

تولید پنیر لیقوان از ترکیب‌های متفاوتی از شیر پاستوریزه نشده گاومیش، گوسفند و بز و مقایسه ویژگی‌های میکروبی پنیرهای تولیدشده با پنیر لیقوان گوسفندی

تولید پنیر لیقوان از شیر گاومیش، گوسفند و بز

شیرین جباروند بهروز^۱، یحیی شفیعی^{۲*}

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد ممقان، دانشگاه آزاد اسلامی، ممقان، ایران

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، واحد خوی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: shafieibavil@yahoo.com

(تاریخ دریافت: // تاریخ پذیرش: //)

چکیده

پنیر لیقوان معروف‌ترین پنیر آب نمکی ایران است که از شیر گوسفندی در روستای لیقوان تولید می‌شود. با توجه به محدود بودن تولید شیر گوسفند در این منطقه و فصلی بودن آن نیاز برای مطالعه در خصوص تولید این فرآورده از شیر سایر گونه‌ها از جمله شیر گاومیش و بز احساس می‌شود. هدف از انجام این تحقیق تولید پنیر لیقوان از شیر پاستوریزه نشده گاومیش/بز، و گاومیش/گوسفند به نسبت‌های مساوی، و مطالعه ویژگی‌های میکروبی پنیرهای تولیدشده شامل شمارش کلی، لاکتوباسیل، کلی فرم، کپک و مخمر و مقایسه آن با پنیر لیقوان گوسفندی بود. برای این منظور نمونه‌ها در یکی از کارگاه‌های پنیر سازی لیقوان تولید و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند و هر ۱۵ روز به مدت ۹۰ روز از نظر ویژگی‌های میکروبی مورد آزمایش قرار گرفتند. بر اساس نتایج، شمارش کلی باکتریایی، کپک و مخمر نمونه‌های تهیه‌شده از ترکیب شیر گاومیش و بز و ترکیب شیر گاومیش و گوسفند به‌طور معنی‌داری از نمونه شاهد پایین‌تر بود ($p < 0.05$). شمارش لاکتوباسیل نمونه‌ها بیشتر از شاهد بود که در خصوص نمونه ۲ (گاومیش/بز) این افزایش معنی‌دار بود ($p < 0.05$). تعداد کلی باکتری‌ها، کلی فرم، لاکتوباسیل و مخمر در طول دوره رسیدن تا پایان دوره روند کاهشی نشان دادند. ولی تعداد کپک در طول دوره رسیدن با افزایش کاهش‌های متوالی همراه بود. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش چنین نتیجه‌گیری گردید که نسبت معینی از شیر گاومیش و بز می‌تواند جایگزین مناسبی برای شیر کامل گوسفندی در تهیه پنیر لیقوان باشد.

واژه‌های کلیدی: پنیر لیقوان، شیر گاومیش، شیر بز، پنیرهای سنتی، ویژگی‌های میکروبی

انواع مختلفی از پنیرهای سنتی در ایران تولید می‌شود که می‌توان به پنیر لیقوان آذربایجان شرقی، سیاه مزگی گیلان، پنیر موتال اردبیل، پنیر خیکی خراسان، کوپه پنیری، پنیر زیرلی، پنیر جاجیخلی آذربایجان غربی، پنیر کوزه‌ای کردستان، پنیر قرمز سلماس، پنیر لور، کت پنیری یا پنیر روستایی مثل پنیر سراب، پنیر اهر، پنیر هریس، پنیر ورزقان، و غیره اشاره کرد (Shafiei Babil Oliaei, 2016). پنیر لیقوان از پنیرهای آب نمکی است که از شیر گوسفندی و به طور سنتی در منطقه لیقوان شهرستان تبریز تولید می‌شود. مهم‌ترین وجه تمایز این نوع پنیر با سایر محصولات مشابه، استفاده از شیر خام گوسفندی، بدون استفاده از فرآیند حرارتی و نیز عدم استفاده از استارترها در تولید آن است (Shafiei Babil Oliaei, 2016). این پنیر با رنگ سفید، مزه اسیدی، آرومای مطلوب و بافت اسلایس پذیر حاوی تعدادی چشم ریز و درشت قطره اشکی یا کروی مشخص می‌شود. پنیر لیقوان در اصل از شیر گوسفند تهیه می‌گردد ولی به ندرت مخلوطی از شیر گوسفند با ۲۰ تا ۳۰ درصد شیر بز نیز برای تهیه این نوع پنیر استفاده می‌شود. این پنیر معمولاً در قوطی‌های حلبی ۱، ۵، ۱۰ و ۱۷ کیلوگرمی به بازار عرضه می‌شود (Shafiei Babil Oliaei, 2016).

ویژگی‌های میکروبی پنیر لیقوان توسط محققان بسیاری مورد مطالعه قرار گرفته و مشخص گردیده که جنس‌های *انتروکوکوس*، *لاکتوباسیلوس* و *لاکتوکوکوس فلور* اصلی لاکتیک اسید باکتریایی این نوع پنیر را در طول مراحل مختلف تولید به ترتیب به خود اختصاص می‌دهند (Edalatian, et al, 2010). شمارش کلی باکتریایی پنیر لیقوان بعد از ۹۰ روز دوره رسیدن، ۵/۸ لگاریتم گزارش شده و شمارش *لاکتوباسیل*‌های مزوفیل، *لاکتوباسیل*‌های ترموفیل، *لاکتوکوکوس*‌های مزوفیل و *لاکتوکوکوس*‌های ترموفیل به ترتیب ۴/۷، ۰/۶، ۵/۷ و ۴/۸ لگاریتم گزارش شده است (Mirzaei, 2011). با این وجود مشخص گردیده که فلور میکروبی پنیر لیقوان می‌تواند در طی دوران فرآوری و رسیدن تغییر یابد به عنوان نمونه سویه‌های *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* با پیشرفت رسیدن با سویه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتروم* و *لاکتوباسیلوس پارا کازئی* جایگزین می‌شوند (Kafili et al, 2011).

سوش‌های بومی لاکتیک موجود در فلور شیر عوامل مهم توسعه‌دهنده عطر و طعم خاص این نوع پنیر است. حضور و فعالیت باکتری‌ها همیشگی است ولی کپک‌ها و مخمرها تنها در مواردی خاصی تأثیر عمده‌ای می‌گذارند به علاوه آنزیم‌های ذاتی شیر و آنزیم‌هایی که جهت رسیدن به آن افزوده می‌شوند مثل رنین اثر مهمی را ایفا می‌کنند. دلیل اصلی تولید پنیر در گذشته، دستیابی به محصولی با قابلیت نگهداری بهتر بوده است و توسعه ویژگی‌های ارگانولپتیکی در درجه دوم اهمیت قرار داشته است (Mortazavi et al, 2002). البته با گذشت زمان اهمیت قابلیت نگهداری شیر با تبدیل آن به پنیر با ایجاد تکنولوژی‌های پیشرفته در افزایش زمان ماندگاری شیر در شکل‌های مختلف آن مثل خشک کردن یا استریلیزاسیون کم رنگ تر شده است. اما در کنار آن پنیر با بالا رفتن خصوصیات ویژه‌ای چون طعم، مزه، بو و حتی جامد بودن اهمیت خود را در مجموعه‌ای دیگر کاملاً نشان داده است. امروزه کاملاً واضح است که فروش پنیر در مقایسه با سایر فرآورده‌های شیری به راحتی قابل انجام است که افزایش فروش این محصول در قیاس باثبات فروش شیر و سایر محصولات آن تأیید کننده این مطلب است. با توجه به بحث‌های مطرح شده، صنعت پنیر امروزه به دنبال ساخت پنیری با قابلیت نگهداری بالا نمی‌باشد، بلکه خواهان محصولی است که ضمن دارا بودن خواص ارگانولپتیکی خاص در سریع‌ترین زمان به فروش برسد و تأخیر بین زمان ورود شیر به کارخانه و زمان فروش پنیر را به حداقل

ممکن برساند که کاهش این بازه زمانی کاهش هزینه‌های تولید را نیز در بر خواهد داشت (Mortazavi et al, 2002). با توجه به اهمیت شیر گاومیش که دومین شیر مصرفی جهان بعد از شیر گاو محسوب می‌شود و مصرف بالای آن در کشورمان (Esnaashari et al, 2012) و اهمیت شیر بز که دارای خواص درمانی بیشماری است (Nezhad Razmjoui Akhgar et al, 2020). هدف از انجام این تحقیق تولید پنیر لیقوان با شیر پاستوریزه نشده ترکیبی گاومیش/بز و گاومیش/گوسفند به نسبت‌های مساوی در منطقه لیقوان، و مقایسه ویژگی‌های میکروبی پنیرهای تولید شده با پنیر لیقوان گوسفندی بود.

مواد و روش‌ها

- مواد مورد استفاده

شیر خام گاومیش، از دامداری منطقه مایان و گوسفند و بز از دامداری‌های منطقه لیقوان تبریز تهیه شد. مواد شیمیایی با درجه آنالیزی و محیط کشت‌های مورد نیاز از شرکت مرک آلمان تهیه شد. مایه پنیر مورد استفاده از نوع میتو بوده و از شرکت MEITO SANGYOCO (ساخت کشور ژاپن) تهیه شد. ترکیب شیر پاستوریزه نشده گاومیش/بز، و گاومیش/گوسفند به نسبت‌های مساوی در تولید پنیر مورد استفاده قرار گرفته است. اطلاعات مربوط به آنالیز فیزیکیو شیمیایی نمونه‌های شیر خام مورد استفاده جهت تولید انواع پنیر لیقوان در این تحقیق در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول (۱) - آنالیز فیزیکیو شیمیایی نمونه‌های شیر خام مورد استفاده جهت تولید پنیر لیقوان

نوع شیر	مواد جامد خشک %	درصد چربی	درصد پروتئین	درصد لاکتوز	درصد مواد معدنی	دانسیته	نقطه انجماد
نمونه ۱ (شیرگاو میش و گوسفند)	۹/۶۶	۷/۳۷	۴/۱	۳/۷۶	۰/۲۳	۱/۰۲	-۰/۴۳
نمونه ۲ (شیر بز و گاومیش)	۸/۰۳	۵/۶۳	۳/۷۹	۳/۰۵	۰/۲۸	۱/۰۲	-۰/۳۸
نمونه شاهد (شیر گوسفندی)	۹/۶۲	۶/۷۶	۴/۰۹	۳/۷۱	۰/۲۸	۱/۰۲	-۰/۴۴

- روش کار

در این تحقیق سه نوع پنیر لیقوان در یکی از کارگاه‌های پنیر سازی لیقوان با اصول سنتی تهیه گردید: الف) پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱)، ب) پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) و ج) پنیر لیقوان گوسفندی (شاهد). نمونه‌های شیر گاومیش/بز، گاومیش/گوسفند به نسبت‌های مساوی باهم ترکیب و نمونه‌های پنیر تهیه شدند. نمونه‌های پنیر شاهد نیز از شیر گوسفندی در کارگاه مذکور تهیه گردید. سپس نمونه‌های پنیر تهیه شده در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ از نظر ویژگی‌های میکروبی در هر نوبت با ۳ تکرار

مورد آزمون قرار گرفتند. در طی ۹۰ روز زمان رسیدن نمونه‌های تولیدی در ۴۲ بسته حلبی ۲۰۰ گرمی در غارهای مخصوص نگهداری پنیر در کارگاه نگهداری شدند تا دوره رسیدن سپری شود.

- مراحل تهیه پنیر سنتی ليقوان

دیاگرام تولید سنتی پنیر ليقوان به صورت شماتیک در شکل (۱) نشان داده شده است. پس از جمع‌آوری و انتقال شیرهای خام به کارگاه تولید پنیر، شیرها بعد از صاف شدن از طریق پارچه‌های صافی، داخل سطل‌های استیل ریخته شد و بعد از ترکیب شیرها با نسبت‌های مساوی، دمای شیر به وسیله قرار دادن این سطل‌ها داخل شبکه‌های آب به حدود ۲۳ درجه سلسیوس کاهش داده شد. در این دما به ازای ۵۰ کیلوگرم یک پیمانه آنزیم رنین تجاری میتو به شیر اضافه شد. عمل انعقاد شیر حدود ۲ ساعت به طول انجامید. سپس دلمه حاصل به قطعاتی برش خورده و توسط پارچه‌هایی پوشیده شد و بخش اعظم آب پنیر در این مرحله حذف گردید. انتهای پارچه‌های صافی محکم بسته شد و عمل آگیری از پنیر به مدت ۵ ساعت انجام شد. سپس دلمه پرس شده به قطعات بلوک مانند برش خورده و داخل آب‌نمک ۲۴٪ به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. سپس کریستال نمک جامد در سطح آن پاشیده شده و به مدت ۲۴ ساعت در همین حالت نگهداری شد. در روز بعد قالب‌های برش خورده پنیر داخل حلب‌های حاوی آب نمک ۱۱ تا ۱۲٪ قرار گرفت. حلب‌های پنیر به زاغه یا غارهای زیرزمینی با درجه حرارت ۸ الی ۱۰ درجه سلسیوس منتقل شد و حداقل به مدت ۵ ماه دوره رسیدگی را سپری کرد. در حین فرآیند تولید این پنیر هیچ استارتی اضافه نشد.



شکل (۱) - دیاگرام تولید پنیر لیقوان به روش سنتی (Shafiei, 2013)

- آزمون های میکروبی

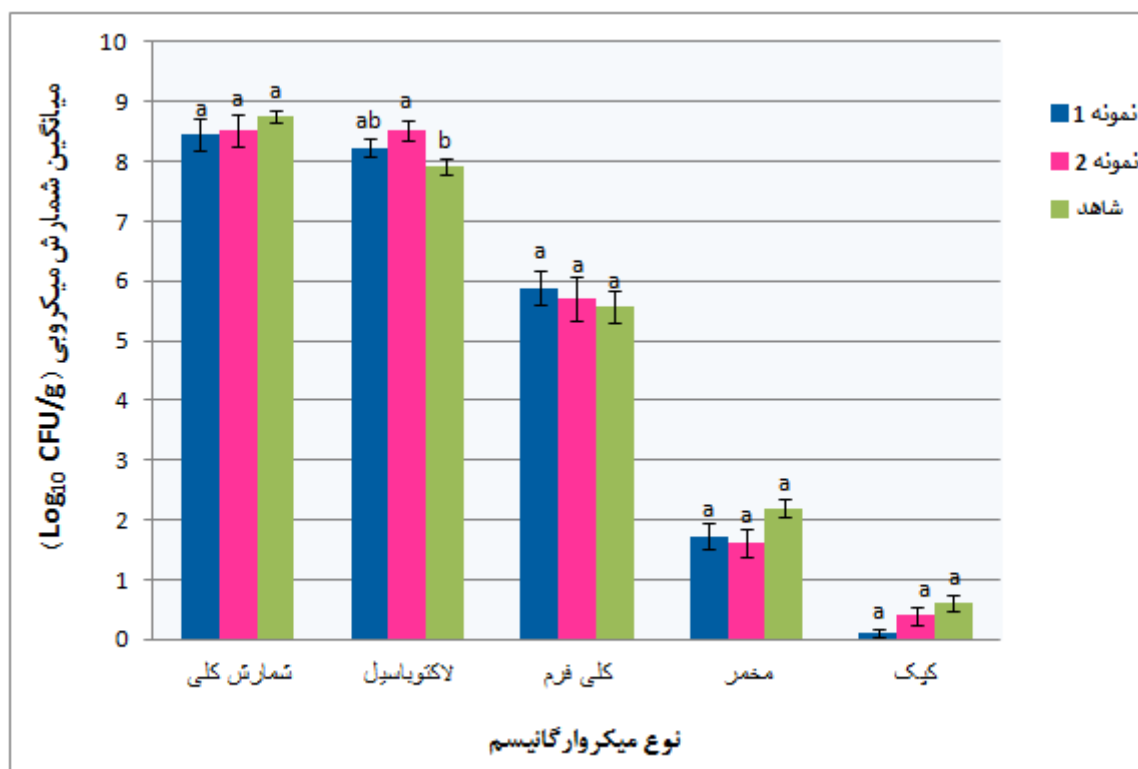
بمنظور شمارش کلی میکروبی در نمونه های پنیر از محیط کشت PCA (Plate Count Agar، مرک آلمان) استفاده شد و پس از کشت پلیت ها در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری گردید و سپس تعداد پرگنه ها در پلیت های استاندارد مورد شمارش قرار گرفت (Eslami et al, 2015). شمارش لاکتوباسیل ها بر اساس استاندارد شماره (۲۴۰۶) انجام گرفت. برای این منظور محیط کشت MRS-Agar (De Man-Rogosa-Sharpe Agar، مرک آلمان) مورد استفاده قرار گرفت. پلیت ها با روش آمیخته یا پورپلیت کشت داده شده و در شرایط بی هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند (استاندارد ملی ایران شماره ۷۷۱۴). برای شمارش کلی فرم ها از روش MPN سیستم سه لوله ای و محیط کشت لاکتوز براث و سبز درخشان استفاده گردید و نتایج بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت مورد ارزیابی و شمارش قرار گرفت (استاندارد ملی ایران شماره ۱ و ۲-۵۴۸۶). شمارش کپک و مخمر نمونه ها بر اساس (استاندارد ملی شماره ۱۰۱۵۴) انجام شد. برای این منظور از محیط کشت YGC (Yeast Glucose Chloramphenicol Agar، مرک آلمان) استفاده شد و محیط های کشت داده شده در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ تا ۵ روز گرمخانه گذاری گردید.

آنالیز آماری

در این پژوهش تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون تی جفتی استفاده شد. سطح معنی‌دار بودن اختلاف میانگین داده‌ها $p < 0.05$ بود. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 رسم گردید.

یافته‌ها

یافته‌های به دست آمده از شمارش میکروبی نمونه‌ها شامل شمارش کلی میکروبی (Total count)، شمارش لاکتوباسیل، شمارش کلی فرم، شمارش کپک و مخمر نمونه‌های پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و مخلوط شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) و پنیر لیقوان تهیه شده از شیر گوسفندی (نمونه شاهد) در طول مدت‌زمان نگهداری، به ترتیب در اشکال ۲ تا ۷ نشان داده شده است.



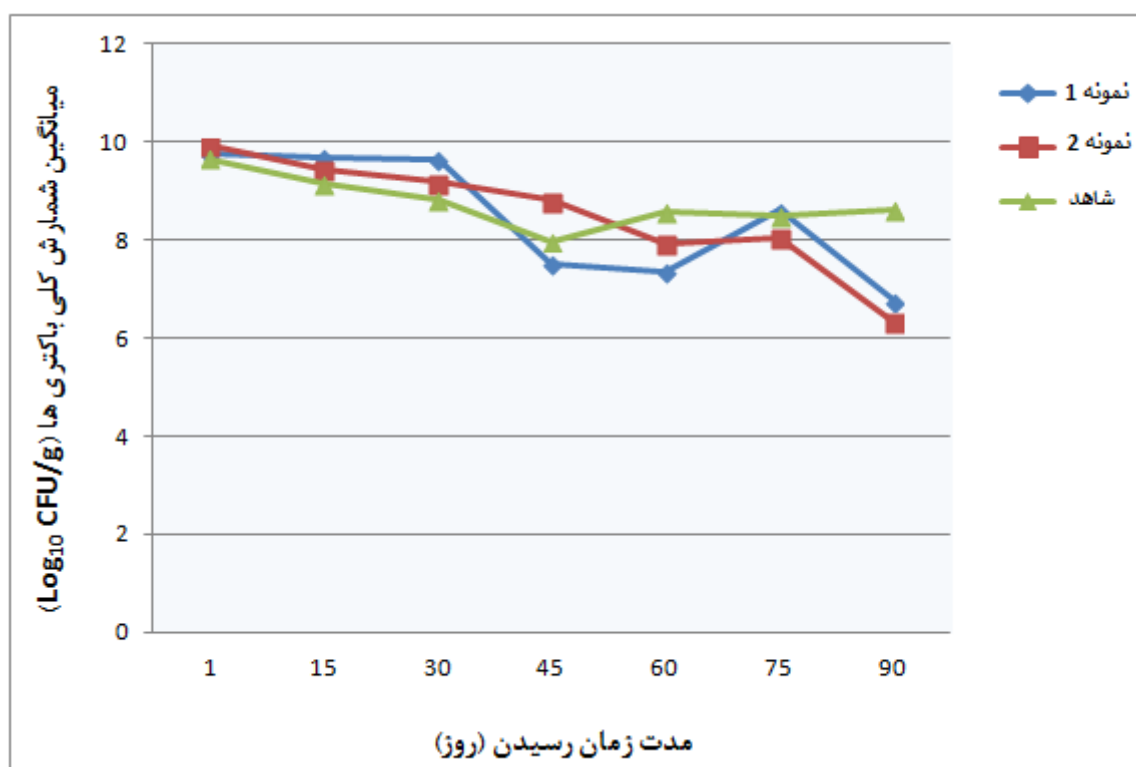
شکل (۲) - شمارش میکروبی نمونه‌های پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و گوسفند (تیمار ۱) و تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و بز (تیمار ۲) در طول دوره نگهداری و مقایسه آن با پنیر لیقوان گوسفندی (شاهد)، ($p < 0.05$).

- شمارش کلی نمونه‌ها

با توجه به نمودار (۳) بار میکروبی نمونه‌ها با گذشت زمان کاهش نشان می‌دهد تا اینکه در روز ۴۵ شاهد افزایش و از روز ۶۰ تقریباً ثابت مانده است. بار میکروبی در نمونه از روز ۳۰ کاهش داشته در روز ۶۰ افزایش و دوباره در روز ۷۵

کاهش داشته است. در نمونه ۲ کاهش کمی در روز ۴۵ داشته تا روز ۶۰ و تا روز ۷۵ این روند ثابت مانده و از روز ۷۵ کاهش مشاهده می‌شود. بررسی نتایج تعیین بار میکروبی سه نمونه پنیر لیقوان حاکی از آن است که در روز ۳۰ بین بار میکروبی کلی نمونه ۱ و شاهد و بین نمونه ۲ و ۴۵ بین هر سه گروه و در روز ۹۰ بین نمونه ۲ و شاهد و نمونه ۱ و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0/05$).

یافته‌های مطالعه‌ای نشان داد که شمارش کلی میکروبی برای پنیر آفونگال پیتو که سه روز از تولید آن می‌گذشت $26/9 \pm 0/56 \text{ Log CFU/g}$ و در پنیری که ۶۰ روز از تولید آن می‌گذشت $8/06 \pm 0/47 \text{ Log CFU/g}$ بود که بیانگر کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها طی دوره رسیدن است (Warsama et al, 2006).



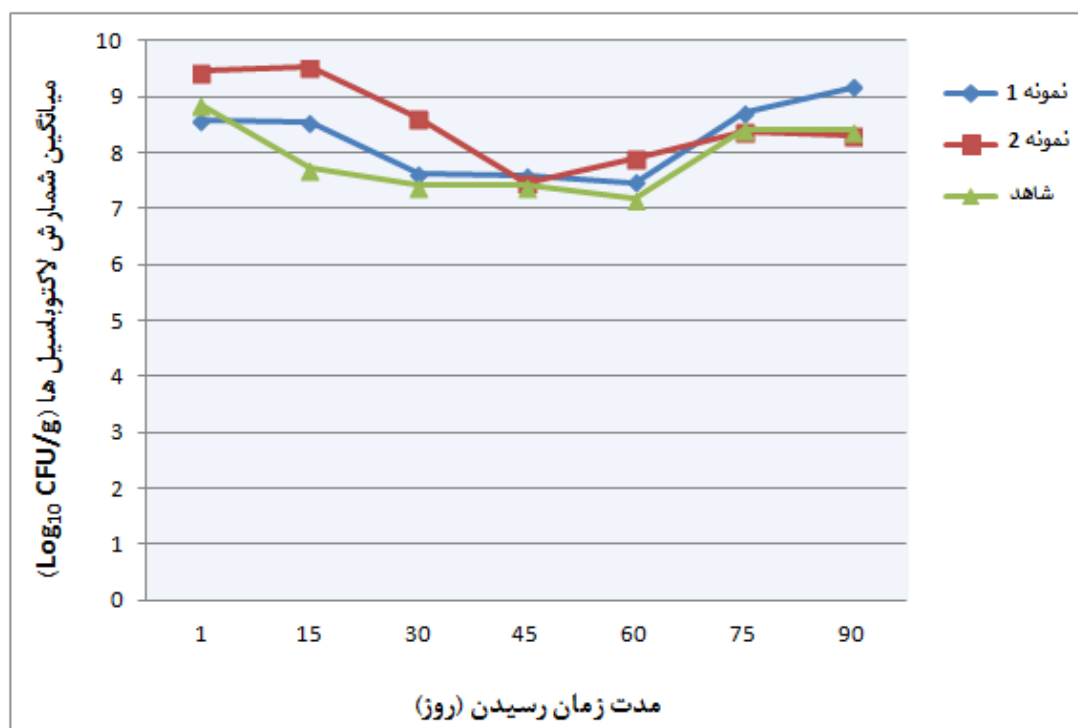
شکل (۳) - شمارش کلی میکروبی (TC) نمونه‌های پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) در طول دوره نگهداری و مقایسه آن با پنیر لیقوان گوسفندی (نمونه شاهد).

- شمارش لاکتوباسیل نمونه‌ها

با توجه به نمودار (۴) لاکتوباسیل‌های شاهد روند کاهشی را نشان داد تا اینکه در روز ۶۰ افزایش داشته و از روز ۷۵ به بعد ثابت مانده است و لاکتوباسیل‌های نمونه ۱ تا روز ۱۵ ثابت از روز ۱۵ کاهش داشته تا روز ۳۰ و تا روز ۶۰ ثابت بوده و از روز ۶۰ افزایش داشته است و نمونه ۲ تا روز ۱۵ ثابت و از روز ۱۵ کاهش داشته و این روند تا روز ۴۵ ادامه داشته و سپس تا روز ۷۵ افزایش نشان داده و این روند به طور ثابت ادامه یافته است. از آنجایی که پنیر یک محیط پویایی است و میکروارگانیسم‌ها در آن دائماً در حال رشد و تکثیر می‌باشند احتمال افزایش یا کاهش این میکرو

ارگاناسم‌ها در میدان رقابت رشد میکروبی با تغییر شرایط رشد وجود دارد. بررسی نتایج شمارش لاکتوباسیل سه نمونه پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و مخلوط شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) پنیر لیقوان (شاهد) حاکی از آن است که در شمارش لاکتوباسیل نمونه‌های پنیر در روز ۱، ۱۵ و ۹۰ تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$)، ولی در ما بقی روزها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p > 0/05$). با افزایش غلظت نمک و اسیدیته پنیر تعداد لاکتوباسیل‌ها نیز کاهش یافت. بر اساس یافته‌های تحقیقات پیشین همبستگی مستقیم و معنی‌داری بین شمارش کلی میکروبی و pH نمونه‌ها وجود دارد (Karim, 1995).

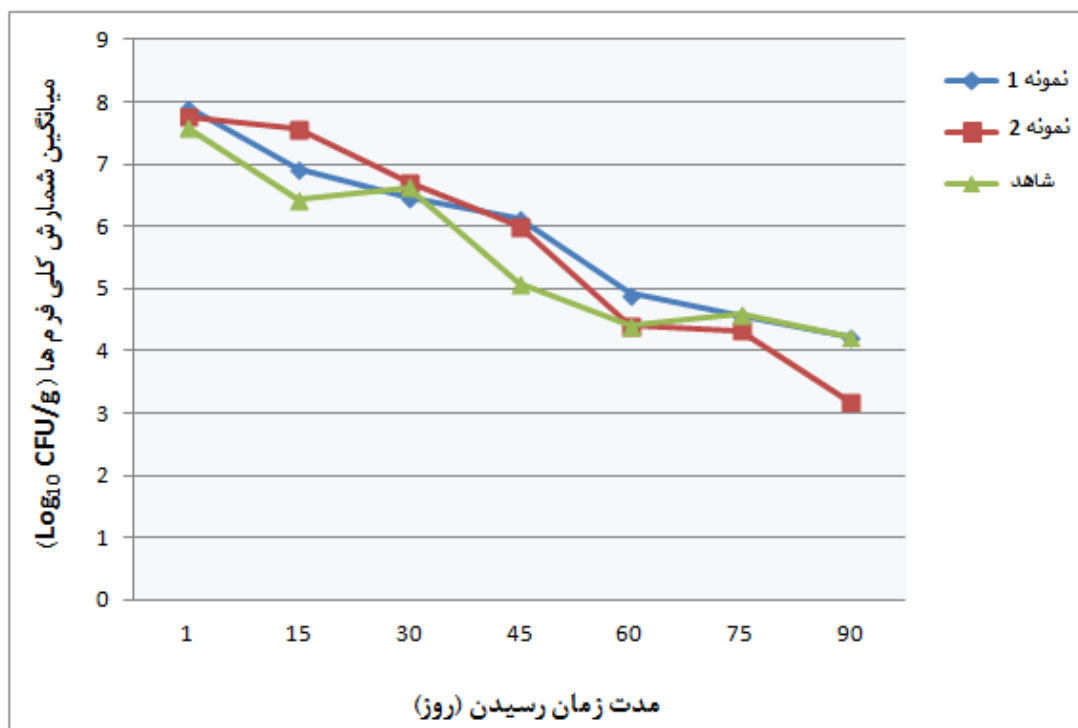
تحقیقات نشان می‌دهد که خواص حسی پنیر به عواملی از جمله شیر مصرفی و مشارکت گونه‌های مختلف باکتری‌های اسید لاکتیک وابسته است. با این وجود می‌توان پنیر لیقوان با ترکیبی از شیر سایر گونه‌های دامی تهیه نمود که از ویژگی‌های حسی و ارگانولپتیکی خوب و قابل قبولی برخوردار است (Ahmadi et al, 2009). یافته‌های حاصل از یک پژوهش که با هدف بررسی باکتری‌های اسید لاکتیک پنیر پوستی انجام گرفته نشان می‌دهد که تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در ۳۰ روز اول دوران رسیدن بطور غیر معنی‌داری افزایش می‌یابد ولی در ادامه روند کاهشی کند در تعداد این باکتری‌ها مشاهده می‌شود (Hannon et al, 2006). پنیر پوستی از انواع پنیرهایی است که از شیر خام و بدون افزودن استارتر تهیه می‌شود لذا سوش‌های بومی لاکتیک موجود در فلور شیر عوامل مهم توسعه‌دهنده عطر و طعم خاص این نوع پنیر هستند. میزان بالاتر باکتری‌های اسید لاکتیک غیر آغازگر نشان‌دهنده افزایش محتوای آنزیمی پنیر بوده و در توسعه عطر و طعم در این نوع پنیرها نقش دارد (Hannon et al, 2006).



شکل (۴) - شمارش لاکتوباسیل نمونه‌های پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) در طول دوره نگهداری و مقایسه آن با پنیر لیقوان گوسفندی (نمونه شاهد).

- شمارش کلی فرم‌ها

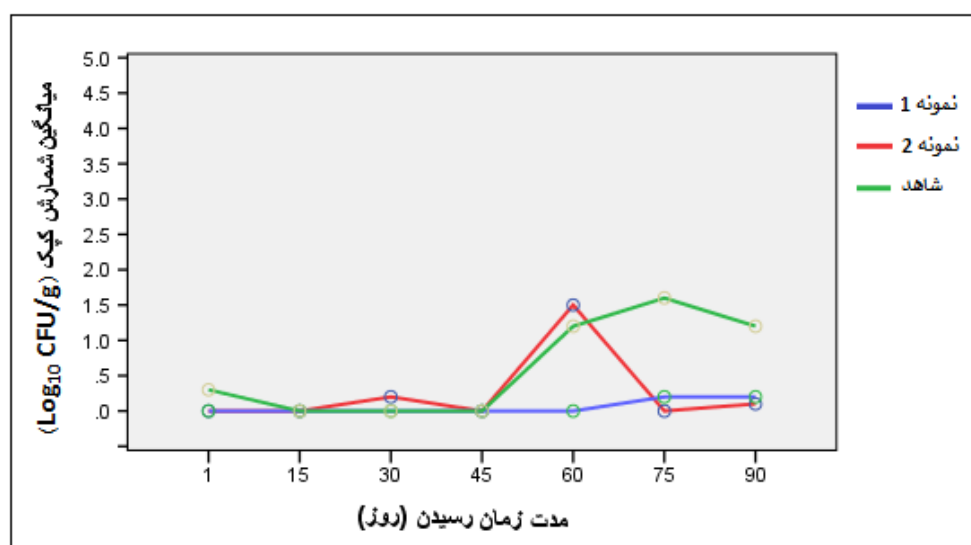
با توجه به نمودار (۵) شمارش کلی فرم نمونه ۱ در طول ۹۰ روز نگهداری کاهش نشان داد، فقط در روز ۴۵ افزایش جزئی مشاهده شد و بعد از آن روند نزولی ادامه داشت. نمونه ۲ نیز در طول ۹۰ روز کاهش نشان داد فقط در روز ۷۵ افزایش بسیار جزئی دیده شد و کلی فرم شاهد هم همین طور، فقط در روز ۳۰ افزایش داشت که از روز ۳۰ به بعد دوباره روند کاهش را تا روز ۶۰ دنبال نمود و از روز ۶۰ دوباره افزایش کمی مشاهده گردید و دوباره روز ۹۰ کاهش نشان داد. بررسی نتایج شمارش کلی فرم سه نمونه پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و مخلوط شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) پنیر لیقوان (شاهد) حاکی از آن است که در روز اول اختلاف معنی‌دار بوده و این امر بین هر سه گروه است ($p < 0.05$)، و نیز در روز ۹۰ تفاوت معنی‌داری وجود داشته و این تفاوت بین نمونه‌های ۱ و ۲ و همچنین بین نمونه‌های ۲ و شاهد مشاهده می‌شود ($p < 0.05$).



شکل (۵) - شمارش کلی فرم نمونه‌های پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) در طول دوره نگهداری و مقایسه آن با پنیر لیقوان گوسفندی (نمونه شاهد).

- شمارش کپک نمونه‌ها

با توجه به نمودار (۶) که میانگین شمارش کپک نمونه‌ها را نشان می‌دهد، نمونه‌های شاهد تا روز ۱۵ کاهش داشته است ولی از روز ۱۵ تا ۴۵ ثابت بوده از روز ۴۵ افزایش شدید داشته تا روز ۶۰ و تا روز ۷۵ با افت کم به این حالت صعودی ادامه داده و از روز ۷۵ تا ۹۰ روند کاهشی را نشان می‌دهد. نمونه ۱ نیز تا روز ۶۰ ثابت بوده و از روز ۶۰ تا ۷۵ روند افزایشی نشان می‌دهد و از روز ۷۵ تا ۹۰ به صورت ثابت بوده است. نمونه ۲ تا روز ۱۵ ثابت و تا روز ۳۰ افزایش نشان داده و از روز ۳۰ تا ۴۵ روند کاهشی داشته است. دوباره تا روز ۶۰ افزایش شدید و از روز ۶۰ تا ۷۵ کاهش شدید و تا روز ۹۰ افزایش جزئی مشاهده گردیده است. این موضوع می‌تواند با میزان رطوبت پنیر، پویا بودن پنیر و امکان رشد میکروب‌ها و اثر نمک مرتبط است. بررسی نتایج شمارش کپک سه نمونه پنیر ليقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و مخلوط شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) پنیر ليقوان (شاهد) حاکی از آن است که در روز ۱ و ۳۰، و در روز ۹۰، تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$). در روز ۱۵ بین نمونه‌های ۱ و ۲ و بین نمونه‌های ۲ و شاهد، در روز ۳۰ بین نمونه‌های ۱ و ۲ و بین نمونه‌های ۲ و شاهد و در روز ۹۰ بین نمونه‌های ۱ و ۲ تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$).

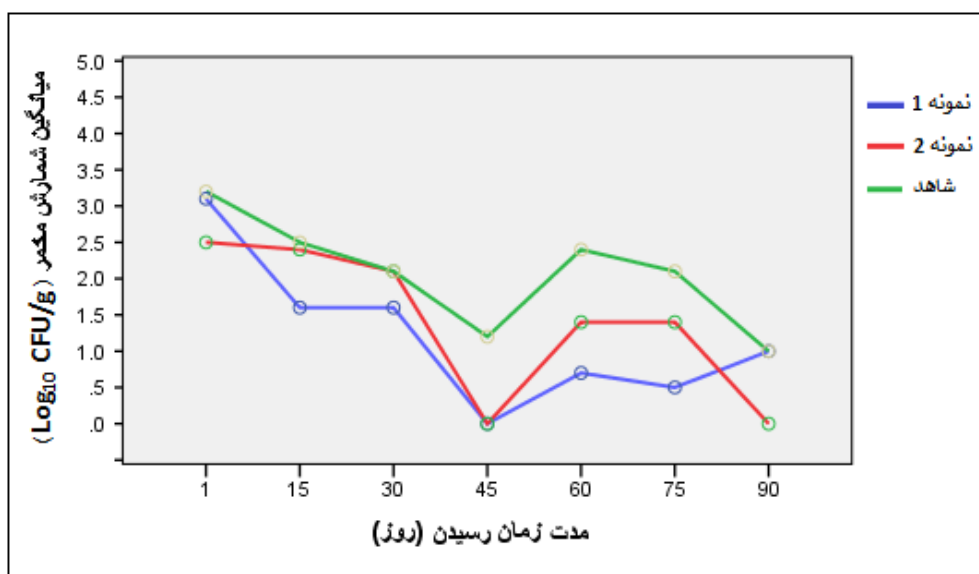


شکل (۶) شمارش کپک نمونه‌های پنیر ليقوان تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) در طول دوره نگهداری و مقایسه آن با پنیر ليقوان گوسفندی (نمونه شاهد).

- شمارش مخمر

با توجه به نمودار (۷) که شمارش مخمر نمونه‌ها را نشان می‌دهد، شمارش مخمر نمونه ۱ روند نزولی از روز ۱ تا ۱۵ داشته و تا روز ۳۰ ثابت بوده و بعد تا روز ۴۵ روند نزولی محسوس را نشان داد که این روند تا روز ۶۰ به شدت تغییر کرده و حالت افزایشی نشان داده و تا روز ۷۵ روند به طور ثابت ادامه یافته و تا روز ۹۰ مجدداً روند افزایشی داشته است. نمونه ۲ تا روز ۳۰ روند نسبتاً ثابتی داشته و از روز ۳۰ تا ۴۵ روند محسوس کاهشی نشان داده است. از روز ۴۵ تا ۶۰ روند شدید افزایشی داشته و تا روز ۷۵ این روند به طور ثابت ادامه داشته و تا روز ۹۰ روند شدید

کاهش می‌شود. نمونه شاهد تا روز ۱۵ کاهش و در ادامه تا روز ۳۰ روند ثابت بوده و تا روز ۴۵ روند نزولی داشته است. از روز ۴۵ تا ۶۰ روند صعودی نشان داده و تا روز ۷۵ نسبتاً ثابت بوده و در ادامه روند نزولی را نشان می‌دهد، که همان‌گونه که اشاره گردید این موضوع می‌تواند با پویا بودن پنیر و امکان رشد میکروب‌ها و اثر نمک مرتبط است. بررسی نتایج شمارش مخمر سه نمونه پنیر ليقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و مخلوط شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) پنیر ليقوان (شاهد) حاکی از آن است که در روز ۶۰ و روز ۷۵ تفاوت معنی‌دار دارد ($p < 0.05$). این تفاوت در روز ۳۰ بین نمونه‌های ۱ و ۲ و همچنین بین نمونه‌های ۱ و شاهد معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

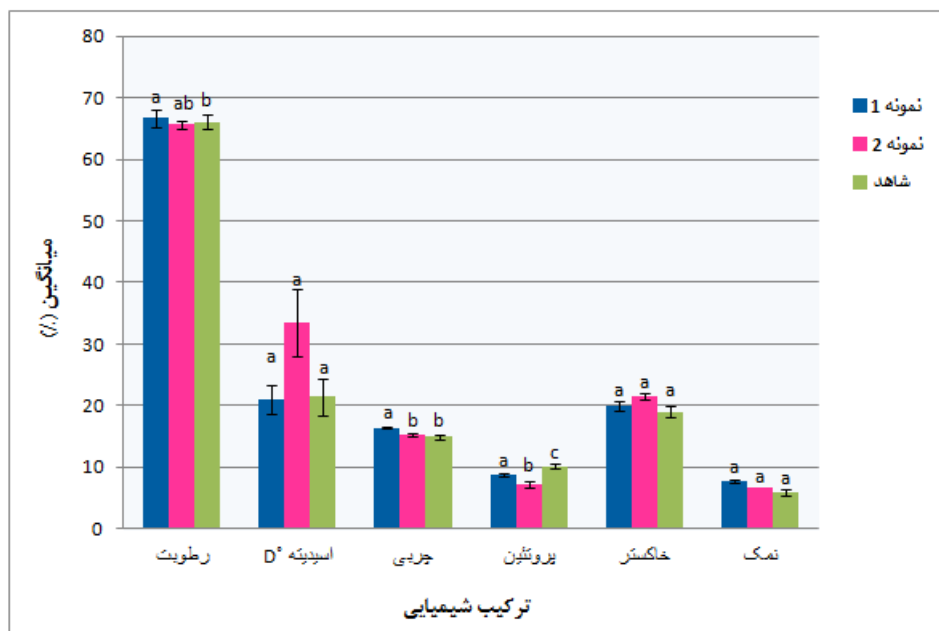


شکل (۷) - شمارش مخمر نمونه‌های پنیر ليقوان تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) در طول دوره نگهداری و مقایسه آن با پنیر ليقوان گوسفندی (نمونه شاهد)، ($p < 0.05$).

با توجه به نمودار شکل (۷) که شمارش مخمر نمونه‌ها را نشان می‌دهد، که شمارش مخمر نمونه ۱ روند نزولی از روز ۱ تا ۱۵ داشته و تا روز ۳۰ ثابت بوده و بعد تا روز ۴۵ روند نزولی محسوس را نشان داد که این روند تا روز ۶۰ به شدت تغییر کرده و حالت افزایشی نشان داده و تا روز ۷۵ روند به طور ثابت ادامه یافته و تا روز ۹۰ مجدداً روند افزایشی داشته است. نمونه ۲ تا روز ۳۰ روند نسبتاً ثابتی داشته و از روز ۳۰ تا ۴۵ روند محسوس کاهش را نشان داده است. از روز ۴۵ تا ۶۰ روند شدید افزایشی داشته و تا روز ۷۵ این روند به طور ثابت ادامه داشته و تا روز ۹۰ روند شدید کاهش می‌شود. نمونه شاهد تا روز ۱۵ کاهش و در ادامه تا روز ۳۰ روند ثابت بوده و تا روز ۴۵ روند نزولی داشته است. از روز ۴۵ تا ۶۰ روند صعودی نشان داده و تا روز ۷۵ نسبتاً ثابت بوده و در ادامه روند نزولی را نشان می‌دهد، که همان‌گونه که اشاره گردید این موضوع می‌تواند با پویا بودن پنیر و امکان رشد میکروب‌ها و اثر نمک مرتبط است.

آنالیز شیمیایی نمونه‌های پنیر

یافته‌های به دست آمده آنالیز شیمیایی نمونه‌های پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و مخلوط شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) و پنیر لیقوان تهیه شده از شیر گوسفندی (نمونه شاهد) در طول مدت زمان نگهداری، به ترتیب در شکل‌های ۸ نشان داده شده است.



شکل (۸): آنالیز شیمیایی نمونه‌های پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و تهیه شده از مخلوطی از شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) در طول دوره نگهداری و مقایسه آن با پنیر لیقوان گوسفندی (نمونه شاهد)، ($p < 0.05$).

بررسی نتایج میانگین ترکیب شیمیایی نمونه‌های پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (تیمار ۱) و مخلوط شیر گاومیش و بز (تیمار ۲) در طول مدت زمان نگهداری و مقایسه آن با پنیر لیقوان گوسفندی (شاهد) حاکی از آن است که در نمک، خاکسترو اسیدیته اختلاف معنی دار نیست در بین گروه‌ها ولی در پروتئین اختلاف بین گروه‌ها معنی دار است و در رطوبت اختلاف بین تیمار ۱ و تیمار ۲ با تیمار ۱ و شاهد معنی دار نیست. در نمک بین گروه‌های تیمار ۱ و شاهد در چربی بین تیمار ۱ و ۲ و بین تیمار ۱ و شاهد در پروتئین بین همه گروه‌ها اختلاف معنی دار است ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

شمارش میکروبی (شکل ۲) سه نمونه پنیر لیقوان تهیه شده از مخلوط شیر گاومیش و گوسفند (نمونه ۱) و مخلوط شیر گاومیش و بز (نمونه ۲) پنیر لیقوان گوسفندی (شاهد) حاکی از آن است که فقط در شمارش لاکتوباسیل نمونه‌های تهیه شده تفاوت معنی دار وجود داشته، به‌طوری‌که شمارش لاکتوباسیل نمونه ۲ به طور معنی داری بیشتر از شاهد بود ($p < 0.05$). در بقیه موارد تفاوت معنی داری بین شمارش میکروبی نمونه‌های تیمار و شاهد مشاهده نگردید.

بررسی نتایج شمارش کلی میکروبی (شکل ۳) سه نمونه پنیر لیقوان حاکی از آن است که در روز ۳۰ بین شمارش میکروبی کلی نمونه ۱ و شاهد و بین نمونه ۲ و ۱، در روز ۴۵ بین هر سه گروه و در روز ۹۰ بین نمونه ۲ و شاهد و نمونه ۱ و شاهد اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0/05$). یافته های یک پژوهش نشان می دهد که شمارش کلی میکروبی در پنیر آفونگال پیتو با گذشت زمان و در طی دوره رسیدن روند کاهشی داشته است. بطوریکه شمارش کلی میکروبی از $26/9 \pm 0/56$ Log CFU/g در روز سوم به $8/06 \pm 0/47$ Log CFU/g در روز ۶۰ پس از تولید رسیده است (Warsama et al, 2006).

بررسی نتایج شمارش لاکتوباسیل (شکل ۴) نمونه های پنیر حاکی از آن است که در شمارش لاکتوباسیل نمونه های پنیر در روز ۱، ۱۵ و ۹۰ تفاوت معنی داری وجود داشت ($p < 0/05$)، ولی در مابقی روزها تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. با افزایش غلظت نمک و اسیدیت پنیر تعداد لاکتو باسیلها نیز کاهش یافت. بر اساس یافته های تحقیقات پیشین همبستگی مستقیم و معنی داری بین شمارش کلی میکروبی و pH نمونه ها وجود دارد (Karim, 1995).

مشخص گردیده است که خواص حسی پنیر به عواملی از جمله شیر مصرفی و مشارکت گونه های مختلف باکتری های اسید لاکتیک وابسته است. یافته های یک تحقیق نشان می دهد علی رغم وجود اختلاف معنی دار بین پنیرهای تولیدی از شیر سایر گونه ها با پنیر لیقوان گوسفندی از نظر حسی، قابلیت پذیرش آنها خوب و بالاتر از متوسط ارزیابی شده است (Ahmadi et al, 2009). افزودن غلظت های معینی از اسانس رزماری به شیر جهت تولید پنیر لیقوان می تواند باعث کاهش لاکتوباسیل ها در طول دوره رسیدن شده و ویژگی های حسی پنیر را نیز تحت تأثیر قرار دهد (Shishegar et al, 2018).

یافته های حاصل از یک تحقیق نشان می دهد که تعداد باکتری های اسید لاکتیک در پنیر پوستی در ۳۰ روز اول دوران رسیدن بطور غیر معنی داری افزایش یافته و در ادامه یک روند کاهشی مشاهده گردید. (Hannon et al, 2009).

بررسی نتایج شمارش کلی فرم (شکل ۵) نمونه های پنیر حاکی از آن است که در روز اول اختلاف معنی دار بوده و این امر بین هر سه گروه است ($p < 0/05$)، و نیز در روز ۹۰ تفاوت معنی داری وجود داشته و این تفاوت بین نمونه های ۱ و ۲ و همچنین بین نمونه های ۲ و شاهد مشاهده می شود ($p < 0/05$). یافته های حاصل از یک پژوهش که با هدف بررسی جمعیت میکروبی و کلی فرمی در پنیرهای آب نمکی با غلظت های مختلف نمک (۱۳، ۱۵، ۱۷٪) و مدت زمان نگهداری ۳۰، ۶۰، ۹۰ روز انجام پذیرفت نشان داد که بعد از ۶۰ روز تعداد کلی فرم های موجود در پنیر کاهش یافت (Hesami et al, 2006). با توجه به اینکه کلی فرم ها شامل باکتری هائی هستند که محل طبیعی زندگی آنها در روده و مکان هایی غیر از روده نظیر آب و خاک هست و از سوئی با توجه به اینکه شیر در زمان خروج از پستان سالم حاوی تعداد کمی باکتری است لذا عدم رعایت اصول بهداشتی در حین فرآیند دوشش، نگهداری و تولید می تواند سبب آلودگی محصول گردد (Imandel and Sadegh Zadeh Araghi, 1995).

بررسی نتایج شمارش کپک (شکل ۶) نمونه‌های پنیر حاکی از آن است که در روز ۱ و ۳۰، و در روز ۹۰، تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$). در روز ۱۵ بین نمونه‌های ۱ و ۲ و بین نمونه‌های ۲ و شاهد، در روز ۳۰ بین نمونه‌های ۱ و ۲ و بین نمونه‌های ۲ و شاهد و در روز ۹۰ بین نمونه‌های ۱ و ۲ تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$). در تحقیقی که بر روی پنیر پوستی انجام شد مشخص گردید که نمونه‌های پنیر تازه فاقد کلی‌فرم و کپک بودند و پس از انتقال به پوست دچار آلودگی ثانویه شدند. همچنین نشان داده شد که طی دوره رسیدن پنیر، فعالیت کلی‌فرم-ها مهار شده اما تعداد کپک و مخمر روند افزایشی داشته است (Najafi et al, 2011). نیز اذعان شده است که بالا بودن میزان کپک و مخمر و تفاوت معنی‌داری آن با مقدار مجاز استاندارد می‌تواند به دلیل عدم رعایت شرایط بهداشتی در طی مراحل تهیه پنیر باشد (Al-Tahiri, 2005).

بررسی نتایج شمارش مخمر (شکل ۷) نمونه‌های پنیر حاکی از آن است که در روز ۶۰ و ۷۵ تفاوت معنی‌دار است ($P < 0/05$). این تفاوت در روز ۳۰ بین نمونه‌های ۱ و ۲ و همچنین بین نمونه‌های ۱ و شاهد معنی‌دار بود ($P < 0/05$). مشخص گردیده است که حضور مخمرها در پنیر طی دوران رسیدن بدلیل قدرت بالای این میکروارگانیسم‌ها در متابولیزه کردن اسید، قدرت رشد در pH پائین، رطوبت کم، و نیز فعالیت پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی این دسته از میکروارگانیسم‌ها است. البته یک عامل مهم در افزایش میزان مخمرها، آب نمک مورد استفاده در فرآیند تولید است (Mortazavi et al, 2002).

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر چنین نتیجه گرفته می‌شود که امکان تولید پنیر لیقوان از ترکیب مساوی شیر گاومیش و شیر بز و همچنین شیر گاومیش و شیر گوسفند وجود داشته و نمونه‌های تولید شده در این تحقیق از نظر ویژگی‌های میکروبی تا حدودی مشابه با پنیر لیقوان گوسفندی بود. اگرچه برخی از ویژگی‌های نمونه‌های تولید شده تا حدودی متفاوت با نمونه‌های شاهد بود ولی در اکثر موارد تفاوت معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نگردید. شمارش کلی، کپک و مخمر نمونه‌های تهیه شده از نمونه شاهد پایین تر بود و شمارش لاکتوباسیل نمونه‌ها بیشتر از شاهد بود که در خصوص نمونه پنیر تهیه شده از شیر گاومیش و بز این افزایش معنی‌دار بود. از آنجایی که شیر گاومیش و بز از نظر تغذیه‌ای غنی تر از شیر گوسفند و گاو می‌باشند و در خصوص شیر بز ویژگی‌های درمانی نیز به آن نسبت داده می‌شود بنابراین تولید پنیر لیقوان از شیر این گونه‌ها توصیه می‌گردد.

منابع

- Ahmadi, S., Khamiri, M., Khosroshahi, A. and Vakashaninejad, M. (2009). Investigation of effect of identified isolates from Lighvan cheese on organoleptic characteristics of white Iranian cheese. Quarterly Journal of Food Science and Technology. 6(21): 75-81. [In Persian]
- Al-Tahiri, R. (2005). A comparison on microbial conditions between traditional dairy products sold in karka and same products produced by modern dairies. Pakistan Journal of Nutrition. 4(5): 345-48.

- Edalatian, M. R., Habibi, M. B., Mortazavi, S. A., Nasiri, M. R., Basami, M. R. and Hashemi, M. (2010). Isolation and identification the indigenous lactic flora from Lighvan, as an Iranian raw milk cheese from milk to ripened cheese. *World Academy of Science Engineering and Technology*, 68:1346-1351.
- Eslami, M., Koohi, M., Zadeh Hashem, A., Khodiri, B. and Keshavarz, H. (2015). Survey the presence of coagulase positive staphylococcus aureus in cottage cheeses produced from sheep milk and sold in Marand county. *Journal of Food Science and Technology*. 12(46): 211-218. [in Persian].
- Esnaashari, M., Shayegh, J. and Nasrollahi Omran, A. (2012). Prevalence of genes encoding the classical enterotoxins of *Staphylococcus aureus* isolated from buffalo milk in Tabriz area by multiplex PCR. *Journal of Food Hygiene*, 2(2). 61-68. [In Persian].
- Hesami Rad, R. and NezhadRazmjoui Akhgar, R. (2006). Study of the effect of different renneting temperatures on the efficiency and physicochemical properties of Lighvan cheese. 16th National congress of Iran food industry (1st regional congress). Gorgan University of agricultural sciences and natural resources, Gorgan, Iran. [In Persian].
- Hannon, A., Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G., Delahunty, C. M. and Beresford, T. P. (2006). Production of ingredient-type cheddar cheese with accelerated flavor development by addition of enzyme modified cheese powder. *Journal of Dairy Science*, 89(10): 3749-3762.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2007). Milk and dairy products - Enumeration of colony forming units mold or yeast - colony count at 25 ° C in the plate. Standard No. 10154. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Tehran, Iran (2000). Milk and milk products—Enumeration of coliforms, part 1: Colony count technique at 30°C without resuscitation. National Standard No. 5486–1. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Tehran, Iran (2008). Microbiology of milk and milk products—Specifications. National Standard No. 2406. [In Persian]
- Imandel, K. and Sadegh Zadeh Araghi, O. (1996). Spoilage Agents and Cold Storage of Foods. Tehran: Tehran University Press.
- Kafili, T. Emam D. Z. and Mayo, B. (2011). Phenotypic and genotypic characterization and antimicrobial resistance of lactobacilli isolated during Lighvan cheese ripening. *Proceeding of IDF International Symposium on Sheep Goat and other non-Cow Milk*, Athens, Greece.
- Karim, G. (1995). Milk and its products, first edition, Tehran University Jihad Publications. [in Persian]
- Mirzaei, H. (2011). Microbiological changes in Lighvan cheese throughout its manufacture and ripening. *Afr J Microbiol Res* 5:1609-1614. [In Persian]
- Mortazavi, S.A., Qdse Rouhani, M. and Juyande, H. (2002). Milk and Dairy Products Technology. Ferdows University Press, 331-362. [in Persian]
- Najafi, A., Ziabaksh daylami, M., Karimian, H., Abedi Nia, A.R. and Hasani nejad, M. (2011). Microbiological changes of pousti cheese during ripening. *Journal of Food Technology & Nutrition*. 2(8): 85-91. [In Persian]
- Nezhad Razmjoui Akhgar, R., Zomorodi, Sh. and Shaviklo, A.R. (2020). Effect of fruit nectar on physicochemical and sensory characteristics of goat's milk yogurt, 102(17): 11-21. [In Persian].
- Shafiei Babil Oliaei, Y. (2016). Iran, In: Donnelly C. (Ed.) *The Oxford Companion to Cheese*, Oxford University Press, New York, ISBN 978-0-19-933088-1, pp. 380-382.
- Shafiei Babil Oliaei, Y. (2016). Lighvan Paniri. In: Donnelly C. (Ed.) *The Oxford Companion to Cheese*, Oxford University Press, New York, ISBN 978-0-19-933088-1, P. 435-436.
- Shafiei, Y. (2013). Iranian traditional cheeses. *Proceedings of 1st Regional Conference of Iranian Traditional Dairy Products*, Khoy, Iran. [In Persian]
- Shishegar, R., Mirzaei, H., Mohammadi, K., Karim, G., and Razavilar, V. (2018). Effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil on lactobacillus count and amount of histamine during the ripening period in traditional Lighvan cheese, *Journal of Food Hygiene*, 8(32): 35-48. [In Persian]

- 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.

Production of Lighvan cheese from different mixtures of unpasteurized buffalo, sheep, and goat milk and comparison of its microbial properties with sheep Lighvan cheese

Production of Lighvan cheese from buffalo, sheep, and goat milk

Jabbarvand Behrouz, S.¹, Shafiei, Y.^{2*}

1. Department of Food Science and Technology, Mam.C., Islamic Azad University, Mamaghan, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Science and Natural Resources, Khoy.C., Islamic Azad University, Khoy, Iran.

*Corresponding author: shafieibavil@yahoo.com

(Received: //Accepted: //)

Abstract

Lighvan cheese is the most famous Iranian brined cheese, traditionally produced from ewe's milk in the Lighvan village, Tabriz. Due to the limited and seasonal production of ewe's milk in Lighvan region, it seems to be necessary to study the production of Lighvan cheese from the milk of other species, such as buffalo and goat milk, or a mixture of them. This study aimed to produce Lighvan cheese by the use of an equal proportion of unpasteurized buffalo/goat and buffalo/sheep milks, to study the microbial properties (Total count, lactobacilli, coliform, mold, and yeast) of produced cheeses compared to common Lighvan cheese as a control. For this purpose, samples were produced in an artisanal cheese plant of Lighvan and stored at 4 °C. Then, cheese samples were examined for microbial properties up to 90 days, every 15 days. The total count of mold and yeast in the samples was lower than the control ($p<0.05$). The lactobacilli count of samples was higher than the control, significantly for sample 2 (buffalo/goat milk) ($p<0.05$). The total bacterial count, coliform, lactobacilli, and yeast decreased during maturation. The number of molds was accompanied by consecutive increases and decreases during the ripening period. So, it is concluded that based on the results of the present research, a certain proportion of buffalo and goat milk can be a suitable substitute for whole sheep's milk to make Lighvan cheese.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Lighvan cheese, Buffalo milk, Goat milk, Traditional cheeses, Microbial properties.