

## بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس آویشن بر پنیر موزارلای نگهداری شده در دمای یخچال

سحر روشنی<sup>۱</sup>، اشرف گوهری اردبیلی<sup>۲</sup>، اکرم آریان فر<sup>۳\*</sup>

- ۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، قوچان
  - ۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
  - ۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، قوچان، ایران
- \* نویسنده مسئول (a\_aria\_1443@yahoo.com)

### چکیده

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۷/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۵/۲۵

### واژه‌های کلیدی

آنتی‌اکسیدانی

اسانس آویشن

پنیر موزارلا

ضدمیکروبی

هدف از این پژوهش، تولید پنیر موزارلا با طعم آویشن و بررسی اثر بازدارندگی اسانس *Thymus vulgaris* بر کپک، مخمر، اشرشیاکلی و کلی‌فرم‌ها، برخی واکنش‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک و افزایش زمان ماندگاری پنیر موزارلا در دمای یخچال می‌باشد. در این پژوهش آزمایشگاهی، اثر درصدهای مختلف اسانس آویشن (صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵) بر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی، میکروبی و آنتی‌اکسیدانی پنیر موزارلای نگهداری شده در دمای یخچال به مدت ۴۵ روز مورد بررسی قرار گرفت. اسانس آویشن با غلظت‌های ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد، رشد کلی‌فرم‌ها، اشرشیاکلی و کپک و مخمرها را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ( $P < 0.05$ ). همچنین غلظت‌های ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد اسانس، اندیس پراکسید را به‌طور معنی‌داری در این فراورده کاهش داد ( $P < 0.05$ ) اما تأثیر معنی‌داری بر pH، اسیدیته، رطوبت نداشت ( $P < 0.05$ ). همچنین نمونه‌های حاوی ۰/۰۰۵ درصد اسانس، بهترین عطر و طعم و پذیرش کلی را داشتند. در نتیجه اسانس آویشن به عنوان یک نگهدارنده طبیعی، قادر به افزایش زمان ماندگاری پنیر موزارلا در دمای یخچال می‌باشد.

### مقدمه

اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌عنوان افزودنی‌های دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی است (مظاهری نسب و همکاران، ۱۳۹۱).

پنیر موزارلا<sup>۱</sup> از مهم‌ترین پنیرهای نرم نرسیده ایتالیایی و از گروه پنیرهای پاستافیلاتا یا دلمه قابل ارتجاع می‌باشد که به‌طور سنتی از شیر کامل و پر-چرب گاو با عملیات مالشی و پلاستیکی کردن از لخته تازه در آب داغ بدست می‌آید و ساختمان فیبری بخصوص و همچنین ذوب و کشش خاصی دارد (آریان فر، ۱۳۸۱). تاکنون مطالعات وسیعی در زمینه بررسی

علی‌رغم پیشرفت‌های مدرن در بهداشت و تکنیک‌های تولید غذا، سلامت غذا، اهمیت فزاینده‌ای در سلامت عمومی ایفا می‌کند (Lee et al., 2005). سلامت و ایمنی مواد غذایی نگرانی اساسی مصرف‌کننده و صنایع غذایی می‌باشد به ویژه که عفونت‌های ناشی از غذا روند رو به افزایشی را نشان می‌دهند (Burt, 2004). از آنجایی که سازمان بهداشت جهانی جهت کاهش امراض قلبی توجه خاصی به کاهش مصرف نمک در سراسر جهان نشان داده است، لزوم استفاده از سایر افزودنی‌ها جهت نگهداری مواد غذایی آشکار می‌شود که یکی از این روش‌ها استفاده از

<sup>1</sup> Mozzarella cheese

کوهی را در روغن سویا مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی هر دو اسانس با افزایش غلظت، افزایش یافت. همچنین این اسانس‌ها قادر به کاهش معنی‌داری در روند اکسیداسیون بودند. اسانس زیره کوهی در غلظت ۰/۰۶ و اسانس آویشن در غلظت ۱ درصد، مشابه BHA در غلظت ۰/۰۲ درصد بود.

از آنجایی که آویشن اصلی‌ترین ادویه و افزودنی طعم‌دهنده غذاهای آماده مانند پیتزا می‌باشد، استفاده از این گیاه در پنیر پیتزا باعث تولید یک محصول جدید و نوآوری در صنعت غذاهای آماده برای مصرف نیز می‌گردد. به عبارتی با علم به مصرف روزافزون غذا-های آماده برای مصرف، تولید این محصولات ضروری می‌باشد.

از طرفی در حال حاضر، ماندگاری کم محصولات تولید داخل، سلامتی مصرف‌کنندگان را در معرض خطر قرار داده است. از این رو راهکارهایی که بتواند باعث افزایش ماندگاری این محصول گردد، سبب رونق این صنعت و جلوگیری از اتلاف هزینه‌های ناشی از فساد این محصول خواهد گردید.

هدف از انجام این پژوهش، تولید پنیر موزارلا با عطر و طعم آویشن و بررسی اثرات بازاریابی اسانس بر کپک، مخمر، اشرشیاکلی و کلی‌فرم‌ها، برخی واکنش‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک و افزایش زمان ماندگاری پنیر موزارلا در دمای یخچال می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### مواد اولیه

پژوهش مذکور در سال ۱۳۹۱ و در آزمایشگاه شیمی و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان صورت گرفت. شیر مورد استفاده در این پژوهش از یک دامداری کوچک در شهرستان قوچان تهیه گردید و تا دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ثانیه پاستوریزه شد.

خصوصیات شیر مورد استفاده به قرار زیر بود: چربی (۳/۲ درصد)، پروتئین (۳/۰۱ درصد)، اسیدیته (۱۶-۱۵/۸)، دانسیته (۱/۰۳۰-۱/۰۲۸)، و pH (۷-۶/۶).

خصوصیات میکروبی این پنیر صورت گرفته است (Beresford *et al.*, 2001; Morea *et al.*, 1999) و گونه‌های میکروبی زیادی از جمله استافیلوکوکوس‌ها، سالمونلاها، کلی‌فرم‌ها، اشرشیاکلی و تعدادی از انواع کپک و مخمرها و همچنین تعداد متنوعی از سایکروفیل‌های<sup>۱</sup> مولد فساد در این فراورده مشاهده شده است (استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۷). همچنین مطالعات متعدد نشان داده است که علاوه بر میکروارگانسیم‌ها، برخی واکنش‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک نیز از اهمیت بسیار بالایی در نگهداری این پنیر برخوردار می‌باشند (Chaves *et al.*, 1999; Law & Tamime, 2010). بنابراین از جمله مسائلی که در خصوص پنیر موزارلا با آن مواجه هستیم، مسأله ماندگاری پایین این محصول می‌باشد (Beresford *et al.*, 2001; Morea *et al.*, 1999)

آویشن باغی یا تیموس ولگاریس (*Thymus vulgaris*) یکی از گیاهان تیره نعناعیان است. آویشن محتوی ۰/۸ تا ۲/۶ (حدود ۱ درصد) اسانس است که قسمت اعظم آن را فنل‌ها، هیدروکربن‌ها، مونوترپن‌ها و الکل‌ها تشکیل می‌دهند. تیمول جزء اصلی ترکیبات آویشن است (ضابطیان حسینی، ۱۳۸۸؛ Bart, 2004). Burt (۲۰۰۴)، طی مطالعه‌ای اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن بر روی باکتری اشرشیاکلی را ناشی از دو ترکیب این اسانس، تیمول و کارواکرول دانست و خاطر نشان کرد که آویشن یک افزودنی طبیعی مطلوب برای نابودی اشرشیاکلی به‌ویژه در فراورده‌های لبنی می‌باشد. محمدی و همکاران (۱۳۹۰)، در طی مطالعه‌ای، اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن در غلظت ۲۰۰ پی‌پی-ام را بر اشرشیاکلی در پنیر سفید آب نمکی در طی تولید و نگهداری، گزارش کردند ( $P < 0.05$ ). Ayar و همکاران (۲۰۰۲)، اثر اسانس‌های آویشن و نعناع را بر لیپولیز پنیر سفید مورد مطالعه قرار داده و دریافتند که بیشترین سرعت لیپولیز در طی دوره رسیدگی مربوط به نمونه شاهد و کمترین میزان آن مربوط به نمونه‌های حاوی اسانس آویشن به‌تنهایی و همراه با اسانس نعناع می‌باشد. شهسواری و همکاران (۱۳۸۷)، اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های آویشن شیرازی و زیره

<sup>۱</sup>Psychrophile

نمک طعام معمولی جهت تهیه آب نمک ۵ درصد استفاده شد.

#### روش تهیه پنیر

شیر کامل ۳/۲ درصد چربی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ثانیه پاستوریزه شد و بلافاصله تا دمای ۴ درجه سرد گردید، سپس به بیج‌های مختلف تولید مطابق درصدهای مورد نظر اسانس آویشن باغی اضافه گردید.

اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) به صورت امولسیون با درصد خلوص ۹۹ درصد از شرکت گل قطره توس تهیه گردید. مایه پنیر قارچی میتو (Meito) با قدرت یک صدم (یک گرم درصد لیتر شیر) استفاده گردید.

اسید سیتریک با جرم مولکولی ۱۹۲M استفاده شد که به صورت محلول ۲۵ درصد جهت مصرف آماده گردید.



شکل ۱- تولید پنیر موزارلای حاوی درصدهای مختلف اسانس

آزمون پراکسید وزن شد. محاسبه عدد پراکسید براساس روش Lee (۲۰۰۵) صورت گرفت.

#### میکروبی

محیط‌های کشت مورد استفاده در آزمون‌های میکروبی به طور عمده از شرکت مرک آلمان تهیه شد. آزمون‌ها شامل:

اندازه‌گیری کلی‌فرم بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۵۴۸۶ (۱۳۸۱) انجام شد.

شمارش اشرشیاکلی بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۵۲۳۴ (۱۳۷۹) انجام شد.

شمارش کپک و مخمر بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۱۵۴ (۱۳۸۶) انجام شد.

#### آزمون حسی

داوران در این آزمون به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای، نمره‌ای بین ۰ تا ۵ به هر یک از ویژگی‌های عطر و طعم، بافت، کشش‌پذیری و رنگ پیتزا اختصاص دادند. هر یک از پارامترهای فوق به طور جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. لذا علاقه‌مندی کلی (پذیرش کلی) نمونه‌های پیتزا بر اساس صفت اصلی ضریب اهمیت آنها برای داوران و نیز در مقایسه با نمونه‌های شاهد مورد ارزیابی قرار گرفتند (آریان فر، ۱۳۸۱).

#### طرح آماری

کلیه آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفتند. نتایج کمی با استفاده از نرم افزار SPSS و تجزیه واریانس یک‌طرفه مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها در این پروژه درصدهای مختلف اسانس (۰/۰۰۱، ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد) بودند و نمونه بدون اسانس به عنوان شاهد با سایر نمونه‌ها در دمای یخچال (در روزهای ۰، ۷، ۱۷، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵) مورد مقایسه قرار گرفتند.

کلیه نمونه‌ها در سه تکرار تولید شده و در نهایت از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی، آنتی-اکسیدانی و حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

#### نتایج و بحث

##### نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

عمل اسیدی‌کردن با اضافه کردن محلول ۲۵٪ اسیدسیتریک خوراکی تا رسیدن به  $\text{pH}=6$  در همین دما انجام شد، سپس شیر اسیدی شده تا دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در داخل بن‌ماری گرم شد و عملیات رنت‌زنی انجام گردید و مدت ۲۰ دقیقه در همین دما باقی ماند تا دلمه مورد نظر تشکیل شود، سپس دلمه حاصل به قطعات ۱ تا ۲ سانتی‌متر برش داده شد و عملیات پختن در آب نمک ۵٪ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه انجام شد. سپس با تحت فشار قرار دادن دلمه‌های پخته شده آب پنیر به طور کامل از دلمه‌ها جدا گردید. دلمه حاصل در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه تحت عملیات کش‌دار شدن قرار گرفت و بلافاصلاً بعد از عملیات کش‌دار شدن پنیر حاصل در داخل بسته‌بندی‌های سلفونی و فویل‌های آلومینیومی بسته‌بندی و به یخچال منتقل گردید (مظاهری نسب و همکاران، ۱۳۹۱ و Law & Tamime; 2010).

#### آزمون‌ها

##### شیمیایی

مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمون‌ها به‌طور عمده از شرکت مرک آلمان تهیه شد. اندازه‌گیری  $\text{pH}$  بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ (۱۳۸۵) انجام شد. اندازه‌گیری اسیدیته بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ (۱۳۸۵) انجام شد. اندازه‌گیری رطوبت بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱۷۵۳ (۱۳۸۱) انجام شد.

##### اندازه‌گیری اثر ضداکسایشی

##### استخراج روغن از پنیر موزارلا

نمونه پنیر با نسبت ۱ به ۵ با حلال هگزان مخلوط شده، و مدت ۶ ساعت بر روی شیکر در تاریکی قرار داده شد. سپس ۱۲ ساعت به صورت ساکن ماند. بعد از این مدت نمونه را با کاغذ صافی صاف کرده و مخلوط روغن و حلال جدا گردید. مخلوط جدا شده به مدت ۱۲ ساعت زیر هود در تاریکی برای تبخیر حلال قرار داده شد و سپس روغن جهت اندازه‌گیری

شود. کلسیم و فسفر عوامل اصلی ایجادکننده خواص بافیری در پنیر بوده و سبب افزایش pH می‌شوند.

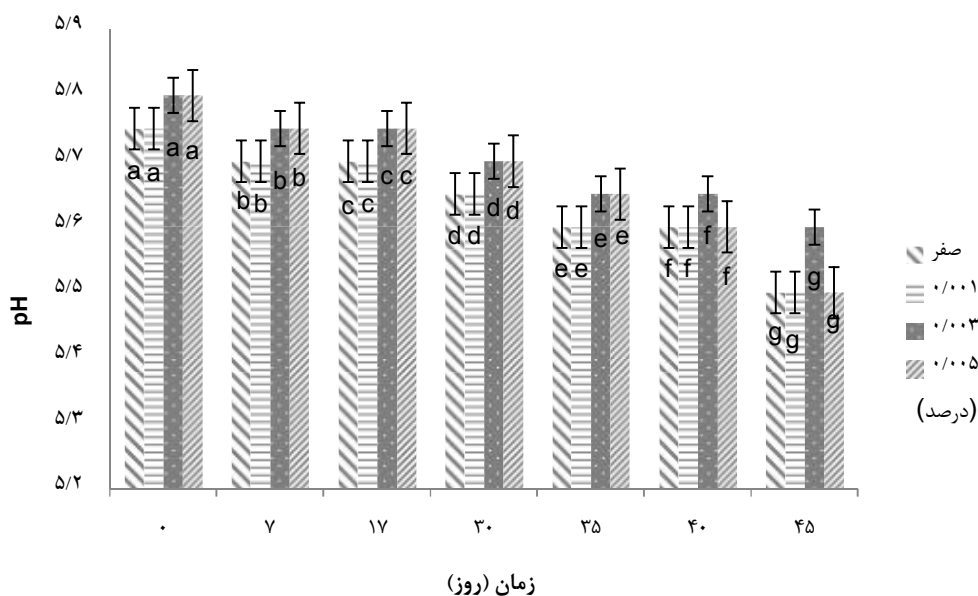
#### اثر درصدهای مختلف اسانس بر اسیدیته

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، درصدهای مختلف اسانس تأثیر معنی‌دار بر اسیدیته نداشت. اما میزان اسیدیته نیز در همه نمونه‌ها به طور تقریباً یکسان با گذشت زمان افزایش یافت. افزایش اسیدیته در این مطالعه به عنوان یک پارامتر مهم در خواص عملکردی پنیر در طی دوره نگهداری با مطالعات انجام شده توسط Chaves (۱۹۹۹) و Sameen (۲۰۰۹)، که افزایش اسیدیته در طی دوره نگهداری پنیر موزارلا را گزارش کردند در توافقی می‌باشد.

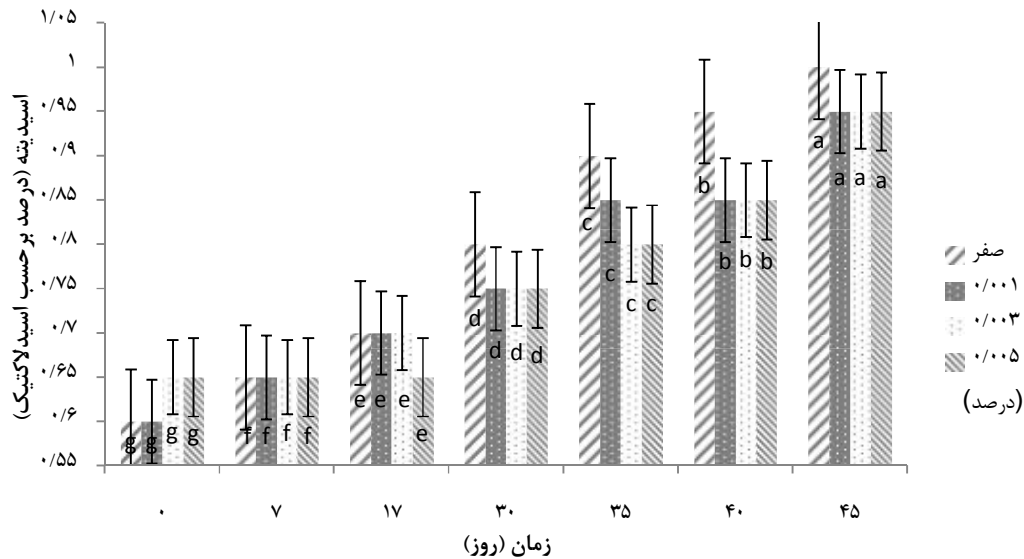
Sameen (۲۰۰۹)، طی مطالعات خود گزارش کرد که مدت زمان رسیدن پنیر و میزان اسید و استراتر مصرفی، بر روی اسیدیته مؤثر بوده ولی میزان چربی هیچ تأثیری بر تغییرات اسیدیته ندارد.

#### اثر درصدهای مختلف اسانس آویشن بر pH

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، افزودن درصدهای مختلف اسانس تأثیر معنی‌داری بر پارامتر pH در طی دوره نگهداری نداشت. اما با گذشت زمان در pH در همه نمونه‌ها کاهش یافت. کاهش pH در طی دوره نگهداری به دلایل مختلفی از جمله مصرف لاکتوز، هیدرولیز چربی و پروتئین و تولید اسید لاکتیک، اسیدهای چرب می‌باشد. به طوری که تولید همه این اسیدها موجب کاهش pH در پنیر می‌گردد. این نتایج مطابق با نتایج Sameen (۲۰۰۹) می‌باشد، اما با اظهارات Guinee (۲۰۰۷) و Sheehan (۲۰۰۴)، که در تحقیقات خود افزایش pH را در پنیر موزارلا گزارش کردند در توافقی نمی‌باشد. این محققین ذکر کردند که افزایش pH در پنیر می‌تواند به دلیل کاهش نسبت لاکتات-پروتئین باشد که موجب کاهش خواص بافیری دلمه پنیر می‌شود، به طوری که حذف اسید لاکتیک موجب افزایش حلالیت کلسیم و فسفر می‌-



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر pH پنیر موزارلا در دمای یخچال



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر اسیدیته پنیر موزارلا در دمای یخچال

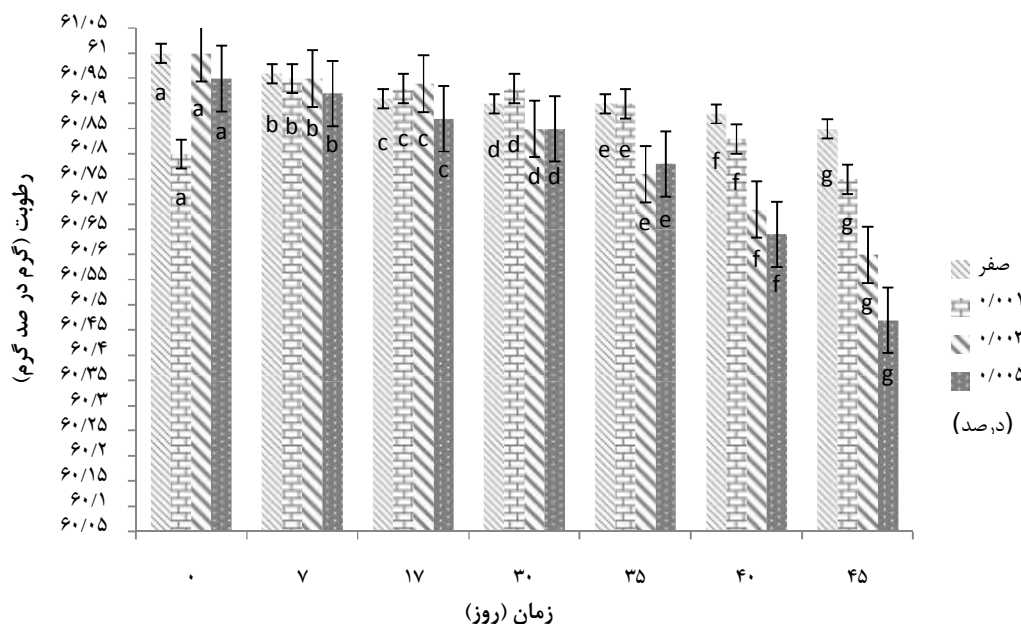
طی دوره نگهداری خاطر نشان کردند و علت آن را کاهش چربی دانستند، به طوری که کاهش چربی باعث افزایش نسبت پروتئین-چربی می‌شود و این امر باعث افزایش محتوی رطوبتی در پنیر می‌گردد.

Law & Tamime (۲۰۱۰)، کش آمدن پنیر موزارلای نهایی را تحت اثر سه عامل pH پایین، رطوبت کمتر و رابطه بین کلسیم و پروتئین ذکر کرده است. بنابراین اسانس آویشن با خاصیت آب‌گریزی خود موجب کاهش محتوی رطوبت پنیر شده و خواص عملکردی پنیر را تقویت می‌کند. بنابراین با توجه به مطالعات ذکر شده و نتایج تحقیق حاضر افزودن اسانس هیچ تأثیر معنی‌داری بر خواص فیزیکی-شیمیایی پنیر ندارد.

#### اثر درصدهای مختلف اسانس بر رطوبت

همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، درصدهای مختلف اسانس تأثیر معنی‌داری بر درصد رطوبت در پنیر موزارلا نداشت ( $P < 0.05$ ). اما طبق داده‌های بدست آمده از این آزمون، نمونه‌های دارای درصدهای بالاتر اسانس (۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد) رطوبت بیشتری را در طی دوره نگهداری از دست داده‌اند که این نتایج با Mallatoa & Papa (۲۰۰۵)، مبنی بر کاهش میزان رطوبت پنیر موزارلا طی دوره نگهداری، در توافق می‌باشد. آنها بیان کردند طی ۲۰ روز اول رسیدن، رطوبت با سرعت زیادی کاهش یافت که علت آن را کاهش هیدروژن موجود در کازئین در این دوره زمانی ذکر کردند.

Radan (۱۹۹۷) و Guinee (۲۰۰۷) در طی مطالعات خود افزایش رطوبت را در پنیر موزارلا در



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر رطوبت پنیر موزارلا در دمای یخچال

#### نتایج آزمون میکروبی

مهم‌ترین ویژگی اسانس‌های روغنی خاصیت هیدروفوبی آنها می‌باشد که سبب نفوذ اسانس در چربی غشاء سلولی و افزایش نفوذپذیری غشاء و در نتیجه خروج یون‌ها و محتویات سلولی می‌گردند. این مکانسیم توسط محققین زیادی به اثبات رسیده است (Lee *et al.*, 2005; Burt, 2004 & 2007).

تیمول و کارواکرول که ترکیبات عمده اسانس آویشن می‌باشند، از طریق تجزیه دیواره سلولی، آسیب زدن به غشای سیتوپلاسمی، آسیب زدن به غشای پروتئینی و در نتیجه نشت محتوی سلول به بیرون و انعقاد سیتوپلاسم موجب تخریب باکتری‌ها می‌شوند (Burt, 2004).

بیشتر بررسی‌های انجام شده بر روی فعالیت اسانس‌های روغنی در برابر فساد مواد غذایی و پاتوژن‌ها گزارش کردند به‌طور کلی اسانس‌ها به‌طور چشمگیری بر باکتری‌های گرم مثبت مؤثرتر از

باکتری‌های گرم منفی می‌باشند که علت آن احاطه- شدن دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی توسط یک غشاء خارجی است که موجب کاهش خروج ترکیبات هیدروفوبی در میان پوشش لیپوپلی ساکاریدی می‌شود (Smith palmer *et al.*, 2001; Burt, 2004 & 2007)

#### کلی‌فرم‌ها

طبق نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس، رشد کلی‌فرم‌ها در نمونه‌های حاوی درصد‌های مختلف اسانس آویشن در مقایسه با نمونه شاهد، تا ۷ روز اول نگهداری بی‌معنی ( $P < 0.05$ ) و از زمان ۱۷ تا ۴۵ روز معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). به‌طوری که طبق آزمون دانکن نمونه‌های حاوی ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد اسانس در یک گروه دسته‌بندی شدند و با افزایش درصد اسانس در نمونه‌های پنیر موزارلا، رشد باکتری-های کلی‌فرم در هر گرم پنیر کاهش یافت.

جدول ۱- تغییرات رشد کلی فرمها در پنیر موزارلای حاوی درصدهای مختلف اسانس آویشن در طی دوره نگهداری در دمای یخچال

زمان (روز)	درصد اسانس			
	صفر	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵
۷	۰/۱×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۱×۱۰ <sup>۱</sup>	۰	۰/۲۱۹
۱۷	۰/۲×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۲×۱۰ <sup>۱</sup>	۰	۰/۰۱۹
۳۰	۲×۱۰ <sup>۱</sup>	۱/۵×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۵×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۰۰۰
۳۵	۲/۵×۱۰ <sup>۱</sup>	۲/۱×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۸×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۰۰۰
۴۰	۳/۱×۱۰ <sup>۱</sup>	۲/۷×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۹×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۰۰۰
۴۵	۴/۲×۱۰ <sup>۱</sup>	۳/۳×۱۰ <sup>۱</sup>	۱/۵×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۰۰۰

**اشرشیا کلی**

امروزه کنترل رشد باکتری اشرشیاکلی یکی از بزرگ-ترین نگرانی‌های صنعت غذا می‌باشد، زیرا این باکتری بیماری‌زا در دامنه وسیعی از مواد غذایی موجب بیماری می‌گردد (Spano et al., 2003). مطالعه حاضر حاکی از این است که درصدهای مختلف اسانس رشد این باکتری را در نمونه‌های پنیر موزارلا در طی دوره نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش داد ( $P < 0/05$ ). رشد باکتری اشرشیاکلی در نمونه‌های حاوی ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد اسانس آویشن در کل دوره نگهداری در هر گرم پنیر تقریباً صفر بود، ولی در نمونه‌های شاهد و ۰/۰۰۱ درصد رشد این باکتری از ۱۷ روز به بعد شروع شد و با سرعت بیشتری در نمونه شاهد تا آخر دوره نگهداری ادامه پیدا کرد.

این نتایج با مطالعات کریم و بنیادیان (۱۳۸۳)، در بررسی اثر ضد میکروبی اسانس‌های نعناع، ترخون، زیره، پونه و آویشن بر رشد باکتری اشرشیاکلی در پنیر سفید ایرانی در توافق است. آنها گزارش کردند که اسانس آویشن با بالاترین اثر ضد میکروبی، رشد را در نمونه‌های حاوی ۰/۱ و ۰/۲ درصد اسانس، ۳ و ۴ سیکل لگاریتمی نسبت به نمونه شاهد کاهش داده است. همچنین ضابطیان حسینی (۱۳۸۸)، در مطالعه‌ای بیان کرد که افزایش غلظت عصاره آویشن موجب کاهش معنی‌داری در رشد باکتری اشرشیاکلی در سس مایونز گردید. Burt (۲۰۰۴)، طی مطالعه‌ای

اثرات ضدباکتریایی اسانس آویشن را بر روی باکتری اشرشیاکلی ناشی از دو ترکیب این اسانس، تیمول و کارواکرول دانست و خاطر نشان کرد که آویشن یک افزودنی طبیعی مطلوب برای نابودی اشرشیاکلی به-ویژه در فرآورده‌های لبنی می‌باشد. گاراژیان (۱۳۸۴) نیز در آزمایشات خود در بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره کاکوتی در ماست، به نتایج مشابه‌ای دست یافت. در این آزمایشات عصاره کاکوتی در غلظت ۰/۱ و ۰/۲ درصد در طی ۳ روز و نمونه حاوی ۰/۴ درصد در طی ۵ روز تعداد اشرشیاکلی را در ماست کاهش داد و به صفر رسانید.

محمدی و همکاران (۱۳۹۰)، در مطالعه‌ای، اثر ضدباکتریایی اسانس آویشن در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام را بر رشد اشرشیاکلی در پنیر سفید آب نمکی در طی تولید و نگهداری، در مقایسه با غلظت‌های کمتر و نمونه شاهد معنی‌دار گزارش کردند ( $P < 0/05$ ). Solomakos و همکاران (۲۰۰۸)، تأثیر اسانس نعناع و نایسین را بر اشرشیاکلی در گوشت قیحه شده گاو در دو دمای ۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد مطالعه کردند. در این مطالعه، اسانس نعناع در غلظت ۰/۶ درصد در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بهتر از دمای ۴ درجه عمل کرده است. ترکیب این اسانس با نایسین به مقدار ۵۰۰ واحد در گرم، به مراتب اثر قوی‌تری داشته است.



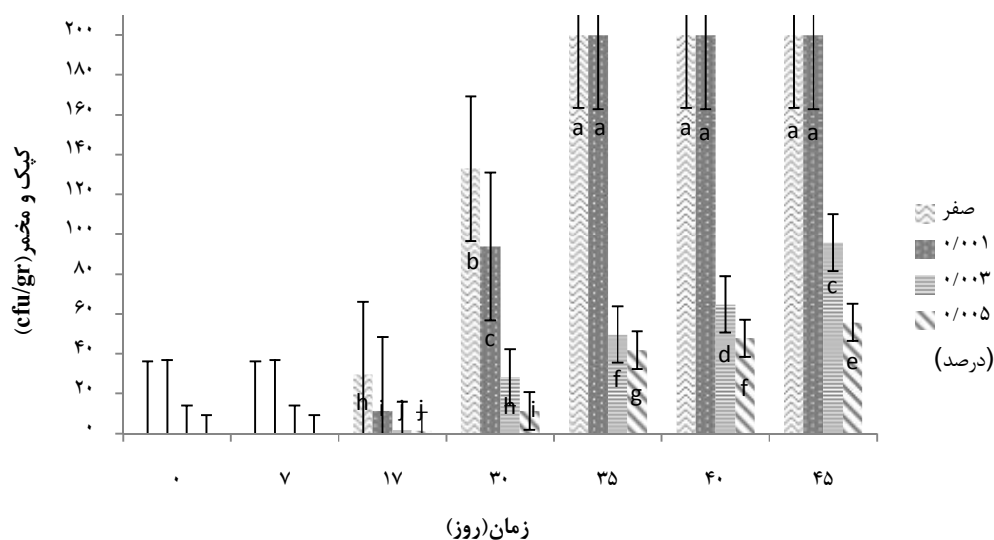
جدول ۲- تغییرات رشد اشرشیاکلی در پنیر موزارلا حاوی درصدهای مختلف اسانس آویشن در طی دوره نگهداری در دمای یخچال

سطح معنی داری	درصد اسانس				زمان (روز)
	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	صفر	
.	.	.	.	.	۰
.	.	.	.	.	۷
.	.	.	.	.	۱۷
۰/۰۰۴	.	.	۰/۴×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۳×۱۰ <sup>۱</sup>	۳۰
۰/۰۰۱	.	.	۰/۷×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۵×۱۰ <sup>۱</sup>	۳۵
۰/۰۰۰	.	.	۰/۸×۱۰ <sup>۱</sup>	۱×۱۰ <sup>۱</sup>	۴۰
۰/۰۰۰	۰/۲×۱۰ <sup>۱</sup>	۰/۲×۱۰ <sup>۱</sup>	۱×۱۰ <sup>۱</sup>	۱/۳×۱۰ <sup>۱</sup>	۴۵

گیاهی بر جمعیت قارچی پنیر سفید صنعتی در توافق است. آنها گزارش کردند که از میان چندین روغن فرار گیاهی مورد مطالعه، اسانس‌های آویشن و ترخان بیشترین خاصیت ضدقارچی را دارا بوده‌اند و باعث مهار رشد جمعیت قارچ‌ها در پنیر شدند. به طوری که جمعیت قارچ‌ها در نمونه شاهد پس از دو هفته به  $10^4$  cfu/g افزایش یافت اما جمعیت قارچ در پنیرهای حاوی اسانس گیاهان پس از گذشت دو هفته از حد استاندارد کپک و مخمر (بیشینه  $10^2$  عدد در گرم) تجاوز نکرد.

### کپک و مخمر

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که اسانس آویشن دارای اثرات ضدقارچی مطلوب می‌باشد. رشد کپک و مخمر در نمونه‌های حاوی درصدهای ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ اسانس در مقایسه با نمونه شاهد کمتر بوده، به طوری که نمونه‌های شاهد و ۰/۰۰۱ درصد بعد از گذشت ۱۷ روز در دمای یخچال غیرقابل مصرف شدند، ولی نمونه‌های ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد تا ۴۵ روز در دامنه استاندارد کپک و مخمر (بیشینه  $10^2$  عدد در گرم) باقی ماندند. این نتایج با بنیادیان و همکاران (۱۳۸۴)، در مطالعه تأثیر روغن‌های فرار

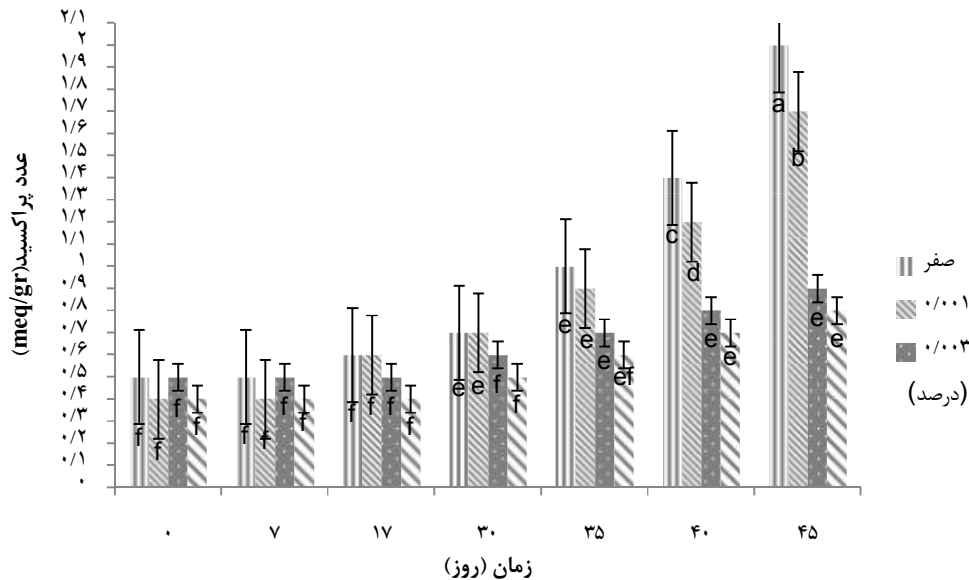


شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر کپک و مخمر پنیر موزارلا در دمای یخچال

## عدد پراکسید

بررسی روند تغییرات عدد پراکسید تحت تأثیر درصد-های مختلف اسانس آویشن باغی در نمونه‌های پنیر موزارلا در دمای نگهداری یخچال، نشانگر افزایش کندتر عدد پراکسید در نمونه‌های حاوی اسانس در مقایسه با نمونه شاهد بود. به طوری که عدد پراکسید در نمونه شاهد و حاوی ۰/۰۰۱ اسانس به طور معنی-داری افزایش یافت و نمونه‌های حاوی ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد اسانس روند افزایشی بسیار کندی در طی دوره نگهداری از خود نشان دادند. طبق جدول تجزیه واریانس، در دوره‌های زمانی ۴۰ و ۴۵ روز،

تغییرات عدد پراکسید در نمونه‌های حاوی اسانس در مقایسه با نمونه شاهد معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ). رحیم زاده (۱۳۷۸) اثرات آنتی‌اکسیدانی آویشن و زیره سبز را بر روغن آفتابگردان قابل مقایسه با آنتی-اکسیدان سنتزی BHT ذکر کرد. Lee و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیقات آزمایشگاهی بر روی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی چند فلاونوئید آگلیکونی نشان داد که قدرت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به ساختمان شیمیایی آنها بستگی دارد.



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر تغییرات عدد پراکسید در پنیر موزارلا در دمای یخچال

## آزمون حسی

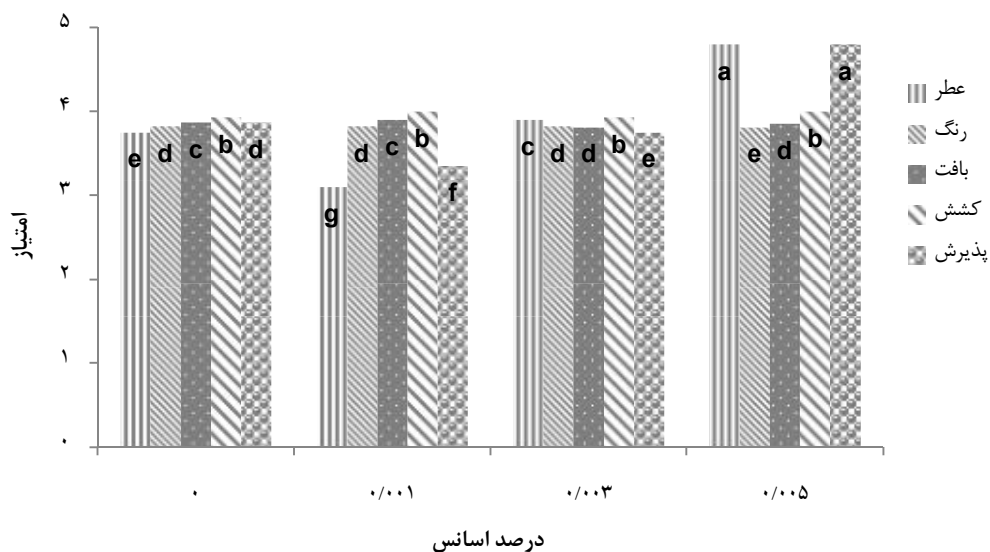
درصد اسانس، در قسمت توضیحات فرم ارزیابی، اظهار داشتند که طعم آویشن این نمونه تا حدی بالا می-باشد. این نتایج با تحقیقات عباس‌فر و همکاران (۱۳۸۶)، در توافق می‌باشد، به طوری که آنها گزارش کردند، حداقل غلظت مورد نیاز جهت ایجاد اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی باید مورد استفاده قرار گیرد. زیرا استفاده از این اسانس‌ها در غلظت‌های بالا بر روی کیفیت پنیر تأثیر گذاشته و نگرانی‌هایی را در مورد تغییر در خواص ارگانولپتیکی به وجود می‌آورند. یکی از راه‌های رفع این مشکل این است که بدانیم اسانس‌ها فقط به عنوان یک ترکیب نگهدارنده نیستند

افزودن غلظت‌های مختلف اسانس آویشن علیرغم کاهش بار میکروبی و اثرات آنتی‌اکسیدانی، موجب ایجاد یک فرآورده جدید با بازارپسندی مطلوب شده است. همان‌طور که در نمودار ارزیابی حسی مشاهده می‌شود، نمونه حاوی ۰/۰۰۵ درصد اسانس از نظر عطر و طعم که مهم‌ترین پارامتر در ارزیابی این پنیر محسوب می‌شود، بالاترین امتیاز را کسب کرده است که این امر به دلیل مطابقت طعم و مزه آویشن با مواد غذایی آماده مانند پیتزا، لازانیا و غیره می‌باشد. برخی از داوران، با دادن بالاترین امتیاز به نمونه ۰/۰۰۵

بافت در همه نمونه‌ها تقریباً یکسان بوده که این امر نشانگر این است که اسانس آویشن هیچ تأثیری بر روی این پارامترها در پنیر موزارلا نداشته است و در مورد پارامتر پذیرش کلی نیز همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش درصد اسانس نمونه‌ها، این پارامتر هم افزایش پیدا کرده است.

بلکه یک ترکیب طعم‌دهنده نیز در مواد غذایی محسوب می‌شوند و یا اینکه می‌توان از فعال‌ترین ترکیبات یک اسانس، به جای کل اسانس استفاده کرد. در این صورت امید است که بتوان در عین استفاده از اسانس‌ها، خواص ارگانولپتیکی را در حد نرمال خود حفظ کرد و از خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آنها به طور مطلوب استفاده کرد.

همان‌طور که در نمودار مشاهده می‌شود، امتیازات داده شده به پارامترهای رنگ، بافت و کشش پذیری



شکل ۷- آزمون حسی پنیر حاوی درصد‌های مختلف اسانس آویشن

همچنین نتایج حاصل از ارزیابی حسی این محصول نشان داد که نمونه‌های حاوی ۰/۰۰۵ درصد اسانس دارای بیشترین امتیاز در دو پارامتر عطر و طعم و پذیرش کلی شدند و پارامترهای رنگ، بافت و کشش‌پذیری در همه نمونه‌ها امتیازات یکسانی کسب کردند. بنابراین اسانس آویشن به عنوان یک نگهدارنده طبیعی قادر به افزایش زمان ماندگاری پنیر موزارلا در دمای یخچال می‌باشد و علاوه بر تولید یک محصول جدید با بازار پسندی مطلوب در صنعت لبنیات، می‌تواند در کاهش اتلاف هزینه‌های ناشی از فساد این فرآورده، ایجاد اطمینان خاطر بیشتر در مصرف کننده به دلیل استفاده از نگهدارنده طبیعی و بهبود امکان صادرات محصولات لبنی سالم و ایمن مفید باشد.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش نشان داد که اسانس آویشن دارای اثرات ضد میکروبی قوی بر روی رشد باکتری‌های مولد فساد در پنیر موزارلا می‌باشد. این اسانس با درصد‌های ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ رشد کلی فرم‌ها، اثرشیاکلی و کپک و مخمرها را به طور معنی‌داری کاهش داد. همچنین نمونه‌های حاوی ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ درصد اسانس، افزایش اندیس پراکسید را به‌طور معنی‌داری در طی زمان نگهداری کند کردند. نتایج حاصل از آزمون‌های فیزیکوشیمیایی نشان داد که اسانس آویشن با دارا- بودن اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی در پنیر موزارلا، تأثیر معنی‌داری بر pH، اسیدیته و رطوبت در طی دوره نگهداری نداشت.

## منابع

- ۱- آریان فر، ا. ۱۳۸۱. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و حسی پنیر موزارلای تولیدی به روش اسیدی کردن مستقیم. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۲- بنیادیان، م. و کریم، گ. ۱۳۸۴. تأثیر روغن های فرار گیاهی بر روی جمعیت قارچی پنیر سفید صنعتی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۲ (۳): ۲۵ تا ۳۳.
- ۳- پروانه، و. ۱۳۸۹. کنترل کیفی و آزمایش های شیمیایی مواد غذایی، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۱۰۲.
- ۴- شهبواری، ن.، بزرگر، م. و سحری، م. ع. ۱۳۸۷. بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس های آویشن شیرازی و زیره کوهی در روغن سویا. مجموعه مقالات هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، ۸ و ۹ شهریور، گرگان.
- ۵- ضابطیان حسینی، ف.، مرتضوی، س. ع.، فضلای بزاز، ب. ص.، کوچکی، آ. و بلوریان. ش. ۱۳۸۸. بررسی اثر ضد- میکروبی عصاره آویشن باغی بر *سالمونلا انتریتیدیس* موجود در سس مایونز. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد واحد سبزوار.
- ۶- عباسی فر، آ.، آخوند زاده بستی، آ.، کریم، گ.، میثاقی، ع.، بکایی، س.، گندمی، ح.، جبلی جوان، آ.، حامدی، ح. و ساری، ع. ۱۳۸۶. ارزیابی اثر اسانس آویشن شیرازی بر رفتار *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر فتا. فصلنامه گیاهان دارویی. ۱ (۵): ۱۰۵ - ۱۱۵.
- ۷- کریم، گ. و بنیادیان، م. ۱۳۸۳. مطالعه تأثیر ضد میکروبی روغن های فرار برخی گیاهان بر باکتری *اشرشیاکلی* در پنیر سفید ایرانی. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱ (۱۲): ۲۱ تا ۲۸.
- ۸- گاراژیان، ر. ۱۳۸۴. بررسی اثر اسانس و عصاره کاکوتی کوهی بر باکتری های پاتوژن و امکان افزایش زمان ماندگاری ماست در اثر افزودن آنها. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۹- محمدی، خ.، کریم، گ.، حنیفیان، ش.، تاری تژاد، ع. و قاسم نژاد، ر. ۱۳۹۰. مطالعه تأثیر اسانس گیاه آویشن شیرازی بر باکتری *اشرشیاکلی* در پنیر سفید آب نمکی طی فرایند تولید و نگهداری. مجله بهداشت مواد غذایی. ۲ (۱): ۶۹ - ۷۸.
- ۱۰- مظاهری نسب، م.، نجفی، م. ب. ح. و رضوی، س. م. ع. ۱۳۹۱. بررسی اثر ترکیبی دو جایگزین چربی بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پنیر موزارلای کم چرب. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، ۸ (۲): ۱۰۳ تا ۱۱۴.
- ۱۱- استاندارد ملی ایران. ۱۳۸۱. شیر و فرآورده های آن - شمارش *اشرشیاکلی* - روش بیشترین تعداد احتمالی. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۵۲۳۴، چاپ اول.
- ۱۲- استاندارد ملی ایران. ۱۳۷۹. شیر و فرآورده های آن - شمارش کلی فرم. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۵۴۸۶ - ۱ و ۲، چاپ اول.
- ۱۳- استاندارد ملی ایران. ۱۳۸۱. پنیر و پنیرهای فرآیند شده - تعیین مقدار ماده خشک کل (روش مرجع و روش آزمون). مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۱۷۵۳، چاپ اول.
- ۱۴- استاندارد ملی ایران. ۱۳۸۵. شیر و فرآورده های آن - تعیین اسیدیته و pH و روش های آزمون. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۲۸۵۲، چاپ اول.

- ۱۵- استاندارد ملی ایران. ۱۳۸۶. شیر و فرآورده‌های آن - شمارش واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی کپک و/یا مخمر - شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۱۰۱۵۴، چاپ اول.
- ۱۶- استاندارد ملی ایران. ۱۳۸۷. میکروبیولوژی شیر و فرآورده‌های آن - ویژگی‌ها. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۲۴۰۶، تجدید نظر دوم.
- 17- Ayar, A. 2002. Effect of some herb essential oils on lipolysis in white cheese. *Journal of Food Lipids*, 9 (3): 225- 37.
- 18- Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L. & Cogan, T. M. 2001. Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11: 259-274.
- 19- Burt, S. A. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Microbiology*, 94: 223-253.
- 20- Burt, S. A. 2007. Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food. Ph.D thesis. Utrecht Institute for Risk Assessment Sciences, division of Veterinary Public Health Utrecht University, the Netherlands.
- 21- Chaves, W., Viotto, H. & Grosso, C.R.F. 1999. Proteolysis and functional properties of mozzarella cheese as affected by refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 64 (2): 202-205.
- 22- Guinee, T.P., Mulholland, E.O., Kelly, J & O'Callaghan, D.J. 2007. Effect of protein-to-fat ratio of milk on the composition, manufacturing efficiency and yield of cheddar cheese, *Journal of Dairy Science*, 90: 110–123.
- 23- Law, B. A. & Tamime, A. Y. 2010. *Technology of cheese making*. 2<sup>nd</sup> ed. Wiley-blackwell. Westmorland.UK.
- 24- Lee, S., Umamo, K., Shibamoto, T. & Lee, K. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Journal of Food Chemistry*, 91: 131–137.
- 25- Morea, M., Baruzzi, F. & Cocconcelli, P. S. 1999. Molecular and physiological characterization of dominant bacterial populations in traditional mozzarella cheese processing. *Journal of Applied Microbiology*, 87: 574- 582.
- 26- Rudan, M. A., Barbano, D. M., Yun, J.J. & PKindstedt, P.S. 1997. Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality, and yield of mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 82 (4): 661-672.
- 27- Sameen, A. 2009. Functional and technological properties of mozzarella cheese prepared from cow and buffalo milk. Ph.D thesis. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.
- 28- Sheehan, J.J. & T.P. Guinee. 2004. Effect of pH and calcium level on the biochemical, textural and functional properties of reduced-fat Mozzarella cheese. *International Journal of Dairy*, 14: 161–172.
- 29- Smith-Palmer, A., Stewart, J. & Fufe, L. 2001. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Journal of Food Microbiology*, 18: 463-470.
- 30- Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P. & Botsoglou, N. 2008. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* in minced beef during refrigerated storage. *Journal of Meat Science*, 80: 159-166.
- 31- Spano, G., Goffredo, E., Beneduce., Tarantino, D., Dupuy, A. & Massa, A. 2003. Fate of *Escherichia coli O157: H7* during the manufacture of mozzarella cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 24: 443-458.

## Investigation on antimicrobial and antioxidant effects of *Thymus vulgaris* on mozzarella cheese

Sahar Roshani<sup>1</sup>, Ashraf Gohari Ardebili<sup>2</sup>, Akram Arianfar<sup>\*3</sup>

- 1- Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
  - 2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
  - 3- Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
- \*Corresponding author (a\_aria\_1443@yahoo.com)

### Abstract

The aim of this study was the production of mozzarella cheese flavored with *thymus vulgaris* essence and the examination of the inhibitory effect of this essence against mold, yeasts, *E.coli* and coliforms, some proteolytic and lipolytic reaction and shelf life of mozzarella cheese in refrigerator conditions. In this study, the effect of different percents of essence (zero, 0.001, 0.003, 0.005) was investigated on physicochemical, microbial, antioxidant and organoleptic properties of mozzarella cheese at refrigerator temperatures for 45 days. The results showed that zero, 0.003 and 0.005 concentration had a significant effect on reduction of coliforms, *E.coli*, molds and yeasts growth ( $P < 0.05$ ). Also, 0.003 and 0.005 percent of the essence, had a significant effect on reduction of peroxid index during shelf life ( $P < 0.05$ ) and had no significant effects on pH, acidity, moisture and salt content ( $P > 0.05$ ). Also, samples with 0.005 % essence had the most flavor and overall acceptance. Generally the results showed that *thymus vulgaris* essence as a natural preservative is able to increase the shelf life of mozzarella cheese at refrigerator temperature.

**Keywords:** Antibacterial, Antioxidant, Mozzarella cheese, Thyme essence