نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۳۷، زمستان ۱۴۰۱
ص‌ص: ۴۵~۵۸

ارزیابی کاربرد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و باکتریوسین پلانتارسین در ماندگاری پنیر لاکتیکی

- **ناهید مژگانی**
دانشیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج-ایران.
- **نرگس واسجی** (نویسنده مسئول)
عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج-ایران.
- **حدیث متشفی**
استادیار موسسه تحقیقات علوم دامی کشور- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج-ایران

تاریخ دریافت : آذر ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش : فروردین ۱۴۰۱
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۴۶۶۴۴۳۶
Email: vaseji@asri.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ ASJ.2022.356828.2195

چکیده

دراین پژوهش، به ارزیابی نقش باکتریوسین تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم TA013* (پلانتارسین که بیشترین اثر علیه *لیستریا منوسایتوژنز* را دارد) در ماندگاری پنیر لاکتیکی پرداخته شده است. تیمارها شامل :۱) پنیر لاکتیکی ساده بدون باکتری پروبیوتیک و باکتریوسین بعنوان شاهد ۲) پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم TA013* ۳) پنیر لاکتیکی حاوی پلانتارسین ٤) پنیر لاکتیکی حاوی باکتریوسین تجاری نایسین، در نظر گرفته شدند. خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی پنیر در هر تیمار از نظرpH ، ماده خشک، چربی، پروتئین، نمک، مقدار آفلاتوکسین M1، پروفایل اسیدهای چرب و مهار رشد *لیستریا منوسایتوژنز* در یک دوره نگهداری ٦۰ روزه در شرایط یخچالی تعیین گردید. تجزیه و تحلیل آماری این طرح در قالب طرح کاملا تصادفی، انجام شد. نتایج نشان دادند،کاهش *لیستریا مونوسایتوژنز* در تیمار پنیر لاکتیکی حاوی نایسین در مقایسه با گروه شاهد، Log(CFU/g) ۳/۰۵ بود که تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد داشت. اما در تیمارهای دیگر دارای پروبیوتیک و پلانتارسین، کاهش این پاتوژن در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب Log(CFU/g) ۲/۷٦ و ۱/۷۹ بود که بین این دو نمونه تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. همچنین میزان زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در انتهای نگهداری در یخچال 10^{7}CFU/g بود و تنها کاهش دو Log(CFU/g) مشاهده شد. نتایج نشان دادندکه پنیر حاوی پروبیوتیک (تولید کننده پلانتارسین) دارای ویژگی‌های برتری نسبت به سایر تیمارها بود. بنابراین، شرایط محیطی ایجاد شده مثل پاستوریزاسیون جهت حذف کامل لیستریا *منوسایتوژنز* در پنیر لاکتیکی، کافی نبوده و لازم است جهت ایجاد شرایط مطلوب در مراحل مختلف تولید و ذخیره سازی، از افزودنی‌های مجاز طبیعی نیز استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: پنیر لاکتیکی، *لیستریا منوسایتوژنز*، باکتریوسین، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، نگهدارنده طبیعی.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 137 pp: 45-58

Evaluation of the use of *Lactobacillus plantarum* and plantarsin in the preservation of lactic cheese

By: Naheed Mojgani[1], Narges Vaseji[*2], Hadis moteshafi[3]
1: Associate professor, Biotechnology Dept, Razi Vaccine and Serum Research Institute-Agriculture research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.
2: Member of scientific board, Dept. Of Biotechnology, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Shahid Beheshti St.,Karaj, Iran.
3: Assistant professor, Dept. Of Biotechnology, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Shahid Beheshti St.,Karaj, Iran.

Received: December 2021 **Accepted: April 2022**

In this study, the role of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum TA013* (Plantarsin which has the most effect against *Listeria monocytogenes*) in the shelf life of lactic cheese (LCh) was investigated. Groups: 1) LCh without probiotic bacteria and bacteriocin as a control 2) Probiotic LCh containing *L. plantarum 3*) LCh containing Plantarsin and *4*)LCh containing Nisin were considered. Physicochemical and microbiological properties of cheese in each treatment were determined in terms of pH, dry matter, fat, protein, salt, aflatoxin M1, fatty acid profile, and the growth inhibition of *L. monocytogenes* during 60 days storage in the refrigerator. Statistical analysis of this design was performed in a completely randomized design. The results showed that the reduction of *L. monocytogenes* in the treatment of LCh containing nisin in comparison with the control group was 3.05 Log(CFU/g), which was significantly different from the control group. in other treatments containing probiotics and Plantarisin, the rate of reduction of this pathogen compared to the control treatment was 2.76 and 1.79 Log(CFU/g) respectively, but no significant difference was observed between the two samples. Also, the survival rate of probiotics at the end of storage was 10^7 CFU/ g in the refrigerator and only two Log(CFU/g) were reduced. The results showed that cheese containing probiotics had superior properties over other treatments. Therefore, environmental conditions such as pasteurization are not sufficient to completely eliminate *L. monocytogenes* in lactic cheese, and it is necessary to use natural additives to create favorable conditions in different stages of production and storage.

Key words: Lactic cheese, *Listeria monocytogenes*, Bacteriocine, *Lactobacillus plantarum*, natural preservative.

مقدمه

باکتریوسین‌ها، پپتیدهای ضدمیکروبی معمولاً با وزن مولکولی زیر ۱۰ کیلودالتون هستند که توسط ریبوزوم‌ها سنتز می‌شوند و فعالیت ضدمیکروبی خود را بر علیه سویه‌های نزدیک به مولد باکتریوسین و یا سویه‌های دورتر نشان می‌دهند (Mirzaei و همکاران، ۲۰۱۵). این مولکول‌های زیستی به عنوان مواد نگهدارنده زیستی بی خطر هستند زیرا توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک دستگاه گوارش پستانداران به راحتی تخریب می-شوند، در برابر پاتوژن های غذایی وفساد موثر بوده و در ماتریس مواد غذایی، دما، pH و آنزیم‌های مرتبط غذایی پایدار هستند (Mills و همکاران،۲۰۱۷). تاثیر پروبیوتیک‌ها و باکتریوسین آنها بر روی آفلاتوکسینها نیز مشاهده شده است.آفلاتوکسین‌ها به صورت حاد و مزمن برای انسان و حیوانات سمی بوده و می‌توانند بیماری‌های خطرناکی از قبیل بیماری حاد کبدی، سیروز کبدی و تومور تولید کنند(Simon و همکاران، ۱۹۹۸).باکتریوسین ها از سه طریق می توانند به غذاها اضافه شوند. ۱) به عنوان یک باکتریوسین خالص ۲) به صورت محیط تخمیری

حاوی باکتریوسین ۳) کشت های میکروبی تولیدکننده باکتریوسین (O'Connor و همکاران، ۲۰۲۰). یکی از دلایل مهم توجه به باکتریوسین‌ها به‌عنوان جانشین آنتی‌بیوتیک‌ها، نبود مقاومت باکتری‌ها به این پپتیدهای ضدمیکروبی باشد. با وجود حضور نسبتاً طولانی باکتریوسین‌ها هنوز مقاومت‌های باکتریوسینی به جز چند مورد گزارش نشده است. دلایل مختلفی برای این عدم مقاومت ذکر شده که از جمله مهمترین علل عدم ایجاد مقاومت‌های باکتریوسینی: مکانیسم سریع ضدمیکروبی با ایجاد منفذ در غشای سلول هدف و متلاشی شدن با آنزیم‌های پروتئازی است که منجر به حذف باکتریوسین‌ها از محیط و در نتیجه عدم امکان برهمکنش سویه‌ها با باکتریوسین برای مدت طولانی می‌شود(Allen و همکاران، ۲۰۱۴; Perez و همکاران، ۲۰۱۴).

لیستریا مونوسیتوژنز از عوامل بیماری‌زای مشترک بین انسان و حیوان با گستردگی جهانی می باشد. با مصرف غذاهای آلوده نظیر پنیر و سبزیجات وارد بدن می‌شود. علایم این بیماری در انسان بالغ شامل منگوانسفالیت، باکتریمی و به ندرت عفونت سایر اندام‌ها می باشد. لیستریوزیس در زنان باردار به سقط جنین و تولد نوزادانی با علایم عفونت خونی و یا منتژیت منتج می‌شود (Brooks و همکاران، ۲۰۱۳). پنیرهای سنتی در سراسر جهان به دلیل تولید و نگهداری آن‌ها در شرایط غیربهداشتی از منابع مهم انتقال عوامل بیماری زا با منشأ غذایی هستند. میزان شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در پنیرهای تولیدی از شیر خام در مقایسه با پنیرهای تولیدی از شیر پاستوریزه بالاتر می‌باشد(Loncarevic وهمکاران، ۱۹۹۵). همچنین میزان شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* در پنیرهای نرم و نیمه نرم به دلیل رطوبت بالای این نوع پنیرها، در مقایسه با پنیرهای سخت بالاتر می باشد. در ایران، کارگر و قاسمی در سال ۱۳۹۰ و نوروزی و همکاران در سال ۱۳۸۲ میزان شیوع *لیستریا مونوسیتوژنز* را در پنیرهای محلی تازه به ترتیب ۱۳/۰۸ و ۹ درصد اعلام نمودند. هدف از این تحقیق ارزیابی کاربرد باکتریوسین خالص شده پلانتارسین و استفاده از پروبیوتیک تولید کننده این باکتریوسین (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* TA:0013) در تولید پنیر لاکتیکی از شیر گاو از طریق بررسی خواص فیزیکوشیمیایی،حسی، میکروبی و شاهد رشد *لیستریا منوسایتوژنز* در طی دوره نگهداری ۶۰ روزه بوده است.

مواد و روش ها

آنالیز شیر خام

نمونه‌های شیر خام گاو از دامپروری شمه شیر واقع در استان البرز تهیه(جهت انتخاب نمونه شیر ملاک و معیار خاصی مد نظر نبوده است) و در ظرف‌های استریل و در دمای ۴ °C نگهداری و به آزمایشگاه انتقال یافتند. سپس آزمایش‌های مربوطه بر روی نمونه-ها انجام شد. در جدول ۱ نتایج آنالیزهای فیزیکوشیمیایی، شیمیایی و میکروبی شیر خام مورد استفاده آورده شده است.

میکروارگانیسم و روش کشت

باکتری پروبیوتیک مورد استفاده در این پژوهش *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* TA013 (کلکسیون میکروبی خانم دکتر مژگانی- موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی) تولید کننده باکتریوسین پلانتارسین بوده است. در ابتدا باکتری مورد نظر در محیط MRS Broth کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، محیط کشت باکتری با دور ۱۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵ °C سانتریفیوژ شد. رسوب حاصله با آب دی یونیزه دوبار سانتریفیوژ و بعنوان باکتری پروبیوتیک استفاده شد.

تهیه پنیرهای لاکتیکی

در این پژوهش پنیرهای لاکتیکی ساده بعنوان شاهد، لاکتیکی پروبیوتیکی، لاکتیکی حاوی باکتریوسین پلانتارسین و نایسین (باکتریوسین تجاری) تهیه و بررسی شدند. برای تهیه پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی، از رسوب حاصل از محیط کشت رشد باکتری پروبیوتیک با غلظت 10^9 CFU/g به شیر تلقیح شد. جهت تولید پنیر لاکتیکی حاوی باکتریوسین پلانتاریسین، نمونه تخلیص شده باکتریوسین با غلظت ۱۶ U/ml رقیق شده و به شیر اضافه شد . همچنین از محلول رقیق شده نایسین در اسیدکلریدریک ۰/۰۲ نرمال (pH ۱/۶) استفاده شد. بعد از سرد شدن شیر تا دمای ۴۰ °C و ایجاد لخته، پروبیوتیک و

باکتریوسین‌ها به لخته اضافه شدند. تمام نمونه‌های پنیر در کیسه-های وکیوم بسته بندی و در انکوباتور یخچال‌دار به مدت ۶۰ روز نگهداری و آزمون‌های مورد نظر در زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز انجام شدند.

آزمون‌های پنیرهای لاکتیکی

نمونه‌های پنیر تولید شده شامل پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی، پنیر لاکتیکی حامل پلانتاریسین و نایسین و پنیر لاکتیکی ساده (شاهد) در بازه زمانی ۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز از نظر pH، درصد ماده خشک (رطوبت)، چربی، پروتئین، نمک بر اساس روش‌های استاندارد AOAC(2005) بررسی شدند. همچنین پروفایل اسیدهای چرب پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی تعیین شد. صفات کیفی محصول تولیدی توسط پانلیست ها از نظر رنگ، طعم، بو، بافت و ویژگی ظاهری ارزیابی شدند سنجش آفلاتوکسین M1 نیز با استفاده از HPLC (ساخت شرکت Agilent آمریکا سری ۱۲۰۰ با دتکتور فلورسانس) انجام شد.

آلوده کردن نمونه‌های پنیر به *لیستریا مونوسیتوژنز*

برای آماده سازی پاتوژن (*لیستریا مونوسیتوژنز*)، از محیط کشت BHI broth (مرک-آلمان) استفاده شد. پاتوژن مورد نظر درون محیط فوق کشت داده و۲۴-۱۸ ساعت در ۳۷ °C گرمخانه گذاری گردید و به میزان 10^4 CFU/g به تیمارهای پنیر مورد نظر (شاهد، پروبیوتیکی، دارای پلانتاریسین، دارای نایسین) باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* (از کلکسیون موسسه رازی) به میزان 10^4CFU/g تلقیح (Jones و همکاران، ۲۰۱۴) و به مدت ۱۰ دقیقه نمونه ها به طور کامل همگن شدند.

ارزیابی رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه‌های پنیر

بررسی زنده مانی لیستریا در تیمارهای مختلف پنیر لاکتیکی آلوده شده با پاتوژن در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ طبق روش استاندارد انجام شد. برای شمارش *لیستریا منوسیتوژنز* در تیمارهای ذکر شده، ۱۰ گرم از نمونه پنیر به ۹۰ میلی لیتر محیط کشت مایع TSYE[1] با دمای ۳۷ °C منتقل و به منظور پراکندگی پنیر در محیط کشت همزده شد. پس از تهیه رقت ۱/۱۰ با استفاده از محلول ۰/۵ درصد هیدروکسید پتاسیم، روی محیط آگار انتخابی *لیستریا پالکام*[2] (مرک-آلمان) به روش کشت سطحی و به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ °C، گرمخانه‌گذاری شد.

بررسی زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی

بررسی زنده مانی، بر روی تیمارهای مختلف پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ انجام شد. برای این منظور ۱۰ گرم از نمونه پنیر برداشته شد و در ۹۰ میلی لیتر رقیق کننده (تری سیترات سدیم) مخلوط و همگن و رقت‌های سریالی از آن تهیه گردید.

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه پنیر طی مدت رسیدن در فاصله‌های زمانی ۰، ۱۵، ۳۰، ۶۰ روز توسط ۳۰ نفر آموزش دیده (۱۵ مرد و ۱۵ زن) صورت گرفت. نمونه‌ها با تعداد تصادفی کد گذاری شدند و در دمای اتاق تست انجام شدند. امتیازهای ۱تا ۵ به ترتیب غیر قابل مصرف(کاملا مردود از نظر پانلیست‌ها)، غیر قابل قبول، قابل قبول، خوب و بسیار خوب بودند. شاخص‌های ارزیابی حسی نیز شامل عطر و طعم، رنگ، بو، بافت و قوام و پذیرش کلی بودند.

روش آنالیز آماری

تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد. سطح معنی‌داری در سطح احتمال کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل این پژوهش، در مورد داده‌های کمی از تجزیه واریانس یک متغیره (ANOVA) آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) و برای مقایسه بین میانگین‌ها، از روش دانکن استفاده شد. از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 برای سازمان دهی داده‌ها و رسم نمودارها استفاده گردید.

[1] Trypton Soya Yeast Extract

[2] PALCAM, Listeria Selective Agar

جدول ۱- آنالیز فیزیکوشیمیایی، شیمیایی و میکروبی شیر خام گاو

آنالیز	پارامتر	روش، دستگاه و یا استاندارد		مقدار
فیزیکو شیمیایی	دانسیته	لاکتودانستیمتر		۱/۰۳
	اسیدیته	استاندارد ملی شماره ۲۸۵۲		۱۵
	pH	استاندارد ملی شماره ۲۸۵۲		۵/۶۸
	پروتئین	روش ماکروکلدال و استاندارد ملی شماره ۶۳۹	٪	۳/۸
	چربی	روش ژربر و استاندارد ملی شماره ۳۶۶	٪	۴/۱۰
	ماده خشک	دستگاه MilcoScan مدل 134A/B	٪	۱۲/۲۴
	ماده خشک بدون چربی	دستگاه MilcoScan مدل 134A/B	٪	۱۸/۹۴
	نمک	AOAC(2005)	٪	۰/۶
	خاکستر	(چربی+ پروتئین+ لاکتوز) - ماده خشک	٪	۰/۶
	کروم	جذب اتمی	(ng/g)	۴/۳≥
	کادمیم	جذب اتمی	(ng/g)	۲/۱/≥
	آرسنیک	جذب اتمی	(ng/g)	۱۳۲/۵
	جیوه	جذب اتمی	(ng/g)	۱۲/۸
	سرب	جذب اتمی	µg/g	۸۰/۰۴۲
	آفلاتوکسین M1	استاندارد ملی شماره ۱۸۵۴۵	ng/kg	۵۹.۸
میکروبی	توتال کانت	استاندارد ملی شماره۲۴۰۶		$۳/۱\times ۱۰^{۴}$
	کلی فرم	استاندارد ملی شماره ۵۲۷۲ و ۲۴۰۶	cfu/g	۱۰
	کپک و مخمر	استاندارد ملی شماره ۱۰۱۵۴		منفی

نتایج

نتایج آزمون های فیزیکوشیمیایی تیمارهای پنیر لاکتیکی تولید شده

در جدول ۲ نتایج آزمون های فیزیکوشیمیایی چهار نمونه پنیر لاکتیکی تولید شده آورده شده است. میزان ماده خشک در تمام مدت نگهداری در نمونه های حاوی پلانتارسین به طور معنی داری نسبت به سایر نمونه بیشتر بود ($P<0.05$).از طرفی میزان چربی در نمونه های حاوی پروبیوتیک و باکتریوسین در حین نگهداری به طور معنی دار بالاتر بود و البته این میزان در روز ۳۰ نگهداری به حداکثر میزان خود رسید. میزان نمک و خاکستر نیز در نمونه حاوی پلانتارسین در طول نگهداری ۱۵ و ۳۰ روز به طور قابل توجهی بیشتر بود. در مقابل میزان پروتئین در نمونه حاوی پروبیوتیک در حین نگهداری افزایش یافت.

جدول۲- آزمون های فیزیکو شیمیایی پنیرهای لاکتیکی تولید شده

آزمون	نمونه‌ها	زمان(روز) ۰	۱۵	۳۰	۶۰
pH	پنیر لاکتیکی شاهد	۶/۲۸±۰/۱۲a	۶/۳۸±۰/۲۱c	۶/۴۱±۰/۱۵b	۶/۲۸±۰/۰۹b
	پنیر لاکتیکی پروبیوتیک	۶/۲۰±۰/۲۵a	۴/۶۷±۰/۱۴a	۶/۶۷±۰/۱۰b	۴/۹۸±۰/۰۵a
	پنیر لاکتیکی حاوی پلانتارسین	۶/۶۷±۰/۱۶a	۵/۱۷±۰/۱۱b	۴/۸۹±۰/۱۵a	۴/۶۷±۰/۱۳a
	پنیر لاکتیکی حاوی نایسین	۶/۴۳±۰/۱۵a	۵/۱۷±۰/۱۴b	۵/۰۲±۰/۱۳a	۴/۸۹±۰/۲۰a
ماده خشک	شاهد	۴۶/۹±۸/۵۱a	۴۷/۶۸±۴/۶۱a	۵۳/۲±۹/۵۶a	۵۴/۸۶±۸/۲۱bc
	پنیر پروبیوتیک	۴۷/۲۶±۱۱/۲۱a	۵۱/۵±۱۵/۹۵c	۵۴/۵۹±۱۹/۲۱b	۵۴/۴۹±۱۸/۳۰b
	پنیر لاکتیکی حاوی پلانتارسین	۴۸/۷۸±۲۲/۲۶b	۵۲/۱۱±۱۵/۱۸d	۵۵/۴۹±۱۲/۲۴c	۵۵/۲۳±۱۴/۱۹c
	پنیر لاکتیکی حاوی نایسین	۴۶/۸۹±۲۰/۲۸a	۵۰/۵۶±۱۸/۴۸b	۵۳/۵۹±۱۶/۲۹a	۵۲/۸۸±۲۳/۵۶a
چربی	شاهد	۲۰±۱۵/۵۵a	۲۳/۱۸±۸/۱۰a	۲۱/۲±۵/۸۹a	۲۳/۵±۶/۷۸a
	پنیر پروبیوتیک	۲۰/۸۳±۹/۲۱a	۲۸/۱۶±۱۰/۱۹b	۸۳/۲۵±۱۵/۲۱b	۲۶/۳۳±۱۵/۴۵b
	پنیر لاکتیکی حاوی پلانتارسین	۲۰/۸۳±۱۲/۱۷a	۲۸/۱۶±۹/۱۱b	۸۳/۲۵±۱۹/۵۶b	۲۶/۳۳±۱۵/۱۶b
	پنیر لاکتیکی حاوی نایسین	۲۰/۸۳±۱۰/۲۱a	۲۸/۱۶±۱۲/۱۸b	۸۳/۲۵±۲۰/۱۹b	۲۶/۳۳±۸/۲۱b
نمک	شاهد	۲/۴±۸۹a/a	۳/۳±۰/۱۵a	۳±۱/۱۰a	۳/۱±۰/۹۸a
	پنیر پروبیوتیک	۲/۷±۰/۱۵a	۳/۹±۰/۴۵b	۳/۴±۰/۷۸a	۲/۹±۰/۸۱a
	پنیر لاکتیکی حاوی پلانتارسین	۲/۷±۰/۱۸a	۳/۹±۰/۷۹b	۳/۴±۰/۹۸a	۲/۸±۰/۳۵a
	پنیر لاکتیکی حاوی نایسین	۲/۸±۰/۶۸a	۳/۱±۱/۰۵a	۳/۴±۰/۷۴a	۳/۰±۰/۹۲a
خاکستر	شاهد	۴/۳±۰/۲۱a	۳/۷۵±۰/۱۹a	۳/۹±۰/۲۱ab	۴±۰/۷۴ab
	پنیر پروبیوتیک	۴/۱±۰/۲۵a	۴/۳±۰/۴۰b	۴/۱±۰/۴۵ab	۳/۸±۰/۳۱a
	پنیر لاکتیکی حاوی پلانتارسین	۴/۱±۰/۵۶a	۴/۸±۰/۶۹c	۴/۴±۰/۶۱b	۴/۱±۰/۴۵ab
	پنیر لاکتیکی حاوی نایسین	۴/۴±۰/۲۱a	۳/۵±۰/۳۵a	۳/۶±۰/۴۱a	۴/۳±۰/۳۳b
پروتئین	شاهد	۲۰/۸۸±۲/۲۱a	۲۱/۴۰±۸/۱۵b	۲۲/۸۶±۱۰/۱۸c	۲۲/۲۳±۷/۱۶a
	پنیر پروبیوتیک	۲۱/۲۴±۵/۱۴a	۲۲/۰۷±۸/۲۴c	۲۳/۲۸±۶/۳۴c	۲۳/۴۷±۶/۴۵b
	پنیر لاکتیکی حاوی پلانتارسین	۱۹/۷۹±۳/۸۷a	۲۰/۸۲±۶/۲۴a	۲۱/۴۴±۴/۳۲a	۲۲/۱۳±۷/۴۵a
	پنیر لاکتیکی حاوی نایسین	۲۰/۴۴±۱۲/۳۵a	۲۱/۲۲±۷/۱۸ab	۲۲/۳۲±۶/۲۴b	۲۳/۰۳±۴/۶۸b

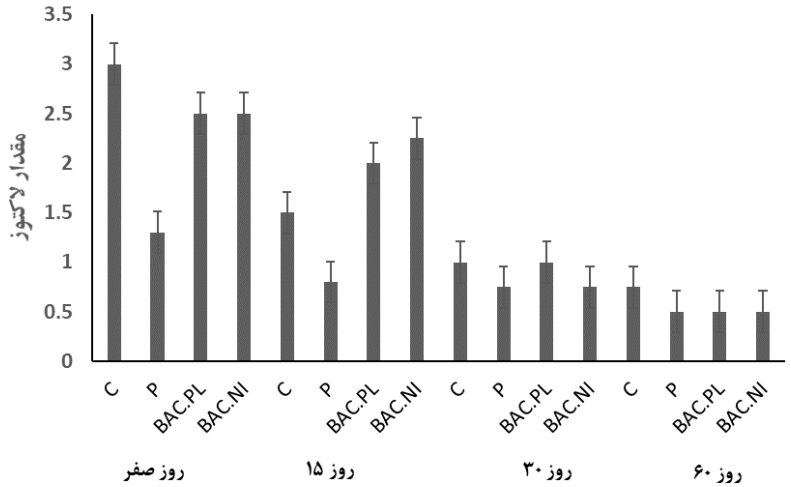
حروف کوچک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<0.05)

تغییرات pH در طول دوره نگهداری

تغییرات pH پنیر لاکتیکی شاهد در بازه زمانی ۶۰ روزه به طور معنی داری از سایر نمونه ها بالاتر بود. کاهش شدید pH طی ۱۵ روز اول رسیدن پنیر به مصرف شدید لاکتوز و تولید مقدار بالایی از اسید لاکتیک توسط باکتری‌های لاکتیکی نسبت داده شده است. کاهش سریعpH ، طی مراحل اولیه تولید پنیر به دلیل ممانعت از رشد باکتری‌های نامطلوب حائز اهمیت است ($p<0.01$) در روز ۱۵ نگهداری ، pH پنیر حاوی باکتری زنده کمترین میزان را نشان داد که این امر مرتبط با فعالیت باکتری زنده است. در پنیرهای حاوی باکتریوسین از روز ۳۰ نگهداری تغییرات pH به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$). در حین نگهداری در روز ۳۰ و ۶۰ نمونه های حاوی باکتریوسین (پلانتارسین و نایسین) کمترین میزان pH را به طور معناداری نشان دادند ($P<0.05$). میزان pH در تمامی نمونه ها به جز نمونه شاهد در روز ۶۰ نگهداری کمترین میزان را داشت. این تغییرات به این دلیل است که مقدار لاکتوز باقی‌مانده در لخته پنیر لاکتیکی حامل باکتریوسین و یا باکتری زنده مصرف شده ، بنابراین تولید اسید لاکتیک بیشتر و در مقدار pH، کاهش دیده شد.

تغییرات لاکتوز در طول دوره نگهداری

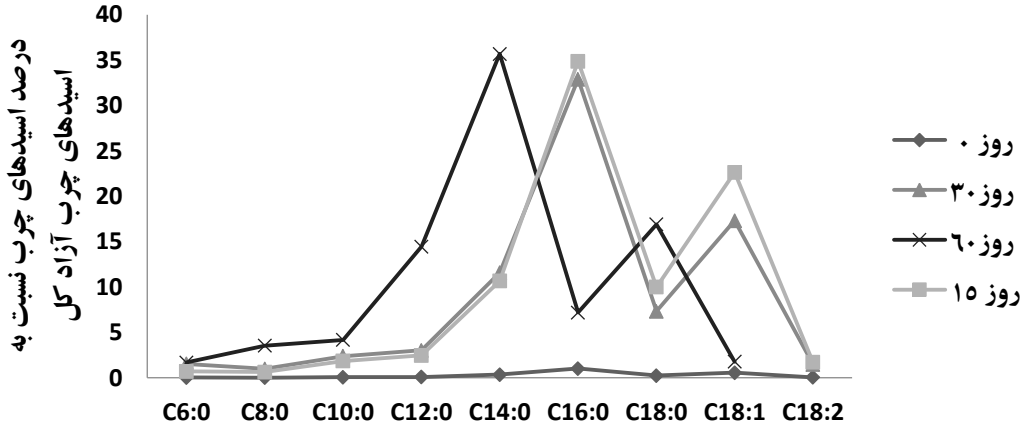
لاکتوز به عنوان منبع مهم کربوهیدرات مورد مصرف باکتری‌های لاکتیکی نیز طی دوره رسیدن دستخوش تغییراتی شده است. نمودار ۱، تغییرات لاکتوز را طی دوره رسیدن انواع پنیرهای مورد بررسی نشان می‌دهد. به دلیل مصرف لاکتوز به عنوان اصلی‌ترین منبع کربن مورد استفاده باکتری‌ها، با گذشت زمان مقدار لاکتوز رو به کاهش گذاشته است. میزان کاهش لاکتوز نتایج حاصل با تحقیقات Cichoscki و همکاران (۲۰۰۲)، مطابقت داشت. این محققین سرعت پایین کاهش لاکتوز در حین نگهداری و بدون تغییرات pH را مشاهده کردند که دلیل آن، عدم استفاده از استارتر در پنیر بود. در تیمارهای پنیر حاوی باکتریوسین‌ها (پلانتاریسین و نایسین) در هر مقطع زمانی به طور جداگانه، تفاوت معنی‌داری با پنیر لاکتیکی ساده (کنترل) در مصرف لاکتوز دیده نشد ($p>0.05$)، ولی در کل در طی دوره رسیدن دستخوش تغییراتی شد، به طوریکه این تغییرات در طول ۶۰ روز دوره رسیدن روند کاهشی معنی‌داری ($p<0.01$) داشتند.



نمودار ۱- تغییرات لاکتوز طی دوره رسیدن پنیر (گرم/ ۱۰۰گرم)
C: کنترل، P : پروبیوتیک، BAC.PL: باکتریوسین پلانتاریسین، BAC.NI: باکتریوسین نایسین

پروفایل اسیدهای چرب آزاد در طول دوره نگهداری

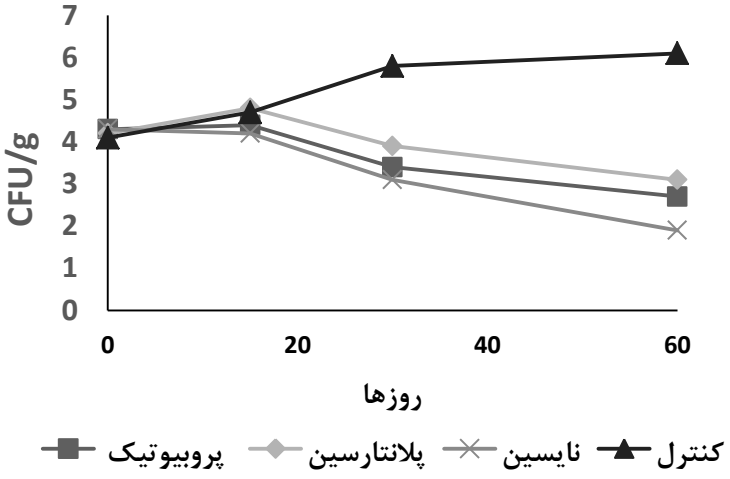
با توجه به اینکه در اکثر ویژگی‌ها، پنیر حاوی باکتری پروبیوتیک برتری داشت، لذا در این پژوهش، پروفایل اسید چرب پنیر حاوی باکتری زنده مورد بررسی قرار گرفت. نمودار۲، تغییرات اسیدهای چرب آزاد طی دوره رسیدن پنیر حاوی پروبیوتیک را نشان می‌دهد. غلظت اسیدهای چرب آزاد طی دوره رسیدن به طور کلی افزایش معنی‌داری نشان دادند. طی دو هفته اول، اسیدهای چرب طویل زنجیر بیشتری تولید شده است و میزان اسیدهای چرب متوسط و طویل زنجیر در مراحل پایانی اندکی کاهش نشان داده است اما در مورد اسیدهای چرب کوتاه زنجیر غلظت، مدام افزایشی بوده است.



نمودار ۲ – تغییرات درصد اسیدهای چرب آزاد نسبت به اسیدهای چرب آزاد کل پنیر پروبیوتیکی

بررسی زنده مانی لیستریا در تیمارهای مختلف در طول دوره نگهداری

شمار *لیستریا منوسیتوژنز* در کلیه تیمارها طی دوره رسیدن پنیر لاکتیکی در نمودار ۳ نشان داده شده است. براساس نتایج این مطالعه، باکتریوسین نایسین و پلانتارسین هر دو از خاصیت ضد لیستریایی برخوردار بودند اما نایسین سبب بیشترین کاهش لگاریتم باکتری لیستریا در مقایسه با پروبیوتیک و پلانتارسین بوده است. در مطالعه حاضر، در ۱۵ روز اول در تمام تیمارهای پنیر افزایش چشمگیر رشد لیستریا مشاهده شد که در تیمار کنترل (پنیر لاکتیکی ساده (فاقد پروبیوتیک و باکتریوسین) آلوده به *لیستریا*، این روند ادامه پیدا کرده و طی ۶۰ روز، ۲ لوگ افزایش در رشد این باکتری مشاهده شد. در تمام تیمارهای دیگر، کاهش *لیستریا* پس از ۱۵ روز چشمگیر بود به طوری که کاهش ۱ تا ۲ لوگ در تیمارهای مختلف ثبت گردید.



نمودار۳- لگاریتم جمعیت *لیستریا منوسیتوژنز* طی دوره رسیدن پنیر لاکتیکی در تیمارهای مختلف

همانطور که در نمودار ۳ مشاهده می‌شود، بیشترین کاهش *لیستریا* به ترتیب در پنیر لاکتیکی حامل نایسین سپس در تیمار حامل پروبیوتیک دیده شد. میزان کاهش طی دوره رسیدن در تیمارهای پروبیوتیکی می‌تواند در نتیجه اثر ترکیبی کاهش pH و فعالیت ضدمیکروبی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* مورد استفاده در این مطالعه باشد. درکل، پنیر لاکتیکی حاوی نایسین بیشترین تاثیر کاهشی بر روی لیستریا را داشت. پس از آن به ترتیب تیمار حاوی پروبیوتیک وبه میزان کمتر از دو تیمار دیگر، تیمار حاوی پلانتاریسین در کاهش لیستریا موثر بودند.

بررسی زنده مانی پروبیوتیک طی دوره رسیدن پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی

این فاکتور تنها مرتبط با پنیر پروبیوتیکی است، چراکه در پنیرهای دیگر از باکتری زنده استفاده نشد. مهمترین فاکتور در استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک در پنیر، زنده مانی آن‌ها طی فرآوری و تا زمان مصرف بدون تاثیر نامطلوب بر خواص حسی محصول می‌باشد. در جدول۳، میزان زنده مانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* طی ۶۰ روز نگهداری در پنیر لاکتیکی نشان داده شده است. طبق نتایج بدست آمده طی روزهای مورد بررسی، روز اول تنها یک لوگ کاهش در زنده مانی باکتری مذکور دیده شد که پس از ۶۰ روز این کاهش بیشتر و به ۳ لوگ رسید. این امر می‌تواند به دلیل کاهش توانایی رشد و تکثیر باکتری پروبیوتیک طی زمان نگهداری باشد.

جدول ۳- نتایج زنده مانی پروبیوتیک ها در پنیر (log CFU/g) در طول دوران رسیدن پنیر پروبیوتیکی لاکتیکی

نمونه	۰	۱۵	۳۰	۶۰
پنیر حاوی پروبیوتیک	$۲/۳\times ۱۰^{۹}$	۷×۱۰^{۸}	۶×۱۰^{۸}	۲×۱۰^{۷}

بررسی آفلاتوکسین M1 درپنیرهای لاکتیکی تولید شده

مقادیر آفلاتوکسین بدست آمده درمحدوده مجاز مطابق استاندارد کمیته اروپایی و غذایی کدکس بود(جدول۴)

میزان آفلاتوکسین در تمامی نمونه ها از حد مجاز کمتر بود و با توجه به نتایج بدست آمده میزان آفلاتوکسین M1 در پنیر پروبیوتیکی به طور قابل توجهی کمتر بود ($P<0.05$) و در سایر نمونه ها تفاوت معنی دار مشاهده نشد. هر چند میزان آفلاتوکسین در پنیر حاوی پلانتارسین در مقایسه با نایسین کمتر بود.

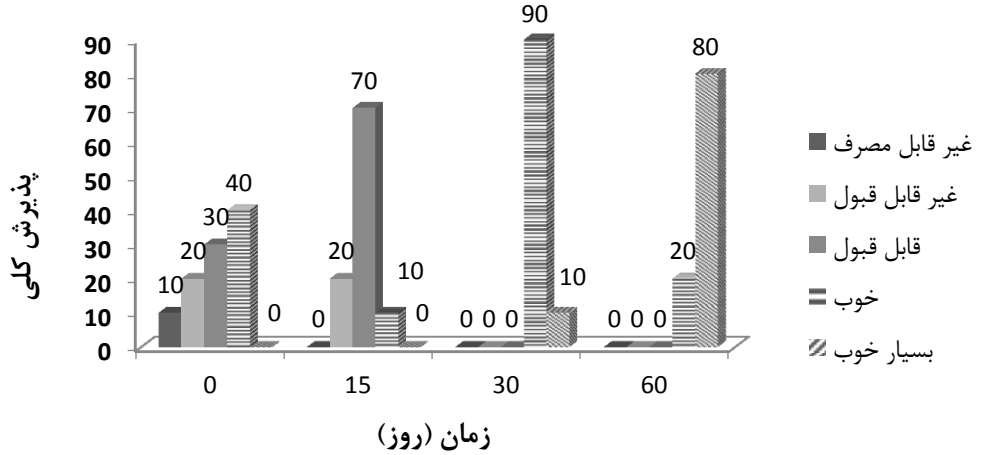
جدول ٤ - مقایسه بین غلظت آفلاتوکسین M1 در پنیر لاکتیکی و پنیر پروبیوتیک

نمونه	عنوان آزمایش	روش آزمون	نتیجه: ng/kg	حد مجاز: ng/kg	مطابقت
پنیر لاکتیکی	آفلاتوکسین M1	HPLC	۱۷۷/۶۵±۴۳/۵۲^{b}	۲۵۰	دارد
پنیر پروبیوتیک	آفلاتوکسین M1	HPLC	۱۳۱/۵۱±۴۳/۸۵^{a}	۲۵۰	دارد
پنیر حاوی پلانتارسین	آفلاتوکسین M1	HPLC	۱۶۶/۲۵±۵۰/۲۱^{b}	۲۵۰	دارد
پنیر حاوی نایسین	آفلاتوکسین M1	HPLC	۱۸۰/۸۷±۴۸/۸۷^{b}	۲۵۰	دارد

حروف کوچک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی داری است ($P<0.05$)

نتایج ارزیابی حسی نمونه های پنیر لاکتیکی

با توجه به بالاتر بودن خواص پنیر حاوی پروبیوتیک و انتخاب این پنیر بعنوان تیمار بهینه در مقایسه با سایر پنیرها، تنها ارزیابی حسی این پنیر انجام شد. همان طور که نمودار ۵ نشان می‌دهد، بین پنیر روزهای مختلف از لحاظ پذیرش کلی تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود و به طور کلی با افزایش مدت زمان از دید مصرف‌کننده بر کیفیت پنیر افزوده شده است.



نمودار ۵- نتایج پذیرش کلی پنیر حاوی پروبیوتیک در زمان‌های مختلف
(غیر قابل مصرف: کاملا مردود از نظر پانلیست‌ها، غیر قابل قبول: طعم نامطلوب)

بر اساس ارزیابی گروه ارزیابان حسی امتیاز بافت، طعم و پذیرش کلی تمامی نمونه‌های پنیر حاوی کشت پروبیوتیک، بلافاصله بعد از تولید و پس از طی ۶۰ روز رسیدن به شکل معنی‌داری بالاتر از نمونه شاهد بودند که این می‌تواند به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بیشتر پنیر حاوی میکروارگانیسم پروبیوتیک باشد که می‌توانند اثر معنی‌داری بر توسعه آرومای بهتر و ایجاد بافت نرم‌تر داشته باشند.

بحث

طبق جدول ۲، در مراحل پایانی رسیدن پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی، افزایش مقدارpH در روز ۳۰ مشاهده شدکه این افزایش pH به دلایل متعددی از جمله مصرف اسید لاکتیک، تولید ترکیبات غیراسیدی و تا حدی اسیدهای‌آمینه آزاد و آزاد شدن ترکیبات قلیایی از تجزیه پروتئین‌ها نسبت داده شده است (Messens و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج حاصل با نتایج تحقیقات Kanawjia و همکاران (۱۹۹۵)، Seifu و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان دادند که pH پنیر حاوی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* در حین نگهداری افزایش یافت.

به طور کلی افزایش اسیدهای چرب طویل زنجیر در طی دو هفته اول می‌تواند به حضور لیپاز شیر و یا لیپاز باکتری‌های سایکروتروف و یا مایه پنیر نسبت داده شود (Cavicchioli و همکاران، ۲۰۱۱) و کاهش اسیدهای چرب متوسط و طویل زنجیر در مراحل پایانی می‌تواند به دلیل فعالیت استرازهای حاصل از باکتری‌ها اسید لاکتیک باشد که بعد از اتولیز از سلول خارج می‌شوند (Shakeel-Ur-Rehman و همکاران، ۲۰۰۸). برخی از اسیدهای چرب که طی هفته دوم و سوم تولید شده‌اند در مراحل پایانی وجود نداشتند. مصرف این اسیدهای چرب آزاد توسط باکتری‌های موجود در پنیر و یا استریفیه شدن مجدد آن‌ها می‌تواند دلیل این امر باشد (Zhang و همکاران،۲۰۲۰). به طور کلی، مقدار هریک از اسیدهای چرب آزاد طی مدت رسیدن، افزایش نشان دادند افزایش اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و متوسط زنجیر به فعالیت آنزیم لیپاز بستگی دارد. این آنزیم تمایل بیشتری نسبت به هیدرولیز اسیدهای چرب کوتاه زنجیر که بیشتر در موقعیت Sn-1 و Sn-3 قرار دارند نشان می‌دهد. در تحقیقات Alewijn و همکاران(۲۰۰۵)، Malcata and Macedo (۱۹۹۶)، Buffa و همکاران (۲۰۰۱) نیز مقدار لیپولیز طی دوهفته اول بیشتر بوده و با تحقیقات اخیر هم‌خوانی داشتند.

حضور *لیستریا منوسیتوژنز* در طی مراحل مختلف تولید و نگهداری محصولات لبنی از قبیل ماست و پنیر مشاهده شده است. ۱۰ مورد از ۶۴ مورد شیوع بیماری ناشی از مصرف فرآورده‌های لبنی در اثر لیستریوز بود، که ۳۵/۸ درصد این محصولات از شیر پاستوریزه تهیه شده بودند(De Buyser et al., 2001) . مطالعات انجام شده بر روی پنیرهای تولید شده از شیر آلوده به *لیستریا منوسیتوژنز* نشان داد که رفتار این باکتری (رشد، بقا و مهار) در پنیر اساسا به عواملی همچون طبیعت و فعالیت آغازگر، میزان کاهش pH ،شرایط دما و رطوبت در طی مراحل مختلف تولید، نگهداری و رسیدن وابسته می‌باشد (Maisnier-Patin و همکاران، ۱۹۹۲).

بررسی آفلاتوکسین M1 در پنیر لاکتیکی و پروبیوتیک در این پژوهش با نتایج نوروز بابائی و همکاران(۱۳۹۴) همخوانی دارد. نتایج تحقیق این محققین نشان داد که بین پنیرهای سفید و پروبیوتیک هر کارخانه از نظر میزان آفلاتوکسین M1 اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در تحقیق خوری و همکاران(۱۳۹۷)، در ۳۳/۵۶ درصد نمونه‌ها آلودگی به آفلاتوکسین کمتر از حد مجاز و ۳۱/۱۷ درصد نمونه‌ها آلودگی به آفلاتوکسین M1 بیش از حد مجاز مطابق استاندارد کمیته اروپایی و غذایی کدکس بود. باکتریوسین ها علاوه بر خاصیت ضدمیکروبی، قابلیت توانایی متصل شدن به آفلاتوکسین را نیز دارا می باشند(Sezer و همکاران، ۲۰۱۳ و Nassar و همکاران، ۲۰۱۸). بنابراین مناسب است که صنایع لبنی برای تولید محصولات حاوی پروبیوتیک های تولید کننده باکتریوسین تشویق گردند و آگاهی عمومی مصرف کنندگان در زمینه مصرف این محصولات افزایش یابد.

با توجه به نتایج آزمون زنده مانی طی دوره رسیدن، مشاهده می‌گردد که در روز ۶۰ حداقل 10^7 CFU/g باکتری پروبیوتیک در نمونه‌های پنیر لاکتیکی مورد آزمون وجود داشت که این

میزان برای بروز اثرات سلامت بخشی ناشی از مصرف محصولات پروبیوتیکی کافی است. به نظر می‌رسد شبکه جامد موجود در پنیر می‌تواند حفظ باکتری‌های پروبیوتیک طی دوره رسیدن موثر باشد(Shah, 2000). مطالعاتی در رابطه با زنده-مانی باکتری‌های پروبیوتیک پنیر در شرایط دستگاه گوارش انجام شده که حمایت نسبتا خوب ماتریکس پنیر را روی پروبیوتیک در مقابل شرایط مشابه دستگاه گوارش با کاهش بقای حدود ۲-۳ لوگ بیان می‌نماید .(Gebra و همکاران، ۲۰۱۵; Yilmaztekin و همکاران، ۲۰۰۴). مطالعات متعددی نشان داده است که کشتهای پروبیوتیک و متابولیتهای آنها تاثیر معنی دار نامطلوبی روی ویژگیهای حسی پنیر ندارد (Gebra و همکاران، ۲۰۱۵; Yilmaztekin و همکاران، ۲۰۰۴). نتایج حاصل از این تحقیق با مطالعات هاشمی و همکاران (۲۰۰۹)، برای پنیر سفید آب نمکی پروبیوتیک (حاوی *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس*) منطبق بود. همچنین، Basyigit و همکاران (۲۰۰۹)، پنیر سفید بیاز ترکیه‌ای حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* را تولید نمودند و گزارش کردند، استفاده از میکروارگانیسم های مذکور در کنار کشت‌های آغازگر معمول در پنیر باعث بهبود خواص حسی آن گردیده است.

نتیجه‌گیری

کاهش تعداد باکتری *لیستریا منوسیتوژنز* طی دوره رسیدن و نگهداری پنیر لاکتیکی پروبیوتیکی، حاصل اثر ترکیبی کاهش pHو فعالیت ضد میکروبی یاکتری اسید لاکتیک و باکتریوسین-های مورد استفاده در این مطالعه می‌باشد. از طرفی نتایج نشان دادندکه پنیر حاوی پلانتارسین دارای ویژگی های مفید بیشتری در مقایسه با پنیر حاوی نایسین است و در برخی موارد پنیر حاوی پروبیوتیک تولید کننده پلانتارسین دارای ویژگی های برتری بود. با این وجود، شرایط محیطی ایجاد شده جهت حذف کامل لیستریا در پنیر لاکتیکی، کافی نیست. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد میزان آفلاتوکسین M1 در پنیر لاکتیکی حاوی پروبیوتیک تولید کننده پلانتارسین به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود. بنابراین، دست اندرکاران صنعت مواد غذایی جهت اطمینان از سلامتی و پایداری میکروبی محصولات لبنی، به ویژه پنیر لاکتیکی، نباید تنها به پاستوریزاسیون و تخمیر اکتفا کنند، بلکه لازم است جهت ایجاد شرایط مطلوب در مراحل مختلف تولید و ذخیره سازی، از افزودنی‌های مجاز طبیعی نیز استفاده نمایند.

منابع

خوری ع. محمدی ثانی ع و خوری م. (۱۳۹۷). بررسی آلودگی به آفلاتوکسینM1 در پنیر سفید ایرانی به روش الایزا و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا. مجله علوم و صنایع غذائی. شماره ۸۱، ص‌ص ۲۳۶-۲۲۹.

استاندارد ملی ایران شماره ۳۶۶ : سال (۱۳۷۱) " اندازه گیری میزان چربی شیر به روش ژربر.

استاندارد ملی ایران ۲۴۰۶ : سال (۱۳۸۰) میکروبیولوژی شیر و فرآورده های آن-ویژگی ها و روش های آزمون.

سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۵). شیر و فرآورده‌های آن – تعیین اسیدیته و pH روش آزمون. استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲.

سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۴۴). استاندارد ملی ایران شماره ۶۳۹.

سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۹۳). میکروبیولوژی زنجیره غذایی-روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم ها-قسمت ۱- شمارش کلنی در ۳۰درجه سانتی گراد با استفاده از روش کشت آمیخته. استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۲.

سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۶). شیر و فراورده های آن-شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و یا مخمر- شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد. استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۱۵۴.

کارگر م و قاسمی ع. (۱۳۹۰) . بررسی میزان شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی لیستریا مونوسیتوژنز در پنیرهای محلی شهرستان مرودشت در سال ۱۳۸۶ .مجله علوم غذایی و تغذیه، سال هشتم، شماره ۳ ،ص‌ص: ۷۷ -۷۲.

نوروز بابائی ح. محمدی ثانی ع. رضائی س و حاجی محمودی م. (۱۳۹۴). بررسی و مقایسه میزان آفلاتوکسین M1 در پنیرهای سفید و پروبیوتیک. نشریه ی نوآوری در علوم و فنّاوری غذایی. سال هفتم. شماره ی دوم. ص‌ص ۶۶-۵۹.

نوروزی ج. ندیوسفی ج. کارگر موخر ر و احمدی جبلی م. (۱۳۸۲). جداسازی *لیستریا مونوسیتوژنز* از پنیر با استفاده از روش غنی سازی در سرما و مشاهده باکتری در کشت سلولی هلا . مجله علوم پزشکی دانشگاه رفسنجان، جلد دوم ، شماره ۲، ص‌ص ۸۷-۸۲.

Alewijn M, Sliwinski E and Wouters J.T.M. (2005). Production of fat-derived (flavour) compounds during ripening of Gouda cheese. *International Dairy Journal*.15(6):733-740.

Allen H. K, Trachsel J, Looft T and Casey T. (2014). Finding alternatives to antibiotics. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1323(1): 91-100

AOAC.(2005). Official Method of Analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC international, Gaithersburg, USA.

Basyigit Kılıç G, Kuleashan H, Eralp I and Karahan A. (2009). Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. LWT - Food Science and Technology. 42(5): 1003-1008.

Brooks G.F, Carroll K.C, Butel J.C, Morse S.A and Mietzaner T.A. (2013). Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbilogy. 25th Edition McGraw-Hill Companiesm. pp. 187–195.

Buffa M.N, Trujillo A.J and Guamis B.(2001). Changes in textural, microstructural and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. 11(11):927-934

Cavicchioli R, Charlton T, Ertan H, Mohd Omar S, Siddiqui K.S and Williams T.J. (2011). Biotechnological uses of enzymes from psychrophiles. *Micribial Biotechnology*. 4(4):449-460.

Célia C, Silva G and Ribeiro C. (2018). Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation. *Frontiers in Microbiology*. 9: 594-611.

Cichoski A.J,Valduga E, Teresa V and Tomadijo M. (2002). Characterization of Prato cheese, a Brazilian semi-hard cow variety: Evolution of physico-chemical parameters and mineral composition during ripening. *Food Control* .13(4): 329-336.

De Buyser M.L, Dufour B, Maire M and Lafarge V. (2001). Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. *International Journal of Food Microbiology*. 67:1-17.

Gebra C, Riberio M, Chaves K, Gandara A and Gigante M. (2015). Effectiveness of different methodologies for the selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* La5 from yoghurt and Prato cheese. *Food Science and Technology*. 64 :508-513.

Jones Grant S and D'Orazio S. E. F. (2014). *Listeria monocytogenes*: Cultivation and Laboratory Maintenance. NIH Public Access. 859: 1–9.

Hashemi M, Azar M and Mazlumi M.T. (2009). Effect of commercial adjunct lactobacilli on biochemical and sensory characteristics of Iranian white-brined cheese, *International Journal of Dairy Technology*, 62: 48-55.

Kanawjia S. K, Rajesh P and Singh S. (1995). Flavour, chemical and textural profile changes in accelerated ripened Gouda cheese. LWT - Food Science and Technology. 28(6): 577-583.

Loncarevic S, Danielsson M. L and Tham W. (1995). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft and semi-soft cheeses in retail outlets in Sweden. *International Journal of Food Microbiology*. 26(2): 245-250.

Macedo A.C, Malcata F.X. (1996). Changes in the major free fatty acids in Serra cheese throughout ripening. *International Dairy Journal*.6:1087-1097.

Maisnier-Patin S, Deschamps N, Tatini S.R and Richard J. (1992). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Camembert cheese made with a nisin-producing starter. Lait. 72: 249-263.

Messens W,Van Camp J and Dewettinck K. (2003). High pressure processing to improve dairy product quality, Dairy processing and Improving quality. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge. pp. 310-328.

Mirzaei M, Mirdamadi S, Ehsani MR, Aminlari M and Hosseini E. (2015). Purification and identification of antioxidant and ACE inhibitory peptide from *Saccharomyces cerevisiae* protein hydrolysate. *Journsl of Functionsl Foods*. 19: 259-268.

Mills S, Ross R.P and Hill C. (2017). Bacteriocins and bacteriophage; a narrow-minded approach to food and gut microbiology. *FEMS Microbiology Reviews*. 41:129–153.

Nassar W.S,Elbarbary H.A, Ibrahim E, Mohammed H.A and Ibrahim M. I. (2018). A new trial in Egypt to detoxify AFM1 in UHT milk by lactobacilli and their bacteriocins. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*. 59(1):60-67.

Perez RH.. Zend T and Sonomoto K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. Microbial Cell Factory. 13(Suppl): S3.

O'Connor P.M, Kuniyoshi T.M, Oliveira R, Hill C, Ross R and Cotter P. (2020). Antimicrobials for food and feed: a bacteriocin perspective. Current Opinion in Biotechnology .61:160-167

Seifu E, Buys E.M and Donkin E.F. (2005). Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: A review. Trends Food Science Technology. 16: 137-154.

Sezer Ç, Güven A, Oral N.B and Vatansever L. (2013). Detoxification of aflatoxin B1 by bacteriocins and bacteriocinogenic lactic acid bacteria. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 37(5):594-601.

Shah N.P. (2000). Some beneficial effects of probiotic bacteria. *Bioscience Microflora*, 19: 99-106.

Shakeel U.R, Drake M.A and Farkye N.Y. (2008). Differences Between Cheddar Cheese Manufactured by the Milled-Curd and Stirred-Curd Methods Using Different Commercial Starters. *Journal of Dairy Science*. 91(1):76-84.

Simon P, Delsaut P, Lafontain M, Moreler R and Nicot T. (1998). Automated columm- switching high-performance liquid chromatography for the determination of aflatoxin M1. *Journal of chromatography*. 712: 95-104.

Yilmaztekin M, O¨zer B.H and Atasoy F. (2004). Survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in white-brined cheese. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 55(1):53-60.

Zhang L, García-Cano I and Jiménez-Flores R. (2020). Effect of milk phospholipids on the growth and cryotolerance of lactic acid bacteria cultured and stored in acid whey-based media. *Journal of the American Dairy Science Association*. 1(2): 36-40.