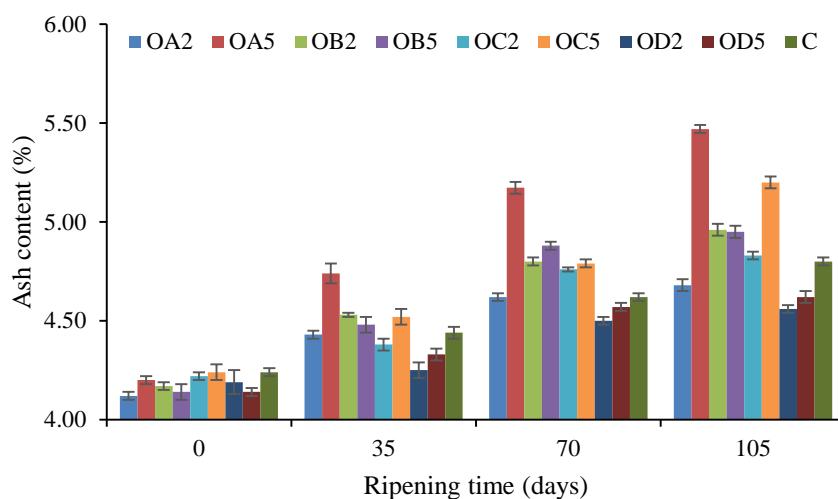
نتایج یافته‌های شانشول (Shanshool, 2020) بر روی شیر تیمار شده با گاز ازن، برای ساخت پنیر نرم، نشان داد که شیرهای تیمار شده با ازن در غلظت ۵/۰ گرم بر ساعت در مدت زمان تماس ۵، ۱۵ و ۳۰ دقیقه، میزان pH بالاتری، مخصوصاً در مدت زمان تماس ۱۵ و ۳۰ دقیقه، نسبت به نمونه شاهد داشتند. پژوهش کوالکانته و همکاران (Cavalcante *et al.*, 2013). در مورد تأثیر تیمار ازن بر پنیر میناس فرسکال برزیلی طی دوره نگهداری نیز نشان داد که نمونه‌های تیمار شده به مدت ۱ و ۲ دقیقه، از pH بالاتری نسبت به نمونه شاهد در طول دوره نگهداری برخوردار بودند. علاوه بر این، pH پنیرهای تیمار شده در مدت زمان ۲ دقیقه نیز نسبت به پنیرهایی که ۱ دقیقه در معرض ازن قرار داشتند، بالاتر بود.



شکل ۲- تأثیر تیمار ازن بر میزان pH پنیر طی دوره رسیدگی  
Fig. 2. The effect of ozone treatment on the pH of cheese during ripening

### تأثیر تیمار ازن بر میزان خاکستر پنیر طی دوره رسیدگی

در شکل ۳ اثر تیمار ازن بر میزان خاکستر نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی نشان داده شده است. میزان خاکستر نمونه‌ها طی دوره رسیدگی به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) افزایش پیدا کرد. نمونه OA2 با ۴٪ در روز صفر کمترین و نمونه OA5 با ۵٪ در روز ۱۰۵ بیشترین میزان خاکستر را داشتند. میزان خاکستر بیشتر نمونه‌ها در روز صفر تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما در ادامه میزان خاکستر نمونه OA5 به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بالاتر از سایر نمونه‌ها بود. نتایج به دست آمده از مطالعه گراسو و همکاران (Grasso et al., 2023) نشان دهنده روند غیر ثابتی در میزان خاکستر پنیرهای شاهد و تیمار شده با ازن بود. به طور کلی نمونه‌های تیمار شده با مقدار بالاتر ازن (به استثنای OD5) پس از روز ۳۵ دوره رسیدگی در مقایسه با سایر نمونه‌ها حاوی خاکستر بیشتری بودند. این نتایج با یافته‌های سلیمانی-رامبد و همکاران (Soleimani-Rambod et al., 2015) (پنیر سفید ایرانی) و بیگ‌محمدی و همکاران (Beig Mohammadi et al., 2015) (پنیر لور)، که افزایش میزان خاکستر پنیر طی دوره رسیدگی را گزارش کرده بودند، مطابقت داشت. آنها دلیل این افزایش را به افزایش غلظت نمک طی دوره رسیدگی نسبت دادند.



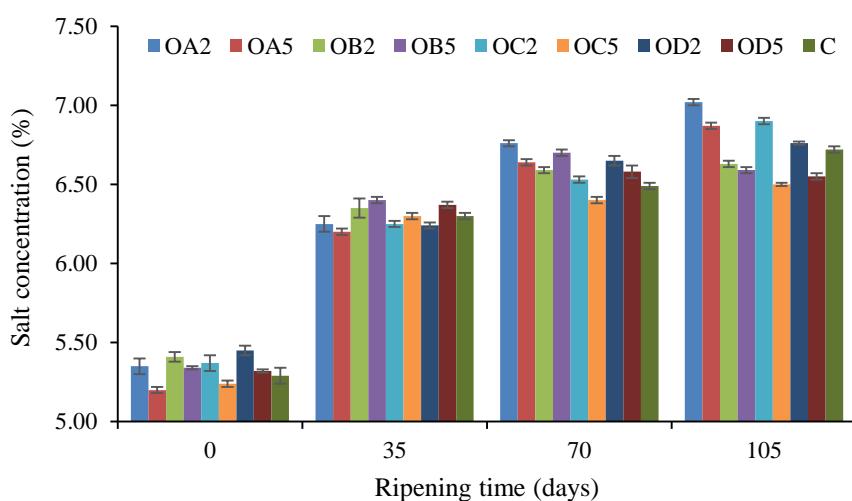
شکل ۳- تأثیر تیمار ازن بر میزان خاکستر پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 3. The effect of ozone treatment on the amount of cheese ash during ripening

### تأثیر تیمار ازن بر میزان نمک پنیر طی دوره رسیدگی

اثر تیمار ازن بر میزان نمک نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی در شکل ۴ ارائه شده است. مقدار نمک طی دوره رسیدگی از ۵/۲٪ (نمونه OA5 در روز صفر) تا ۷/۰۲٪ (نمونه OA2 در روز ۱۰۵) متغیر بود. افزایش معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) غلظت نمک در ۳۵ روز ابتدای دوره رسیدگی با شبیه‌الایی صورت گرفت، اما در ادامه این افزایش با شبیه ملایم‌تری دنبال شد. معنی‌داری تفاوت بین نمونه‌های مختلف در انتهای دوره رسیدگی ملموس‌تر بود که می‌تواند ناشی از افزایش آبلندازی در انتهای دوره رسیدگی باشد. در روز ۱۰۵ دوره رسیدگی، میزان نمک نمونه OA2 به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. بین میزان نمک نمونه‌های OC2 و OA5 تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که میزان نمک آنها پس از نمونه OA2 به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بیش از سایر نمونه‌ها نمود. این نتایج با یافته‌های حاصل از پژوهش کنکرت (Cankurt, 2019) بر روی پنیر سفید ترکیه‌ای و همچنین با نتایج گزارش شده توسط سلیمانی-رامبد و همکاران (Soleimani-Rambod *et al.*, 2015) در مورد پنیر سفید ایرانی، که افزایش میزان نمک طی دوره رسیدگی را گزارش کرده بودند، مطابقت داشت. وقتی پنیر در آب نمک قرار می‌گیرد، مولکول‌های NaCl به صورت یون‌های  $\text{Na}^+$  و  $\text{Cl}^-$  به دلیل اختلاف فشار اسمزی بین رطوبت پنیر و آبنمک، وارد بافت پنیر شده و در نتیجه میزان نمک تا پایان دوره رسیدگی افزایش می‌یابد (Forouzan *et al.*, 2009). این اختلاف در ابتدای دوره رسیدگی به مراتب بالاتر می‌باشد. افت رطوبت طی دوره رسیدگی نیز باعث افزایش غلظت نمک می‌گردد.

نمک با تحت تأثیر قرار دادن رشد میکروارگانیسم‌ها و در پی آن تولید اسیدلاکتیک، بر pH موثر می‌باشد. افزایش غلظت نمک ارتباط مستقیمی با افزایش pH دارد، که دلیل آن می‌تواند کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه کاهش اسید لاکتیک تولیدی در غلظت‌های بالای نمک باشد (Dorost *et al.*, 2011).



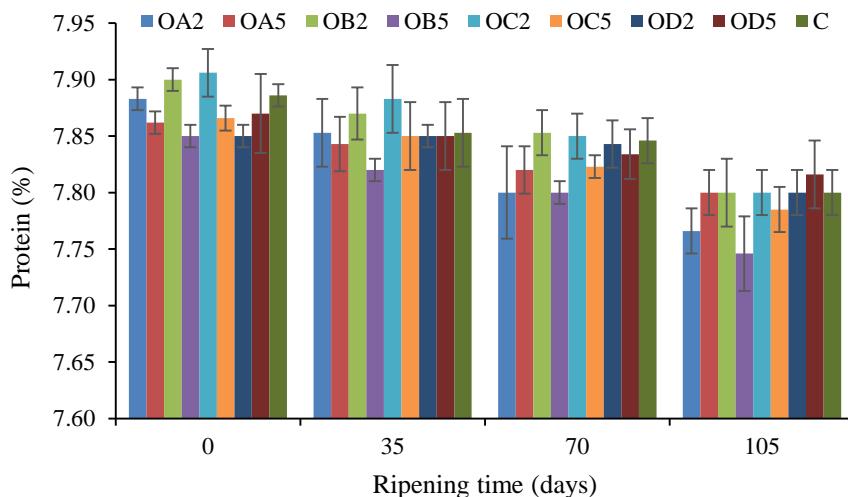
شکل ۴- تأثیر تیمار ازن بر میزان نمک پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 4. The effect of ozone treatment on the salt concentration of cheese during ripening

### تأثیر تیمار ازن بر میزان پروتئین پنیر طی دوره رسیدگی

شکل ۵ اثر تیمار ازن بر میزان پروتئین نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی را نشان می‌دهد. میزان پروتئین نمونه‌ها طی دوره رسیدگی به تدریج کاهش یافت و دامنه تغییرات آن در محدوده ۷/۹۰۶٪ (برای نمونه OC2 در روز صفر) تا ۷/۷۴۶٪ (برای نمونه OB5 در روز ۱۰۵) قرار داشت. مقدار پروتئین نمونه‌ها نیز در انتهای دوره رسیدگی نسبت به ابتدای آن به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) کمتر بود. نمونه‌های OA2 و OD2 با ۱/۴۸٪ و ۰/۶۴٪ بهترین و کمترین درصد کاهش مقدار پروتئین را طی دوره رسیدگی نشان دادند. نمونه شاهد نیز حدود ۱/۰۹٪ کاهش مقدار پروتئین داشت. کمتر بودن کاهش مقدار پروتئین در نمونه OD می‌تواند به خاطر اثر تحریبی کمتر ازن بر روی پروتئین‌ها باشد، چرا که آب نمک ازن‌هه شده است و کنسانتره مستقیماً تحت تاثیر ازن قرار نگرفته و از این رو شدت دناتوراسیون می‌تواند کمتر از زمانی باشد که کنسانتره به طور مستقیم ازن‌ه می‌شود.

این نتایج با یافته‌های گزارش شده توسط کایا (Kaya, 2002) بر روی پنیر آبنمکی ایتالیایی، عیاش و همکاران (Ayyash *et al.*, 2018) بر روی پنیر کم چرب عکاوی و غلامحسین‌پور و همکاران (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022) در مورد پنیر سفید ایرانی، که کاهش میزان پروتئین طی دوره رسیدگی را گزارش کرده بودند، مطابقت داشت. کاهش میزان پروتئین طی دوره رسیدگی می‌تواند به دلیل پروتولیز پروتئین توسط پروتازهای طبیعی مانند پلاسمین و پروتازهای میکروبی و تبدیل آن به پپتیدها و اسیدهای آمینه باشد (Milci *et al.*, 2005).



شکل ۵- تأثیر تیمار ازن بر میزان پروتئین پنیر طی دوره رسیدگی

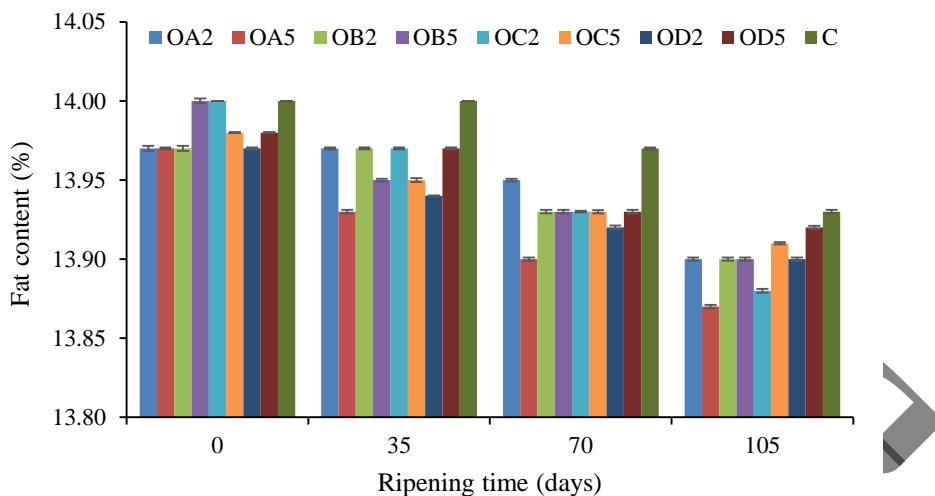
Fig. 5. The effect of ozone treatment on cheese protein content during ripening

## تأثیر تیمار آزن بر میزان چربی پنیر طی دوره رسیدگی

شکل ۶ اثر تیمار آزن بر میزان چربی نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی را نشان می‌دهد. بر اساس شکل، مقدار چربی نمونه‌ها بین ۱۴٪ (برای نمونه‌های OB5 و OC2 در روز صفر و نمونه شاهد در روزهای صفر و ۳۵) و ۱۳/۸۷٪ (برای نمونه OA5 در روز ۱۰۵) نوسان داشت. میزان چربی نمونه‌ها طی دوره رسیدگی کاهش یافت و این کاهش از روز ۳۵ تا انتهای دوره رسیدگی معنی‌دار ( $p \leq 0.05$ ) بود. میزان چربی نمونه‌های شاهد و OA5 در طول دوره رسیدگی (به جز روز صفر) به‌طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بهترتبه بیشتر و کمتر از مقدار چربی سایر نمونه‌ها بود.

میلسی و همکاران (Milci et al., 2005) (پنیر هالومی)، کرمی و همکاران (Karami et al., 2009) (پنیر فتای فراپالایش)، شهاب‌لوسانی (Gholamhosseinpour et al., 2012) (پنیر لیقوان) و غلامحسین‌پور و همکاران (Shahab-Lavasani et al., 2022) (پنیر فتای فراپالایش آنالوگ) نیز گزارش کردند که میزان چربی با افزایش زمان رسیدگی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و دلیل آن را لیپولیز چربی‌ها و در نتیجه تولید گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد عنوان نموده‌اند.

در پژوهشی که توسط کاوالکانته و همکاران (Cavalcante et al., 2013) بر روی پنیر بزریلی میناس فرسکال انجام شد نیز مشخص گردید که نمونه‌های تیمار شده با آزن در مدت زمان ۱ و ۲ دقیقه نسبت به نمونه شاهد در روز اول و آخر دوره رسیدگی مقدار چربی کمتری داشتند. یافته‌های شانشوول (Shanshool, 2020) بر روی تیمار شیر توسط گاز آزن برای ساخت پنیر نرم نشان داد که کاهش میزان چربی پنیر می‌تواند ناشی از نقش اکسیدکنندگی آزن بر ساختار چربی و تجزیه آن باشد. Tabla and Roa (2022) با بررسی تاثیر آزن گازی بر نوعی پنیر نرم طی ۶۰ روز رسیدگی عنوان کردند که مقادیر چربی، ماده خشک، نمک و pH پنیر تیمار شده با آزن تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت. اثر تیمار آزن گازی (۲۰۰ و ۳۰۰ pbb) نیز بر ویژگی‌های کیفی پنیر پکورینو طی ۵ ماه رسیدگی بررسی گردید و نتایج حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین میزان چربی نمونه‌های شاهد و تیمار شده با آزن بود، هر چند در اواخر دوره نگهداری مقدار چربی نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد کمتر بود (Grasso et al., 2023).



شکل ۶- تأثیر تیمار ازن بر میزان چربی پنیر طی دوره رسیدگی

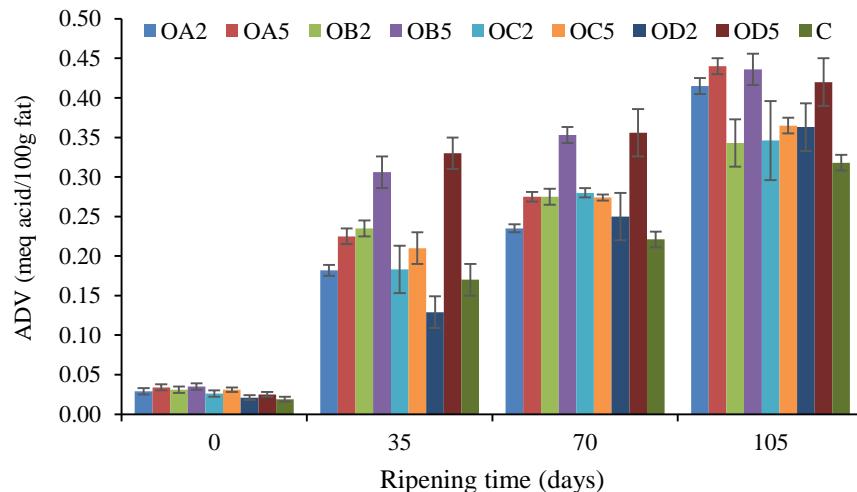
Fig. 6. The effect of ozone treatment on the fat content of cheese during ripening

#### تأثیر تیمار ازن بر میزان عدد اسیدی (ADV) پنیر طی دوره رسیدگی

اثر تیمار ازن بر میزان عدد اسیدی (لیپولیز) نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی در شکل ۷ نشان داده شده است. نتایج حاکی از افزایش معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) عدد اسیدی تمام نمونه‌ها با افزایش زمان رسیدگی بود. کمترین میزان عدد اسیدی (۰/۱۹٪ میلی‌اکی‌والان) مربوط به نمونه شاهد در ابتدای دوره رسیدگی بود، در حالی که بیشترین مقدار (۴۴٪ میلی‌اکی‌والان) برای نمونه OA5 در روز ۱۰۵ به دست آمد. در روز صفر دوره رسیدگی تفاوت معنی داری میان عدد اسیدی هیچ‌یک از نمونه‌ها وجود نداشت، اما با پیشرفت زمان، عدد اسیدی نمونه‌های OB5 و OD5 به طور معنی داری ( $p \leq 0.05$ ) بیشتر از سایر نمونه‌ها بود، هر چند در روز آخر بین عدد اسیدی این دو نمونه و نمونه OA5 نیز تفاوت معنی داری مشاهده نشد. افزایش دوز ازن مصرفی در هر تیمار نیز باعث افزایش عدد اسیدی نمونه‌های مربوطه در هر یک از زمان‌های رسیدگی گردید، به طوری که پنیرهای تیمار شده با  $5 \text{ ppm}$  ازن عدد اسیدی بالاتری نسبت به پنیرهای تیمار شده با  $2 \text{ ppm}$  ازن داشتند. دلیل این افزایش را می‌توان به مقدار بالاتر ازن محلول و در نتیجه اثر اکسایشی بالاتر و تولید بیشتر محصولات ناشی از اکسایش نسبت داد.

تحقیقات ذوبی و گلی (Zonoubi and Goli, 2021) (پنیر فتا)، آتسوی و تورکوغلو (Atasoy and Türkoğlu, 2008) (پنیر اورفا) و غلامحسین‌پور و همکاران (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022) (پنیر فتای فراپالایش آنالوگ) در ارتباط با لیپولیز انواع مختلف پنیر نیز موید افزایش عدد اسیدی طی دوره رسیدگی می‌باشد. در این پژوهش‌ها، لیپاز طبیعی شیر، لیپاز موجود در برخی از مایه‌های آنزیمی و همچنین آزاد شدن لیپازهای میکروبی از عوامل مهم گسترش لیپولیز پنیر عنوان شده‌اند.

یافته‌های حاصل از پژوهش شانشول (Shanshool, 2020) بر روی تیمار شیر توسط گاز ازن برای تولید پنیر نرم، افزایش میزان عدد اسیدی را نشان داد و دلیل آن نقش اکسایشی گاز ازن در لیبولیز چربی عنوان گردید. محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2017) گزارش کردند که تیمار ۱۰ دقیقه‌ای شیر با ازن باعث افزایش معنی‌دار اندیس پراکسید و اندیس آنیزیدین آن در مقایسه با نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده در زمان‌های کمتر ۱۰ دقیقه گردید. آنها دلیل این افزایش را بروز واکنش‌های اکسایشی و تولید محصولات ناشی از اکسایش در نتیجه مقادیر بالاتر ازن محلول عنوان کردند. سرت و همکاران (Sert *et al.*, 2020) نیز کاهش پایداری اکسایشی کره تولید شده از خامه تیمار شده با ازن را نسبت به نمونه شاهد گزارش کرده و عنوان نمودند که افزایش مدت زمان تیمار باعث کاهش بیشتر پایداری اکسایشی کره تولیدی می‌گردد. آنها دلیل این ناپایداری را اثرات اکسایشی ازن بر چربی شیر بیان کردند. پرنا و همکاران (Perna *et al.*, 2022) با تیمار شیر خامه‌ای با استفاده از ازن طی ۶۰ دقیقه (در بازه‌های ۱۰ دقیقه‌ای) مشاهده کردند که با افزایش زمان تماس میزان اکسایش محصول به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. آنها این ناپایداری اکسایشی را به عملکرد سومین اتم اکسیژن مولکول ازن نسبت دادند که اتصال پایداری نداشته و می‌تواند به راحتی جدا شود و یک سیستم اکسیدکننده بسیار واکنشی ایجاد کند که بر یکپارچگی ساختاری مولکول‌های دیگر تأثیر می‌گذارد.



شکل ۷- تأثیر تیمار ازن بر میزان عدد اسیدی (ADV) پنیر طی دوره رسیدگی  
Fig. 7. The effect of ozone treatment on the acid degree value (ADV) of cheese during ripening

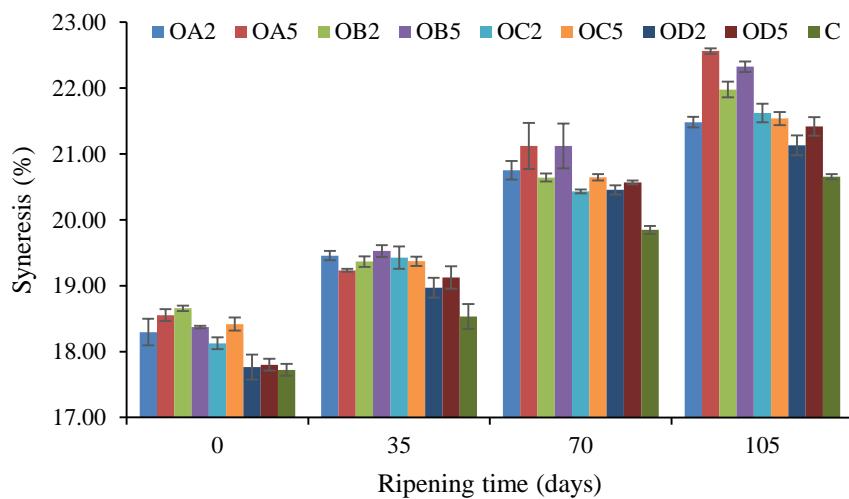
#### تأثیر تیمار ازن بر میزان آباندازی پنیر طی دوره رسیدگی

شکل ۸، اثر تیمار ازن بر میزان آباندازی (سینرسیس) نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی را نشان می‌دهد. مطابق شکل، میزان آباندازی پنیرها با گذشت زمان رسیدگی به‌طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) افزایش پیدا کرد، به‌طوری که کمترین مقدار آباندازی ۱۷/۷۲

% در زمان صفر برای نمونه شاهد و بیشترین مقدار آن (۵/۲۲٪) برای نمونه OA5 در زمان ۱۰۵ به دست آمد. در طول دوره رسیدگی، میزان آب اندازی نمونه شاهد به طور معنی داری ( $p \leq 0.05$ ) کمتر از سایر نمونه ها بود. از روز ۷۰ به بعد نیز میزان آب اندازی نمونه های OB5 و OB2 به طور معنی داری ( $p \leq 0.05$ ) از دیگر نمونه ها بالاتر بود، در حالی که مقدار آب اندازی آنها با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشت. همچنین، نمونه هایی که در آنها تنها آب نمک از نه شده بود نسبت به سایر تیمارها آب اندازی کمتری داشتند. این مساله را می توان به افزایش آب گریزی پروتئین های کنسانتره تحت تأثیر تیمار ازن نسبت داد، چرا که در نمونه هایی که خود کنسانتره تحت تیمار ازن قرار می گیرد (نه آب نمک)، ازن با داناتوراسیون پروتئین ها باعث در معرض قرار گرفتن تعداد زیادی از گروه های آب گریز در سطح مولکولی شده و به دلیل تغییر قطبیت، توانایی پروتئین ها را برای اتصال به آب کاهش می دهد. بدین ترتیب در این نمونه ها نگهداری آب کاهش و میزان آب اندازی افزایش می یابد (Segat *et al.*, 2014).

نتایج یافته های ذوبی و گلی (Zonoubi and Goli, 2021)، بر روی پنیر فتا طی دوره ۶۰ روزه رسیدگی نشان داد که آب اندازی پنیر از روز اول تا آخر رسیدگی روند افزایشی داشته است. آنها افزایش آب اندازی را خروج آب از شبکه ساختاری پنیر به دلیل افزایش جذب نمک در طول دوره رسیدگی عنوان کردند.

نتایج آلسوبولوس و همکاران (Alexopoulos *et al.*, 2017) در ارتباط با تأثیر ازن بر آب اندازی ماست نشان داد که نمونه هایی که ۳۰ ثانیه در معرض تیمار ازن بودند نسبت به نمونه شاهد و تیمار ۱۰ و ۶۰ ثانیه ای ازن، آب اندازی بیشتری در طول زمان نگهداری، مخصوصاً در روز آخر، داشتند.



شکل ۸- تأثیر تیمار ازن بر میزان آب اندازی پنیر طی دوره رسیدگی  
Fig. 8. The effect of ozone treatment on the syneresis of cheese during ripening

## تأثیر تیمار ازن بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌های پنیر طی دوره رسیدگی

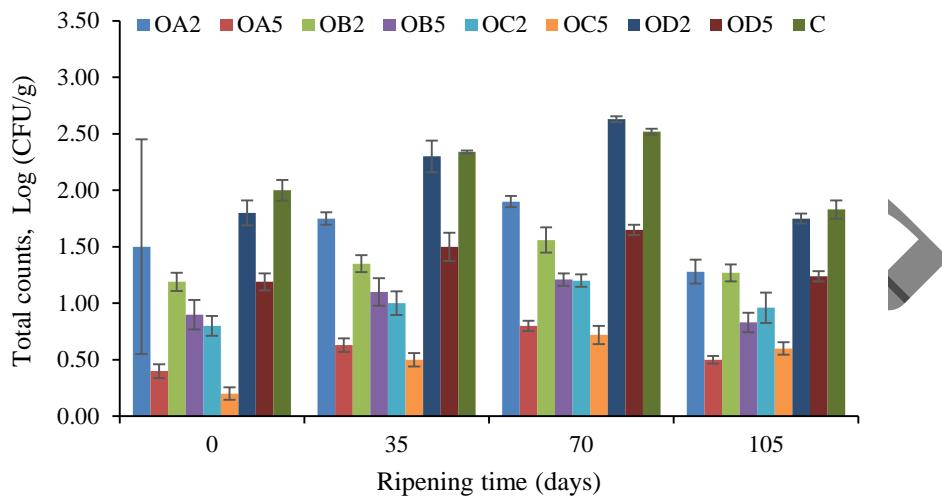
تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های مختلف پنیر تحت تأثیر تیمار ازن در طول دوره رسیدگی در شکل ۹ ارائه شده است. با توجه به نتایج، کمترین شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها مربوط به نمونه OC5 Log (CFU/g) ۰/۲ در روز صفر (p) بود، در حالی که نمونه OD2 بیشترین شمارش میکروبی Log (CFU/g) ۶/۲۳ در روز ۷۰ را داشت. پایین‌تر بودن شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در نمونه OC5 می‌تواند به این دلیل باشد که در این تیمار هم آبنمک و هم کنسانتره تحت تیمار ازن قرار گرفته‌اند و به همین خاطر باز میکروبی بیشتر کاهش یافته است. ضمن آنکه غلظت بالاتر ازن (۵ ppm) باعث کاهش بیشتر باز میکروبی در مقایسه با غلظت ۲ ppm می‌گردد. بالاتر بودن شمارش میکروبی در نمونه OD2 نیز بدین دلیل است که فقط آبنمک تحت تیمار قرار گرفته و ارگانیسم‌های درون کنسانتره برخلاف سایر تیمارها تحت تأثیر مستقیم ازن قرار نگرفته‌اند. دوز کمتر ازن نیز اثر بازدارندگی کمتری نسبت به دوز بالاتر آن دارد. شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌ها ابتدا نا روز ۷۰ به‌طور معنی‌داری (۰/۰۵ ≤ p) افزایش و در ادامه تا انتهای دوره رسیدگی کاهش یافت. دلیل رشد ابتدایی میکروارگانیسم‌ها فراهم بودن مواد مغذی کافی و دردسترس می‌باشد، اما در ادامه، تجمع اسید لاکتیک به همراه تولید دیگر متابولیت‌های بازدارنده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک، مانند دی‌اسید کربن، دی‌استیل، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها باعث کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها می‌گردد (Şanlibaba and Güçer, 2015). شمارش کلی نمونه‌های شاهد و OD2 در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری (۰/۰۵ ≤ p) بیشتر بود، هرچند بین این دو نمونه از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (به جز روز صفر و ۷۰). طی دوره رسیدگی نیز شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در پنیرهای تیمار شده با دوز بالاتر (۵ ppm) ازن، به‌طور معنی‌داری (۰/۰۵ ≤ p) کمتر از نمونه‌های تیمار شده با دوز پایین‌تر (۲ ppm) ازن بود که به دلیل مقادیر بالاتر ازن محلول می‌باشد.

نتایج مطالعه ذوبی و گلی (Zonoubi and Goli, 2021) بر روی پنیر فتا نشان داد که شمارش کلی باکتری‌ها طی ۶۰ روز رسیدگی از ۹/۳۶ به ۷/۷۷ log CFU/g کاهش یافت. همچنین یافته‌های دیژاندینو و همکاران (Diezhandino *et al.*, 2015) بر روی پنیر اسپانیابی در طول دوره رسیدگی ۱۲۰ روزه، حاکی از روند کاهشی باکتری‌های مزوپیل هوایی از ۸/۵۲ به ۶/۹۵ log CFU/g بود.

هر چند در استاندارد ملی حد مجازی برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در پنیر رسیده آبنمکی مشخص نشده، اما بیشینه تعداد کلی فرم‌ها و کپک و مخمر به ترتیب ۱۰ و ۱۰<sup>۳</sup> CFU/g تعیین گردیده است. علاوه بر این، تعداد شریشیاکلی و استافیلکوکوس‌های کوآگولاز مثبت در هر گرم نمونه و همچنین تعداد سالمونلا در ۲۵ گرم نمونه نیز می‌باشد منفی باشد (ISIRI, 2019).

بررسی آلكسوپیلوس و همکاران (Alexopoulos *et al.*, 2017) بر روی تأثیر ازن بر پنیر فتا نشان داد که شمارش کلی نمونه‌ها در ابتدا افزایش و در انتهای دوره نگهداری به حدود ۷ log CFU/g کاهش یافت. همچنین، نمونه‌های تیمار شده با ازن در زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه شمارش کلی کمتری را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. نتایج کاوالکاتنه و همکاران (Cavalcante *et al.*, 2013) در مورد تأثیر ازن بر روی پنیر بزریلی طی دوره نگهداری نشان داد نمونه‌هایی که یک و دو دقیقه در معرض گاز ازن قرار گرفتند شمارش

کلی مزوفیل‌های هوایی اولیه کمتری ( $4/95 \log \text{CFU/g}$ ) نسبت به نمونه شاهد ( $2/27 \times 10^2 \log \text{CFU/g}$ ) داشتند. آنها عنوان کردند که اُزن زنی فقط تعداد اولیه میکرووارگانیسم‌ها را کاهش داد، اما بر سرعت رشد آنها اثر کاهشی نداشت.



شکل ۹- تأثیر تیمار اُزن بر شمارش کلی میکرووارگانیسم‌های پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 9. The effect of ozone treatment on the microbial total counts of cheese during ripening

#### تأثیر تیمار اُزن بر ویژگی‌های حسی پنیر طی دوره رسیدگی

در شکل ۱۰ اثر تیمار اُزن بر ویژگی‌های حسی (رنگ و ظاهر، آroma، طعم، بافت و پذیرش کلی) نمونه‌های پنیر در ابتدا (روز صفر) و انتهای (روز ۱۰۵) دوره رسیدگی نشان داده شده است. در بیشتر تیمارها، امتیاز حسی پنیرهای ۱۰۵ روزه در مقایسه با پنیرهای ابتدای دوره رسیدگی به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بالاتر بود که می‌توان آن را به تولید محصولات حاصل از واکنش‌های مهم دوره رسیدگی، به‌ویژه پروتولیز و لیپولیز، نسبت داد. رنگ و ظاهر پنیرهای ۱۰۵ روزه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در اکثر تیمارها نیز، هرچند افزایش غلظت اُزن از ۲ به ۵ ppm باعث افزایش امتیاز رنگ و ظاهر نمونه‌های تیمار شده گردید، اما این افزایش معنی‌دار نبود. این افزایش امتیاز رنگ را می‌توان به اثر سفیدکنندگی بیشتر غلظت بالاتر اُزن نسبت داد. لازم به ذکر است که سفید بودن رنگ پنیرهای آب‌نمکی ایرانی برای مصرف‌کننده اهمیت بالایی دارد. تفاوت امتیاز آroma پنیرهای روز ۱۰۵ دوره رسیدگی نیز معنی‌دار نبود. نمونه شاهد در هر دو روز رسیدگی آroma مای پایین‌تری نسبت به سایر نمونه‌ها داشت. طعم پنیرهای ۱۰۵ روزه نیز با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند و این حالت بین پنیرهای ابتدای دوره رسیدگی نیز مشاهده شد. امتیاز بافت نمونه‌ها در روز ۱۰۵ رسیدگی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (به جز نمونه‌های OD5 با OB5) و این تفاوت در پنیرهای ابتدای دوره رسیدگی نیز معنی‌دار نبود. نمونه‌های شاهد و OC5 در روز ۱۰۵

دوره رسیدگی با امتیاز ۴/۹ بالاترین امتیاز پذیرش کلی را داشتند، هر چند این امتیاز تفاوت معنی‌داری با امتیاز سایر نمونه‌ها (به جز نمونه‌های OA2 و OA5 با امتیاز ۴/۴) نداشت. نمونه OA2 با امتیازهای ۴/۴ در روز ۱۰۵ و ۳/۶ در ابتدای دوره رسیدگی کمترین میزان پذیرش کلی را در میان سایر نمونه‌ها داشت. از آنجا که در تیمار OA اُزن همراه با کشت آغازگر استفاده می‌شود، لذا می‌تواند باعث تضعیف رشد و فعالیت آغازگر شده و نقش آغازگر در بهبود ویژگی‌های حسی را تحت تاثیر قرار دهد. به طور کلی، نمونه OD5 بیشترین امتیاز رنگ و ظاهر و بافت و نمونه OC5 بالاترین امتیاز آroma و پذیرش کلی (در کنار نمونه شاهد) را کسب کردند، در حالی که پایین‌ترین امتیاز آroma و بافت مریبوط به نمونه شاهد بود. بنابراین، نتایج ارزیابی حسی نشان داد که هرچند استفاده از تیمار اُزن توانست برخی از ویژگی‌های حسی پنیرها را ارتقا دهد، اما در کل این افزایش نسبت به نمونه شاهد، خصوصاً در انتهای دوره رسیدگی، معنی‌دار نبود.

نتایج پژوهش عیاش و همکاران (Ayyash *et al.*, 2018) بر روی پنیر عکاوی نشان داد که طعم و آromای نمونه‌ها طی ۲۱ روز نگهداری بهبود یافته‌اند. آنها دلیل این امر را تولید پیتیدها عنوان کردند. مطالعه نظری و همکاران (Nazari *et al.*, 2020) بر روی پنیر فتای کمچرب نیز نشان داد که ظاهر، مزه و پذیرش کلی نمونه‌ها طی ۶۰ روز رسیدگی به طور معنی‌داری بهبود پیدا کرد، اما در آroma و بافت پنیرها تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

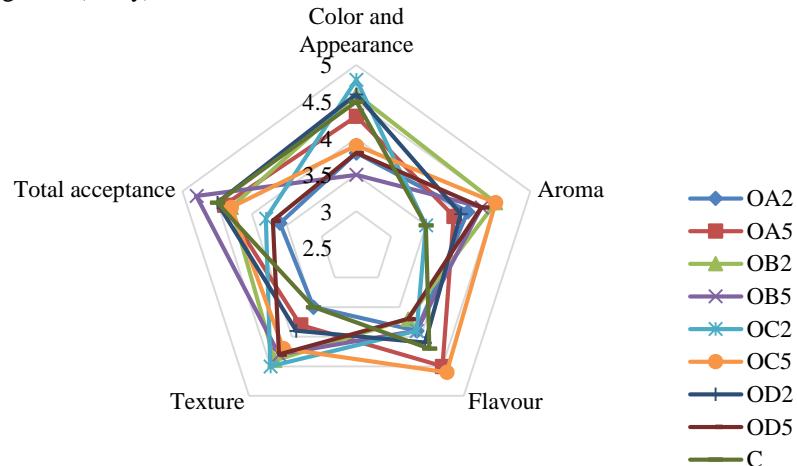
نتایج پژوهش حمدی و همکاران (Hamdy *et al.*, 2021) بر روی پنیر فتای کمچرب در طول دوره رسیدگی حاکی از افزایش امتیازات بافت، طعم و پذیرش کلی در انتهای دوران رسیدگی بود. آنها علت بهبود بافت را کاهش رطوبت طی دوره رسیدگی و دلیل ارتقای طعم را فعالیت‌های متابولیکی آغازگرها عنوان کردند.

بررسی مارون و همکاران (Marrone *et al.*, 2014) بر روی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر ایتالیایی طی دوره رسیدگی نشان داد که تمامی امتیازات حسی در طول دوره رسیدگی افزایش یافته‌اند. این محققین، دلیل ارتقای امتیاز طعم و آromای پنیرها را آزاد شدن اسیدهای چرب و آمینه طی دوره رسیدگی عنوان کردند. پژوهش هوانگ و همکاران (Hwang *et al.*, 2007) بر روی مقایسه خواص فیزیکوشیمیایی و حسی شیر تغليظ شده انجام‌داده اند. نتایج پژوهش آکسوبولوس و همکاران (Alexopoulos *et al.*, 2017) شیر تغليظ شده انجام‌داده با این از شیر تغليظ شده تبخيری بود. نتایج پژوهش آکسوبولوس و همکاران (Alexopoulos *et al.*, 2017) بر روی تأثیر اُزن بر محصولات تخمیری نشان داد نمونه‌های ماستی که ۶۰ ثانیه در معرض تیمار اُزن بودند تغییرات طعم، رنگ و پذیرش کلی معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد نداشتند، هرچند امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های تیمار شده با اُزن نسبت به نمونه شاهد بیشتر بود. نمونه‌های پنیر فتا هم که ۶۰ دقیقه در معرض تیمار اُزن قرار داشتند، تغییرات رنگ معنی‌داری را نشان ندادند، اما امتیازات طعم و پذیرش کلی نمونه‌های پنیر تیمار شده با اُزن نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر بود.

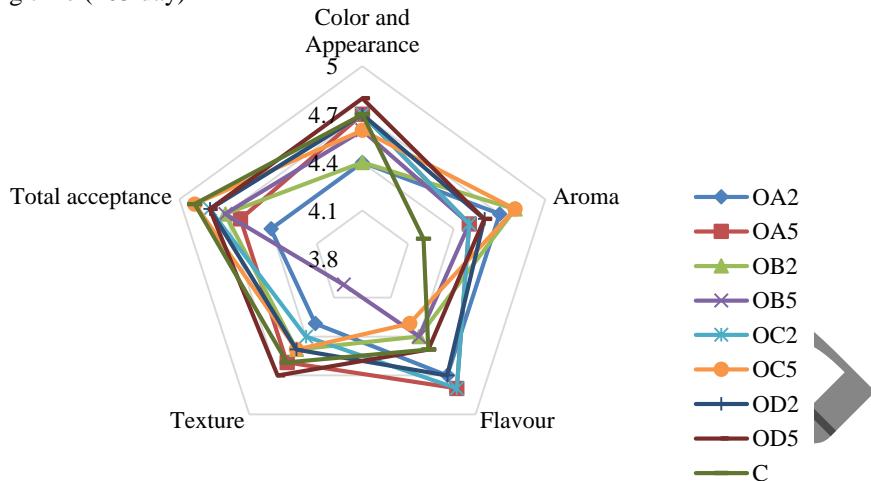
در پژوهشی از اُزن در تولید شیر خشک پس‌چرخ استفاده گردید. نتایج حاکی از کاهش امتیازات حسی شیر خشک با افزایش غلظت اُزن از ۲ ppb به ۳۲ ppb بود. همچنین گزارش گردید که امتیاز حسی شیر خشک کامل، به دلیل اکسایش لیپیدی و بروز بدطعمی ناشی

از واکنش اُزن با چربی، پایین‌تر از امتیاز حسی شیر خشک پس‌چرخ بود (Varga and Szigeti, 2016). محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2017) اثر اُزن بر ویژگی‌های میکروبی و فیزیکوشیمیایی شیر را مورد بررسی قرار داده و عنوان کردند که اُزن با تخریب و کاهش محتوای کارتونوئیدی شیر، رنگ آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. سرت و همکاران (Sert *et al.*, 2020) خامه را تحت تیمار اُزن قرار داده و مشاهده کردند که سفتی و قوام خامه تیمار شده افزایش یافت. آنها عنوان کردند که این افزایش ممکن است به‌دلیل تجمع یا ادغام جزئی چربی شیر تیمار شده با اُزن باشد. این پژوهشگران کاهش زردی خامه تیمار شده با اُزن را نیز گزارش کرده و آن را ناشی از تخریب کارتونوئیدها تحت تاثیر اُزن بیان کردند. این تخریب مبتنی بر این فرضیه است که همه پیوندهای دوگانه مولکول‌های کارتونوئید مکان‌های بالقوه‌ای برای واکنش شیمیایی اُزن هستند که منجر به تولید طیف گسترده‌ای از محصولات اکسایشی می‌شوند (Tabla and Roa, 2022). Perna *et al.*, 2022) تاثیر اُزن گازی بر کیفیت میکروبی و حسی نوعی پنیر نرم طی دوره رسیدگی دو ماهه را مورد مطالعه قرار داده و مشاهده کردند که پنیر تیمار شده با اُزن از نظر ظاهر، آroma، بافت و مزه تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت. نتایج گراسو و همکاران (Grasso *et al.*, 2023) نیز در ارتباط با بررسی اثر تیمار ازن گازی (۲۰۰ و ۳۰۰ pbb) بر ویژگی‌های کیفی پنیر پکورینو طی ۱۵۰ روز رسیدگی نشان داد که ویژگی‌های حسی (ظاهر، طعم، مزه، بافت، پذیرش کلی) نمونه‌های تیمار شده تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت.

Ripening time (0 day)



Ripening time (105 day)



شکل ۱۰- تأثیر تیمار ازن بر ویژگی‌های حسی پنیر در ابتدا و انتهای دوره رسیدگی

Fig. 10. The effect of ozone treatment on sensory characteristics of cheese at the beginning and end of ripening

#### ۴- نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، اثر استفاده از گاز ازن در مراحل مختلف تولید بر ویژگی‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر فرآپالایش آب‌نمکی طی دوره رسیدگی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، مقادیر مواد جامد کل، خاکستر، نمک، عدد اسیدی و آب‌اندازی پنیرها با افزایش زمان رسیدگی به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) افزایش یافت، درحالی که مقادیر پروتئین و چربی نمونه‌ها به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) کاهش پیدا کرد. شمارش کلی میکرووارگانیسم‌های نمونه‌ها نیز ابتدا تا روز ۷۰ افزایش پیدا کرد، اما در ادامه تا انتهای دوره رسیدگی کاهش یافت. در بیشتر تیمارها، امتیاز حسی پنیرهای انتهای دوره رسیدگی در مقایسه با پنیرهای ابتدایی دوره رسیدگی به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) بالاتر بود و هرچند استفاده از تیمار ازن توانست برخی از ویژگی‌های حسی پنیرها را ارتقا دهد، اما در کل این افزایش نسبت به نمونه شاهد، خصوصاً در انتهای دوره رسیدگی، معنی‌دار نبود. به طور کلی، پنیرهای تیمار شده با دوز بالاتر ازن، مقادیر عدد اسیدی بیشتری در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با دوز پایین‌تر ازن داشتند. همچنین، در طول دوره رسیدگی، شمارش کلی میکرووارگانیسم‌ها در پنیرهای تیمار شده با دوز ۵ ppm ازن، کمتر از نمونه‌های تیمار شده با دوز ۲ ppm ازن بود. تأثیرات مثبت میکروبی و فیزیکوشیمیایی تیمار ازن بر روی نمونه‌های پنیر باعث شد تا ماندگاری این پنیر آب نمکی تا ۱۰۵ روز (۳۰ روز بیشتر از حالت معمول) افزایش پیدا کند، بدون آنکه بر خواص حسی محصول اثر منفی داشته باشد. بنابراین، می‌توان از ازن به عنوان یک تیمار غیرحرارتی در افزایش ماندگاری و بهبود برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پنیر استفاده نمود. هرچند انتخاب تیمار مطلوب بستگی به اهمیت فاکتورهای مورد نظر ما دارد،

با اینحال چنانچه پایداری اکسایشی، زنده‌مانی کشت آغازگر و آب اندازی را معیارهای مهم در نظر بگیریم تیمار OB2 می‌تواند انتخاب مناسبی باشد.

#### ۵- منابع

1. Alexopoulos, A., Plessas, S., Kourkoutas, Y., Stefanis, C., Vavias, S., Voidarou, C., Mantzourani, I., Bezirtzoglou, E. (2017). Experimental effect of ozone upon the microbial flora of commercially produced dairy fermented products. *International journal of food microbiology*, 246, 5-11. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.018>.
2. Allai, F.M., Azad, Z.A.A., Mir, N.A., Gul, K. (2022). Recent Advances in Non-Thermal Processing Technologies for Enhancing Shelf Life and Improving Food Safety. *Applied Food Research*, 100258. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100258>.
3. AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of the AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International, G. W. Latimer and W. Horwitz (Eds.), 18th ed, in total solids (TS) matter (oven-drying method) method 926.08, ash (incineration at 550°C method) method 935.42, protein content (micro-Kjeldahl method) method 920.123, Gaithersburg, MD.
4. Atasoy, A.F., Türkoğlu, H. (2008). Changes of composition and free fatty acid contents of Urfı cheeses (a white-brined Turkish cheese) during ripening: Effects of heat treatments and starter cultures. *Food Chemistry*, 110, 598-604. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.046>.
5. Ayyash, M., Abu-Jdayil, B., Hamed, F., Shaker, R. (2018). Rheological, textural, microstructural and sensory impact of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus plantarum* isolated from camel milk on low-fat akawi cheese. *Lwt*, 87, 423-431. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.023>.
6. Beig Mohammadi, M., Bolandi, M., Ghodusi, H.B. (2015). Production and physicochemical, rheological, sensory analysis of “Lour” cheese. *Journal of food science and technology (Iran)*, 12, 41-49

7. BSI. (1989). Standard no. 696: Gerber method for the determination of fat in milk and milk products. London, UK: British Standards Institution.
8. Cankurt, H. (2019). The effects of adding different stabilizers in brine on the physicochemical, sensory, microbiological and textural properties of white cheese. *Foods*, 8, 133. <https://doi.org/10.3390/foods8040133>.
9. Cavalcante, D., Júnior, B.L., Tribst, A., Cristianini, M. (2013). Microbiological quality of Minas Frescal cheese treated with ozonated water. *International Food Research Journal*, 20, 2911
10. Clark, S., Costello, M., Drake, M., Bodyfelt, F. (2009). The sensory evaluation of dairy products. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-77408-4>
11. Diezhandino, I., Fernández, D., González, L., McSweeney, P., Fresno, J. (2015). Microbiological, physico-chemical and proteolytic changes in a Spanish blue cheese during ripening (Valdeón cheese). *Food chemistry*, 168, 134-141. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.039>.
12. Dorosti, S., Bazmi, A., Ghanbarzadeh, B., Ayaseh, A. (2011). Effect of brine concentration on the physicochemical properties of Iranian White cheese. *Journal of food science and technology (Iran)*, 8, 1-10
13. Eglezos, S., Dykes, G.A. (2018). Reduction of environmental listeria using gaseous ozone in a cheese processing facility. *Journal of food protection*, 81, 795-798. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-361>.
14. Forouzan, S., Khosroushahi Asl, A., Taslimi, A., Madadadlou, A., Mashayekh, M. (2009). Study of the effects of microbial, recombinant and animal rennets on some of the qualitative and quantitative properties of Iranian white cheese. *Journal of food science and technology (Iran)*, 6, 63-72
15. Gholamhosseinpour, A., Tehrani, M.M., Razavi, S.M.A. (2022). The effects of commercial mixed-strain starter cultures on the chemical and sensory characteristics of UF-Feta cheese analogue during ripening. *Iranian Food Science & Technology Research Journal*, 17 (6). <https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.70493.1050>.

16. Gobbetti, M., Burzigotti, R., Smacchi, E., Corsetti, A., De Angelis, M. (1997). Microbiology and biochemistry of Gorgonzola cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 7, 519-529. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(97\)00047-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(97)00047-2).
17. Grasso, C., Eramo, V., Lembo, M., Forniti, R., Carboni, C., Botondi, R. (2023). Effects of gaseous ozone treatment on the mite pest control and qualitative properties during ripening storage of pecorino cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103, 2124-2133. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12400>.
18. Gunasekaran, S., Ak, M.M. (2002). Cheese rheology and texture. CRC press.
19. Hamdy, A.M., Ahmed, M.E., Mehta, D., Elfaruk, M.S., Hammam, A.R., El-Derwy, Y.M. (2021). Enhancement of low-fat Feta cheese characteristics using probiotic bacteria. *Food Science & Nutrition*, 9, 62-70. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1889>.
20. Hayaloglu, A.A., Fox, P.F., Guven, M., Cakmakci, S. (2007). Cheeses of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bags. *Le Lait*, 87, 79-95. <https://doi.org/10.1051/lait:2007006>.
21. Hwang, J., Lee, S., Park, H., Min, S., Kwak, H. (2007). Comparison of physicochemical and sensory properties of freeze-concentrated milk with evaporated milk during storage. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 20, 273-282. <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.273>.
22. IDF. (1988). Cheese and processed cheese-determination of salt content. Standard 12 B. Brussels, Belgium: *International Dairy Federation*.
23. ISIRI. (2015). Microbiology of the food chain, horizontal method for the enumeration of microorganisms, Part 1: colony count at 30 °C by the pour plate technique. *Iran National Standards Organization*, No. 5272-1.
24. ISIRI. (2019). Microbiology of milk and milk products, Specifications and test methods, Amd. No.1. *Iran National Standards Organization*, No. 2406-1.
25. ISIRI. (2022). Milk and milk products, determination of titrable acidity and pH, test method. *Iran National Standards Organization*, 2nd Revision, No. 2852.
26. Karami, M., Ehsani, M., Mousavi, S., Rezaei, K., Safari, M. (2009). Microstructural properties of fat during the accelerated ripening of ultrafiltered-Feta cheese. *Food Chemistry*, 113, 424-434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.104>.

27. Karimi, R., Mortazavian, A., Karami, M. (2012). Incorporation of Lactobacillus casei in Iranian ultrafiltered Feta cheese made by partial replacement of NaCl with KCl. *Journal of dairy science*, 95, 4209-4222. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4872>.
28. Kaya, S. (2002). Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining. *Journal of Food Engineering*, 52, 155-159. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00098-X).
29. Khadre, M., Yousef, A., Kim, J.G. (2001). Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *Journal of food science*, 66, 1242-1252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15196.x>.
30. Kunicka-Styczyńska, A., Rajkowska, K. (2011). Physiological and genetic stability of hybrids of industrial wine yeasts *Saccharomyces sensu stricto* complex. *Journal of applied microbiology*, 110, 1538-1549. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05009.x>.
31. Lopez, C., Camier, B., Gassi, J.-Y. (2007). Development of the milk fat microstructure during the manufacture and ripening of Emmental cheese observed by confocal laser scanning microscopy. *International Dairy Journal*, 17, 235-247. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.12.015>.
32. Marrone, R., Balestrieri, A., Pepe, T., Vollano, L., Murru, N., Michael, J., Anastasio, A. (2014). Physicochemical composition, fatty acid profile and cholesterol content of "Pecorino Carmasciano" cheese, a traditional Italian dairy product. *Journal of Food Composition and Analysis*, 36, 85-89. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.05.006>.
33. Milci, S., Goncu, A., Alpkent, Z., Yaygin, H. (2005). Chemical, microbiological and sensory characterization of Halloumi cheese produced from ovine, caprine and bovine milk. *International Dairy Journal*, 15, 625-630. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.10.009>.
34. Mohammadi, H., Mazloomi, S.M., Eskandari, M.H., Aminlari, M., Niakousari, M. (2017). The effect of ozone on aflatoxin M1, oxidative stability, carotenoid content and the microbial count of milk. *Ozone: science & engineering*, 39, 447-453. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1329647>.

35. Nazari, S.M., Mortazavi, A., Hesari, J., Tabatabaei Yazdi, F. (2020). Proteolysis and textural properties of low-fat ultrafiltered Feta cheese as influenced by maltodextrin. *International Journal of Dairy Technology*, 73, 244-254. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12642>.
36. Nunez-Elisea, R., Davenport, T.L. (1986). Abscission of mango fruitlets as influenced by enhanced ethylene biosynthesis. *Plant physiology*, 82, 991-994. <https://doi.org/10.1104/pp.82.4.991>.
37. O'Donnell, C., Tiwari, B.K., Cullen, P., Rice, R.G. (2012). Ozone in food processing. John Wiley & Sons.
38. Özer, B., Robinson, R., Grandison, A. (2003). Textural and microstructural properties of urfa cheese (a white-brined Turkish cheese). *International Journal of Dairy Technology*, 56, 171-176. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2003.00100.x>.
39. Perna, A., Gambacorta, E., Simonetti, A., Grassi, G., Scopa, A. (2022). Effect of ozone treatment exposure time on oxidative stability of cream milk. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 124, 2100238. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202100238>.
40. Şanlıbaba, P., Güçer, Y. (2015). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria. *J. Int. Sci. Publ*, 3, 451-457
41. Sarbazi, M., Hesari, J., Azadmard-Damirchi, S., Rafat, S. (2015). Effect of pasteurization and packaging on the physicochemical and sensory properties of pot (Kope) cheese. *Journal Food Research and Technology*, 24, 507-517
42. Segat, A., Misra, N., Fabbro, A., Buchini, F., Lippe, G., Cullen, P.J., Innocente, N. (2014). Effects of ozone processing on chemical, structural and functional properties of whey protein isolate. *Food Research International*, 66, 365-372. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.10.002>.
43. Sert, D., Mercan, E. (2021). Assessment of powder flow, functional and microbiological characteristics of ozone-treated skim milk powder. *International Dairy Journal*, 121, 105121. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105121>.
44. Sert, D., Mercan, E., Kara, Ü. (2020). Butter production from ozone-treated cream: Effects on characteristics of physicochemical, microbiological, thermal and oxidative stability. *LWT*, 131, 109722. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109722>.

45. Shahab-Lavasani, A.R., Ehsani, M.R., Mirdamadi, S., Ebrahim Zadeh Mousavi, M.A. (2012). Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. *International journal of dairy technology*, 65, 64-70. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00724.x>.
46. Shanshool, A. (2020). Study the effect of ozone gas in milk treatment on chemical and microbial properties of soft cheese ozone gas effect on milk. *Indian Journal of Ecology*, 47.
47. Sheelamary, M., Muthukumar, M. (2011). Effectiveness of ozone in inactivating *Listeria monocytogenes* from milk samples. *World Journal of Young Researchers*, 1, 40-44
48. Soleimani-Rambod, A., Zomorodi, S., Mortazavi, S.A., Khosroshahi Asl, A. (2015). The effect of direct acidification of milk on the viability of *Bifidobacterium lactis* (B94 LAFTI) during ripening of Iranian white cheese. *Journal of innovation in food science and technology*, 7, 26-31
49. Suprapto, D., Radiati, L.E., Mahdi, C., Evanuarini, H. (2021). Physicochemical Quality and Microbial Activity of Dairy Milk with Ozonation. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*, 16, 117-124. <https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2021.016.02.5>.
50. Tabla, R., Roa, I. (2022). Use of gaseous ozone in soft cheese ripening: Effect on the rind microorganisms and the sensorial quality. *LWT*, 170, 114066. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114066>.
51. Varga, L., Szigeti, J. (2016). Use of ozone in the dairy industry: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 69, 157-168. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12302>.
52. Zonoubi, R., Goli, M. (2021). The effect of complete replacing sodium with potassium, calcium, and magnesium brine on sodium-free ultrafiltration Feta cheese at the end of the 60-day ripening period: Physicochemical, proteolysis-lipolysis indices, microbial, colorimetric, and sensory evaluation. *Food Science & Nutrition*, 9, 866-874. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2050>.