



## تأثیر پوشش ایزوله پروتئین آب پنیر و اسانس روغنی هل بر ماندگاری پنیر سفید

سحر حمزه‌ای<sup>1</sup>، آرزو خضولو<sup>2</sup>، علی احسانی<sup>3\*</sup>

- 1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، مؤسسه آموزش عالی آفاق، ارومیه، ایران.  
2- دانشجوی کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشجوی دکتری بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.  
3- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	
تاریخ دریافت: 1400 /03/29	
تاریخ پذیرش: 1400/12/02	
کلمات کلیدی:	
پنیر سفید، بسته‌بندی، پوشش خوراکی، ایزوله پروتئین آب پنیر، اسانس روغنی هل.	
DOI: 10.22034/FSCT.19.127.267	
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.17.0	
* مسئول مکاتبات:	
ehsani@tbzmed.ac.ir	

بسته‌بندی پنیر به‌عنوان یکی از فرآوری‌ها تأثیر مهمی در افزایش ماندگاری پنیر و کیفیت آن دارد. هدف این مطالعه، بسته‌بندی پنیر سفید ایرانی با استفاده از پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر حاوی سطوح مختلف اسانس روغنی هل (0، 1/5 و 2%) در طول مدت نگهداری بود. نمونه‌ها از نظر تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی طی 60 روز نگهداری بررسی شدند. همچنین ترکیبات شیمیایی اسانس روغنی هل توسط دستگاه GC-MS شناسایی شد. در آنالیز ترکیب شیمیایی اسانس روغنی هل، دو ترکیب اصلی شامل  $\alpha$ -ترپنیل استات (46/705%) و 1,8-سینئول (27/415%) شناسایی شدند. بررسی تغییرات pH نتایج نشان داد که pH تمام نمونه‌ها در طی مدت نگهداری به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P<0/05$ ). در روز پایان نگهداری پائین‌ترین میزان پراکسید در نمونه پنیر پوشش شده با 2% اسانس روغنی هل ( $0/97\pm 0/21$  meq O<sub>2</sub>/kg) بود. نتایج تغییرات شاخص تیوباریتوریک اسید نشان داد که دو نمونه پنیر سفید پوشش شده با ایزوله پروتئین آب پنیر حاوی 1/5 و 2% اسانس روغنی هل دارای کم‌ترین میزان تیوباریتوریک اسید از روز هفتم تا پایان دوره نگهداری بودند. پائین‌ترین جمعیت باکتری کل در روز پایان نگهداری در نمونه پنیر سفید با پوشش حاوی 2% اسانس روغنی هل ( $2/431\pm 0/56$  Log cfu/g) بود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر حاوی 1/5% اسانس روغنی هل خصوصیات حسی مطلوب‌تری نسبت به سایر پوشش‌ها داشت. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌توان بیان کرد که پوشش‌های خوراکی حاوی اسانس‌های گیاهی می‌تواند در بسته‌بندی و پوشش‌دهی پنیر سفید جهت افزایش کیفیت و ایمنی آن استفاده شود.

## 1- مقدمه

محصولات لبنی حدود 25 تا 30% از رژیم غذایی متوسط یک فرد را تشکیل می‌دهند [1]. شیر و فرآورده‌های لبنی جزء مواد غذایی هستند که حاوی مواد مغذی ضروری متعددی مانند اسید اولئیک، اسید لینولئیک مزدوج، اسیدهای چرب امگا-3، ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات زیست فعال مانند آنتی‌اکسیدان‌ها هستند [2]. پنیر صنعتی ایران (فتا-اولترافیلتراسیون) که از شیر پس چرخ و پاستوریزه گاو، استارتر مزوفیل و رنین میکروبی تهیه می‌شود یکی از محبوب‌ترین و پرمصرف‌ترین پنیرها است. پنیر فتای ایرانی دارای مواد جامد کل (34% وزنی/وزنی)، محتوای پروتئین (حداکثر 11%)، محتوای چربی (حداکثر 15%)، اسیدیته (42) و pH (6/20-6/65) است [3]. پنیر به دلیل ارزش غذایی بالا و وجود باکتری‌های پروبیوتیک در جهان بسیار مورد مصرف قرار گرفته است. این محصول به دلیل رشد پاتوژن‌ها و میکروارگانیسم‌های عامل فساد مانند سودوموناس آئروژینوزا و برخی از گونه‌های پنی‌سیلیوم در سطح آن، فسادپذیر است. بنابراین، پنیر ماندگاری کمی دارد و pH پایین آن با افزودن نمک به افزایش ماندگاری آن تا 1 ماه در دمای یخچال کمک می‌کند [4].

بسته‌بندی پنیر به عنوان یکی از فرآوری‌ها تأثیر مهمی در افزایش ماندگاری پنیر و کیفیت آن دارد. در زمینه بسته‌بندی مواد غذایی، چندین پلیمر مانند پلی‌استایرن و پلی‌اتیلن بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرند که تجزیه‌ناپذیر هستند و باعث نگرانی‌های شدیدی در ارتباط با انسان و محیط زیست می‌شوند؛ این موارد، استفاده بالقوه از فیلم‌ها و پوشش‌های زیست تخریب پذیر را برجسته می‌کند [5].

فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به عنوان یک بسته‌بندی جایگزین از بیوپلیمرها و ترکیبات طبیعی خوراکی ساخته شده‌اند و به راحتی می‌توانند در بسته‌بندی مواد غذایی متعدد استفاده شوند. پوشش‌های خوراکی به عنوان حامل‌های فیزیکی در برابر نفوذ گازهای ساده مانند  $O_2$ ،  $CO_2$ ،  $H_2O$  و اتیلن عمل می‌کنند. علاوه بر این، پوشش‌ها قادر به حمل اجزای زیست فعال مانند عوامل ضد میکروبی (مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، نانوذرات و اسیدهای آلی)، آنتی‌اکسیدان‌ها،

رنگدانه‌ها و طعم دهنده‌ها هستند که می‌توانند ماندگاری را به شدت افزایش دهند و باعث بهبود خواص ارگانولپتیک محصولات پوشش داده شوند [6، 7]. پوشش‌های خوراکی ساخته شده از پروتئین (ژلاتین و ایزوله پروتئین آب پنیر) به دلیل ماهیت آب‌دوست آنها، مانع خوبی در برابر  $O_2$  و  $CO_2$  هستند و می‌توانند بطور مؤثر میزان تنفس میوه‌های کلایماتریک و اکسیداسیون محصولات غذایی روغنی را کاهش دهند [8]. از طرف دیگر، پوشش‌های که از اجزای لیپید تشکیل شده‌اند (موم و پارافین) مانع مناسب‌تری برای نفوذ بخار آب هستند، که می‌تواند از دست دادن آب محصولات بسته‌بندی شده را به شدت کاهش دهد. بنابراین، اکثر پوشش‌های خوراکی از دو مولکول زیستی آب‌دوست و آبگریز تشکیل شده‌اند تا با توجه به ویژگی‌های تغذیه‌ای و حسی آن‌ها در افزایش ماندگاری محصولات بسته‌بندی شده مؤثرتر باشند [9].

با این حال، صنایع غذایی و بسته‌بندی، و همچنین مصرف‌کنندگان، مواد بسته‌بندی خوراکی طبیعی و دارای قابلیت تجزیه بیولوژیکی را می‌خواهند که قادر به افزایش ماندگاری بدون مواد نگهدارنده شیمیایی باشند [10]. پوشش‌های پروتئینی آب پنیر توجه ویژه‌ای به خود جلب کرده‌اند، علاوه بر خوراکی بودن و تجزیه بیولوژیکی، آب پنیر یک محصول جانبی عمده در صنعت پنیر می‌باشد. ایزوله‌های پروتئین آب پنیر (WPI) شکل خالصی از محصولات پروتئینی آب پنیر را نشان می‌دهد [11]. ایزوله‌های پروتئین آب پنیر همراه با مواد افزودنی مختلفی مانند ترکیبات ضد میکروبی باعث می‌شود که با ماندگاری غلظت‌های بالای ماده فعال روی سطح غذا برای مدت طولانی‌تری، ماندگاری و ایمنی مواد غذایی بسته‌بندی شده افزایش یابد [12]. کاربرد پوشش‌های طبیعی به تنهایی و یا توأم با عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند ضمن کاهش اکسیداسیون، گامی مؤثر در بهبود ویژگی‌های میکروبی، حفظ کیفیت ارگانولپتیک و افزایش مدت ماندگاری محصولات غذایی باشد.

از طرفی خواص حسی به ویژه عطر و طعم برای پذیرش مواد غذایی توسط مصرف‌کنندگان از اهمیت زیادی برخوردار است و ممکن است تعیین کننده مصرف یا عدم مصرف یک ماده غذایی باشد. ترکیبات طعم‌دار اغلب جهت بهبود کیفیت

دقیقه قرار گرفت، لخته تشکیل شده به قطعات  $2 \times 2$  سانتی متر برش داده شد و جهت آگیری به مدت 3 ساعت تحت فشار وزنه استریل قرار گرفت. سپس در آب نمک 16% (w/v) استریل به مدت 24 ساعت قرار گرفت. بعد از آن، نمونه‌های پنیر ضمن انتقال به آب نمک 10% پاستوریزه، تا 15 روز در دمای  $15-12^\circ\text{C}$  و پس از طی دوره رسیدن اولیه جهت دوره رسیدن نهایی نمونه‌ها در یخچال به مدت دو ماه در دمای  $^\circ\text{C}$  8 نگهداری شد.

## 2-2- تهیه اسانس روغنی هل

پس از تهیه اسانس روغنی هل از شرکت باریج اسانس (کاشان، ایران)، ترکیبات آن توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی (GC-MS) مورد شناسایی و آنالیز قرار گرفت [13]. دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به ستون HP-5MS، طول ستون 30 متر، قطر 250 میکرومتر و ضخامت 0/25 میکرومتر بود و برای ردیابی از سامانه یونیزاسیون الکترونی با انرژی 70 الکترون ولت استفاده شد. برنامه دمایی ستون بدین صورت بود که دمای اولیه  $60^\circ\text{C}$  به مدت 1 دقیقه و سپس با گرادیان دمایی  $4^\circ\text{C}/\text{min}$  به دمای  $240^\circ\text{C}$  رسانده و به مدت 1 دقیقه در این دما نگهداشته شد. گاز حامل هلیوم 99/99% با شدت جریان 1 میلی متر بر دقیقه و محل تزریق Split با نسبت 1:1 با دمای محل تزریق  $210^\circ\text{C}$  تنظیم شده بود. از نمونه اسانس میزان 1 میکرولیتر به دستگاه تزریق گردید و مدت زمان کل آنالیز 60 دقیقه در نظر گرفته شد.

## 2-3- روش تهیه پوشش خوراکی

پوشش خوراکی مطابق با روش Ramos و همکاران (2012) تهیه شد. 8 گرم پودر ایزوله پروتئین آب پنیر در 92 ml آب مقطر در یک بشر حل شد و در حمام آب گرم تا دمای  $90^\circ\text{C}$  حرارت داده شد، بعد به مدت 45 الی 60 دقیقه در این دما نگهداشته شد. در مدتی که حرارت دید به مقدار 5% گلیسرول (w/w) به عنوان پلاستی‌سایزر و 10% روغن آفتابگردان (w/w) به منظور تقویت خاصیت سد کنندگی در برابر آب اضافه شد. توئین 20 به مقدار 0/2% به عنوان امولسیفایر استفاده شد. بعد از حرارت دهی از حمام آب گرم خارج و در آب یخ قرار داده شد. سپس به مدت 3-4 دقیقه توسط دستگاه

حسی یا پنهان کردن طعم‌های نامطلوب به مواد غذایی اضافه می‌شوند. اسانس‌های مختلف گیاهی مولد عطر و طعم طبیعی بوده که اهمیت زیادی در فرآورده‌های غذایی دارند. هل با نام علمی *Elettaria cardamomum* از تیره زنجبیل و یک گیاه گرمسیری می‌باشد. منشأ هل جنگل‌های کوهستانی هند و سریلانکا است که به‌صورت خودرو در آنجا می‌روید [13، 14]. مواد مؤثره هل جزء گروه روغن‌های فرار است که حاوی الکل می‌باشد. 1 و 8 سینئول و آلفا-ترپنیل استات اصلی‌ترین مواد مؤثره هل بوده که تعیین کننده خواص عطر و طعم دانه‌های هل هستند [14]. دانه‌های هل جزء داروهای معطر بوده و به عنوان محرک، بادشکن و تغییر دهنده و مطبوع کننده طعم داروها و غذاها بکار برده می‌شود. پودر آن خاکستری مایل به قرمز یا قهوه‌ای با طعم گس و تند مانند ادویه می‌باشد [14]. هل دارای خاصیت ضد قارچ، آنتی‌اکسیدان، اثر محافظتی گوارشی و ضد سرطان است [14، 15]. گزارش‌ها نشان داد که اسانس روغنی هل دارای فعالیت بیولوژیکی در برابر عوامل بیماری‌زا است.

با توجه به اهمیت این موضوع هدف از مطالعه حاضر، بسته‌بندی پنیر سفید با استفاده از پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر غنی شده با اسانس روغنی هل جهت ماندگاری بیشتر پنیر و همچنین ایجاد طعم و عطر مطلوب در این فرآورده لبنی می‌باشد.

## 2- مواد و روش کار

### 2-1- تولید پنیر سفید

پنیر سفید طبق روش پنیرسازی UF در شرکت ایلمان شیر واقع در شهرستان شاهین دژ (آذربایجان غربی، ایران) تولید شد. برای تولید پنیر بعد از باکتوفوگاسیون و پاستوریزه شدن شیر در  $76^\circ\text{C}$  تا  $32^\circ\text{C}$  خنک گردید، سپس استارتر تجاری مزوفیل شامل لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه کرموریس و لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه دی‌استیلاکتیس تهیه شده از شرکت هانسن دانمارک به میزان 0/5% به آن اضافه گردید. زمانی که pH پنیر به 6/4-6/2 رسید، رنین به شیر اضافه گردید میزان اضافه کردن رنین 2 کیلوگرم در 100 کیلوگرم ریتتیت بود. سپس پنیر در تونل انعقاد  $37^\circ\text{C}$  برای مدت 30

جهت اندازه‌گیری اندیس پراکسید 2 گرم روغن استخراج شده در یک ارلن 250 ml وزن و 50 ml محلول اسیداستیک به ایزواکتانول با نسبت 3 به 2 (v/v) به آن افزوده شد و پس از حل شدن روغن در حلال با حرکت چرخشی ارلن 0/5 ml محلول دیدید پتاسیم اشباع تازه تهیه شده به آن افزوده گردید. پس از یک دقیقه همزدن ارلن 30 ml آب مقطر افزوده شد. تیتراسیون تا حذف رنگ زرد ید با استفاده از تیوسولفات سدیم 0/1 نرمال انجام شد. پس از افزودن 0/5 ml محلول 10% SDS و 0/5 ml معرف نشاسته، تیتراسیون با استفاده از تیوسولفات سدیم تا حذف رنگ آبی ادامه یافت. تیتراسیون محلول شاهد نیز بدون افزودن روغن انجام و عدد پراکسید مطابق با معادله (1) اندازه‌گیری شد [19].

(معادله 1)

$$PV = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{m}$$

که در آن:

PV: عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در 1000 گرم نمونه روغن

S: حجم محلول تیوسولفات مصرفی بر حسب ml

B: حجم محلول تیوسولفات مصرفی بر حسب ml برای نمونه شاهد

N: نرمالیتته محلول تیوسولفات

m: مقدار نمونه بر حسب گرم.

#### 2-4-4-2- شاخص تیوباربتوریک اسید (TBARS)

یک گرم نمونه پنیر با 100 ml آب مقطر رقیق شد و 5 ml از مخلوط به یک لوله شیشه‌ای سانتیفیوژ اضافه و کاملاً با ml 2/5 معرف TBA (از حل شدن 288/3 میلی‌گرم تیوباربتوریک در 100 ml اسید استیک گلاسیال 90% بدست آمد) مخلوط شد. این مخلوط دقیقاً به مدت 10 دقیقه در یک حمام آب جوش گرم شد و روی یخ سرد گردید. سپس ml 10 سیکلوهگزانون و 1 ml سولفات آمونیوم 4 ml اضافه و سانتیفیوژ شد. ماده رنگی قرمز استخراج شده در بوتانول به کمک دستگاه اسپکتوفتومتری در طول 535 nm میزان جذب محلول قرائت شد [20].

#### 2-4-4-5- تعیین اسیدهای چرب آزاد

جهت تعیین اسیدهای آزاد میزان 0/2 گرم چربی استخراج شده

اولتراتراکس با سرعت 19000 rpm، هموژنیزه گردید [16]. سپس به فرمولاسیون پوشش‌ها اسانس روغنی هل با سطوح غلظتی 1، 1/5 و 2% اضافه شد در ادامه پنیرهای تولید شده بعد از دو روز نگهداری در آب نمک، به روش غوطه‌وری در محلول‌های پوشش‌دهی به مدت 5 دقیقه پوشش داده شد و سپس به مدت 2 دقیقه در دمای اتاق خشک شده و پس از بسته‌بندی در دمای یخچالی نگهداری شدند. شرایط نگهداری نمونه بدون پوشش به‌عنوان نمونه شاهد همانند نمونه‌های پوشش‌دهی شده بود. سپس آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی در روزهای 1، 7، 15، 30 و 60 صورت پذیرفت.

تیمارهای مورد مطالعه:

(1) کنترل (بدون پوشش)

(2) ایزوله پروتئین آب پنیر

(3) ایزوله پروتئین آب پنیر + 1% اسانس روغنی هل

(4) ایزوله پروتئین آب پنیر + 1/5% اسانس روغنی هل

(5) ایزوله پروتئین آب پنیر + 2% اسانس روغنی هل

#### 2-4-2- بررسی ویژگی‌های کیفی پنیر سفید

##### 2-4-2-1- تعیین pH

جهت تعیین میزان pH در نمونه‌های پنیر فرآپالایش تولید شده، pH متر قبل از استفاده با محلول بافر 4 و 7 با دمای مناسب (20 درجه سانتی‌گراد) تنظیم گردید و مقدار pH نمونه‌ها قرائت شد [17].

##### 2-4-2-2- استخراج چربی پنیر سفید

در این روش 2/5 گرم نمونه پنیر را به 50 ml محلول کلروفرم/متانول (1:2 w/w) اضافه و مخلوط شد. سپس ml 10 محلول کلرید کلسیم 1 میلی‌مولار به آن اضافه و به مدت 15 ثانیه یکنواخت‌سازی و سپس به مدت 30 دقیقه در 500 سانتیفیوژ گردید. فاز کلروفرم جدا و به تبخیر کننده ریخته و به باقی‌مانده آن 30 ml کلروفرم افزوده و به مدت 60 ثانیه یکنواخت‌سازی و دوباره به مدت 30 دقیقه در 500 سانتیفیوژ گردید. مجدداً، فاز کلروفرم جدا و به کلروفرمی که در مرحله قبل جدا شده اضافه و در تبخیر کننده تا تبخیر کامل حلال نگهداری شد [18].

##### 2-4-2-3- اندیس پراکسید

رنگ، بو و پذیرش کلی، توسط داوران مورد بررسی قرار گرفت. سپس داده‌های کیفی به داده‌های کمی تبدیل گردید، به این ترتیب که به عبارات بسیار نامطلوب تا بسیار مطلوب، به ترتیب امتیاز 1 تا 5 داده شد.

## 2-7- تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری جهت ارزیابی فاکتورهای مورد بررسی توسط نرم‌افزار SPSS19 انجام و نتایج بصورت میانگین و انحراف معیار برای سه تکرار بیان شد. برای ارزیابی نمونه‌ها از جدول آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA استفاده شد. برای اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن ( $p < 0/05$ ) استفاده شد.

## 3- نتایج و بحث

### 3-1- ترکیبات شیمیایی اسانس روغنی هل

آنالیز ترکیب شیمیایی اسانس روغنی هل نشان داد که هیدروکربن مونوترپن با غلظت‌های نسبتاً پایینی وجود دارد اما اسانس روغنی غنی از مونوترپنوئیدها است. گزارش شده است که در ترکیب شیمیایی گونه‌های مختلف هل، مونوترپن‌ها ترکیبات اصلی هستند [22] مطابق با نتایج در جدول (1)، 24 ترکیب شیمیایی در اسانس روغنی هل شناسایی شد که از بین این ترکیبات، چهار ترکیب اصلی شامل  $\alpha$ -ترپنیل استات (46/705%)، 1,8-سینئول (27/415%)،  $\alpha$ -ترپینئول (4/338%)، لینالیل استات (2/805%) بودند. مطالعه Mejdی و همکارانش (2015) وجود  $\alpha$ -ترپنیل استات (45/6%)، 8,1-سینئول (26%)، لینالیل استات (5/6%) را در اسانس روغنی هل نشان داد [23]. بررسی ترکیبات اسانس هل توسط Mutlu-Ingok و Karbancioglu-Guler (2017) نشان داد که  $\alpha$ -ترپنیل استات (43/4%)، 8,1-سینئول (29/2%)، لینالیل استات (5/7%) ترکیبات اصلی بودند [24]. یکی از ترکیبات عمده شناسایی شده در اسانس هل 8,1-سینئول است که این ترکیب دارای اثرات ضدمیکروبی نسبتاً قوی علیه بسیاری از پاتوژن‌ها و میکروارگانیسم‌های فسادزا، مانند استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، اشیریشیا کلی و باسیلوس سوبتیلیس است [25]. تفاوت در ترکیب شیمیایی اسانس روغنی هل را می‌توان تا حدی به عواملی مانند شرایط محیطی، ویژگی‌های خاک، منشاء جغرافیایی، زمان برداشت و شرایط نگهداری نسبت داد.

از پنیر سفید ایرانی در 50 ml حلال (1:1 اتانول و دی‌اتیل اتر) حل شد. سپس محلول‌های آماده شده با محلول هیدروکسید پتاسیم الکلی 0/05 نرمال تیترا شد. نتایج به صورت میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم در هر گرم چربی پنیر بیان شد. در نهایت از دو معادله (2) و (3) میزان اسیدهای چرب آزاد محاسبه شد [21].

$$\text{Acid Value} = \frac{56.1 \times N \times V}{w} \quad \text{معادله (2)}$$

که در آن:

N: نرمالیت محلول هیدروکسید پتاسیم

V: حجم محلول هیدروکسید پتاسیم مصرفی

w: مقدار چربی بر حسب گرم.

$$\text{FFA} = \text{Acid value} \times \frac{1}{2} \quad \text{معادله (3)}$$

### 2-5- آزمون میکروبی

ابتدا 5 گرم از پنیر تولید شده به 45 ml محلول سیترات سدیم 2 w/v % استریل اضافه شد و به مدت 1/5 دقیقه در استومیکر 260 rpm هم‌وزن گردید. سپس محلول حاصل به عنوان رقت  $10^{-1}$  برای تهیه رقت‌های بعدی استفاده گردید. برای رقت‌های بعدی  $10^{-2}$  تا  $10^{-7}$  در لوله‌های حاوی 90 ml سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید. سپس از هر رقت تهیه شده به میزان 0/1 ml توسط سمپلر بصورت کشت آمیخته در محیط‌های کشت پلیت کانت آگار، سابروکستروز آگار و MRS-Agar به ترتیب، برای شمارش کلی باکتری‌ها، کپک و مخمر و باکتری‌های لاکتیک اسید منتقل شد. سپس محیط‌های کشت تلقیح شده برای شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری‌های لاکتیک اسید در دمای  $30^\circ\text{C}$  جهت رشد باکتری‌ها به مدت  $72 \pm 3$  ساعت و محیط‌های کشت تلقیح شده برای کپک و مخمر در دمای  $25^\circ\text{C}$  جهت رشد باکتری‌ها به مدت 6 روز گرمخانه‌گذاری شد [16].

### 2-6- ارزیابی حسی

برای مشخص کردن میزان مقبولیت کلی محصول توسط مصرف‌کنندگان از 10 ارزیاب (5 زن و 5 مرد) آموزش دیده برای انجام آزمون استفاده شد و از آن‌ها خواسته شد که به نمونه‌ها، صفت‌های کلی لذت بخشی (هدونیک 5 نقطه‌ای) از بسیار مطلوب تا بسیار نامطلوب امتیاز دهند. خواص حسی

**Table 1** Chemical compounds identified in cardamom essential oil by GC-MS

Chemical compounds	Retention Time (min)	Abundance (%)
D-Limonene	7.07	1.66
$\alpha$ -Pinene	9.71	0.745
1-Terpineol	10.63	0.08
Sabinene	11.33	1.855
$\beta$ -Myrcene	12.15	0.96
Linalyl Propionate	12.57	0.19
1,8-Cineole	14.4	27.415
Nerol	14.77	0.06
$\gamma$ -Terpinene	15.24	0.46
cis-sabinene hydrate	15.46	0.18
Geraniol	15.87	1.375
$\alpha$ -Terpynolene	16.49	0.30
E-Citral	16.57	0.21
Linalool	17.52	6.17
Neryl Acetate	20.33	0.14
4-Terpineol	20.47	1.86
$\alpha$ -Terpineol	21.18	4.338
Linalyl acetate	24.32	2.805
$\alpha$ -Terpenyl acetate	29.54	46.705
Geranyl acetate	29.96	0.735
trans-Caryophyllene	31.5	0.09
$\beta$ -Selinene	34.04	0.45
$\gamma$ -Cadinene	35.06	0.17
Feranesol	37.18	1.045

تمام نمونه‌ها pH (4/39±0/05) مشاهده شد. مطابق با نتایج،

در طی مدت نگهداری کاهش یافته است؛ که این کاهش در نمونه شاهد طی 60 روز معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ )، اما سایر نمونه‌های با پوشش خوراکی طی مدت نگهداری کاهش معنی‌داری نداشتند.

### 2-3- تغییرات pH

نتایج تغییرات میزان pH در نمونه‌های پنیر سفید طی مدت نگهداری در جدول (2) گزارش شده است. نتایج نشان داد که بالاترین میزان pH در روز اول در محدوده 4/68-4/74 بود و پائین‌ترین میزان pH در روز 60 نگهداری در نمونه شاهد

**Table 2** Effect of edible coating and storage time on pH changes of white cheese samples\*

Treatment	Day 1	Day 7	Day 15	Day 30	Day 60
Control	4.74±0.1 <sup>aA**</sup>	4.62±0.13 <sup>abA</sup>	4.47±0.07 <sup>bcB</sup>	4.42±0.04 <sup>cB</sup>	4.39±0.05 <sup>cB</sup>
WPI	4.7±0.04 <sup>aA</sup>	4.67±0.04 <sup>aA</sup>	4.69±0.005 <sup>aA</sup>	4.62±0.1 <sup>aA</sup>	4.59±0.09 <sup>aAB</sup>
WPI-1% CEO	4.68±0.13 <sup>aA</sup>	4.65±0.12 <sup>aA</sup>	4.62±0.08 <sup>aA</sup>	4.62±0.08 <sup>aA</sup>	4.6±0.12 <sup>aAB</sup>
WPI-1.5% CEO	4.71±0.06 <sup>aA</sup>	4.71±0.08 <sup>aA</sup>	4.67±0.09 <sup>aA</sup>	4.63±0.11 <sup>aA</sup>	4.6±0.11 <sup>aAB</sup>
WPI-2% CEO	4.72±0.1 <sup>aA</sup>	4.66±0.06 <sup>aA</sup>	4.66±0.09 <sup>aA</sup>	4.64±0.1 <sup>aA</sup>	4.64±0.05 <sup>aA</sup>

\*Data are reported in three replications in terms of (Mean ± SD value).

\*\* The similar small letters (a-c) in each row and the similar capital letters (A-B) in each column indicate a significant no difference ( $p < 0.05$ ) based on the Duncan test between the data.

(WPI): whey protein isolate edible coating; (WPI-1% CEO): whey protein isolate edible coating + 1% cardamom essential oil; (WPI-1.5% CEO): whey protein isolate edible coating + 1.5% cardamom essential oil; (WPI-2% CEO) whey protein isolate edible coating + 2% cardamom essential oil.

رسیدن پنیر، فعالیت آنزیم‌ها، سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی و در رشد سایر میکروارگانیسم‌ها دارد. از طرفی می‌توان اظهار کرد که کاهش pH طی مدت زمان نگهداری به علت کامل شدن فرآیند تخمیر لاکتوز و آزاد شدن آمینو اسیدها و اسیدهای چرب است که به دنبال پروتئولیز و لیپولیز می‌باشد.

در طول فرآیند تولید پنیر به دلیل فعالیت استارترها و تولید اسید لاکتیک به‌ویژه در روزهای نخست نگهداری جهت رسیدن محصول، شاهد افت pH خواهیم بود که این کاهش در روزهای نخست سریع‌تر بوده و در ادامه این تغییرات با شدت کمتری اتفاق می‌افتد [26]. تغییرات pH اثرات مهمی بر

هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه اکسیداسیون لیپیدی است [28]. محصولی با مقدار پراکسید بین  $1 \text{ O}_2/\text{kg}$  تا  $5 \text{ O}_2/\text{kg}$  در حالت اکسیداسیون کم و بین  $10 \text{ meq O}_2/\text{kg}$  تا  $5$  در اکسیداسیون متوسط و بالای  $10 \text{ meq O}_2/\text{kg}$  در اکسیداسیون بالا طبقه‌بندی می‌شود [29]. نتایج نشان داد که پائین‌ترین میزان پراکسید در روز اول در محدوده  $0/48-0/51 \text{ O}_2/\text{kg}$  بود و بالاترین میزان پراکسید در روز 60 نگهداری در نمونه شاهد ( $2/12 \pm 0/07 \text{ meq O}_2/\text{kg}$ ) مشاهده شد. مطابق با نتایج، میزان پراکسید تمام نمونه‌ها در طی مدت نگهداری افزایش معنی‌داری داشتند؛ اما این افزایش در نمونه شاهد طی 60 روز نگهداری بیش‌تر از سایر نمونه‌ها بود. در بین تیمارها در روز اول، هفتم و 15ام نگهداری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما در روز 30 و 60ام نگهداری بین تیمارها اختلاف معنی‌داری بود. کم‌ترین میزان پراکسید در روز 30 و 60ام نگهداری نمونه پنیر پوشش شده با 2٪ اسانس روغنی هل، به ترتیب به میزان  $0/64 \pm 0/02$  و  $0/97 \pm 0/21$  بود (جدول 3).

اثرات پوشش خوراکی بر پایه کیتوزان و ناتامایسین بر روی pH پنیرهای اولترافیلتراسیون در طول نگهداری نشان داد که برای هر دو نمونه پوشش داده شده و نمونه شاهد، pH نمونه‌ها کاهش یافته است؛ با این حال، تفاوت غیرمعنی‌داری بین مقادیر pH پنیرهای پوشش داده شده و شاهد در طول نگهداری وجود داشت [26]. در مطالعه‌ای میزان pH نهایی برای پنیر شاهد  $5/7 \pm 0/1$ ، برای پنیر با پوشش کازئینات سدیم- کیتوزان  $6/0 \pm 0/0$  و برای پنیر پوشش داده شده با پوشش کازئینات سدیم- کیتوزان غنی شده با نانوذرات سیلیس مزوپور و اسانس پونه کوهی  $6/2 \pm 0/1$  بود، که اختلاف معنی‌داری را در هر روز نگهداری بین سه تیمار نشان داد [27]. نمونه‌های پنیر پوشش داده شده با عوامل ضد میکروبی کاهش کمتری در میزان pH طی دوره نگهداری دارند، عوامل ضد میکروبی رشد باکتری‌های تولید کننده لاکتیک اسید را کاهش می‌دهند.

### 3-3- تغییرات عدد پراکسید (PV)

شاخص پراکسید یکی از پارامترهایی است که برای تعیین تند شدن اکسیداتیو استفاده می‌شود. این معیار غلظت پراکسیدها و

**Table 3** Effect of edible coating and storage time on PV changes of white cheese samples\*

Treatment	Day 1	Day 7	Day 15	Day 30	Day 60
Control	$0.51 \pm 0.03^{dA**}$	$0.8 \pm 0.27^{cdA}$	$1.05 \pm 0.15^{cA}$	$1.56 \pm 0.33^{bA}$	$2.12 \pm 0.07^{aA}$
WPI	$0.49 \pm 0.01^{cA}$	$0.76 \pm 0.37^{bcA}$	$0.91 \pm 0.49^{bcA}$	$1.17 \pm 0.26^{abB}$	$1.73 \pm 0.24^{aB}$
WPI-1% CEO	$0.49 \pm 0.02^{bA}$	$0.69 \pm 0.33^{bA}$	$0.82 \pm 0.51^{bA}$	$0.89 \pm 0.15^{bBC}$	$1.44 \pm 0.04^{aBC}$
WPI-1.5% CEO	$0.5 \pm 0.02^{bA}$	$0.61 \pm 0.27^{bA}$	$0.68 \pm 0.28^{bA}$	$0.74 \pm 0.03^{bC}$	$1.21 \pm 0.1^{aCD}$
WPI-2% CEO	$0.48 \pm 0.2^{bA}$	$0.52 \pm 0.04^{bA}$	$0.58 \pm 0.02^{bA}$	$0.64 \pm 0.02^{bC}$	$0.97 \pm 0.21^{aD}$

\*Data are reported in three replications in terms of (Mean  $\pm$  SD value).

\*\* The similar small letters (a-d) in each row and the similar capital letters (A-D) in each column indicate a significant no difference ( $p < 0.05$ ) based on the Duncan test between the data.

(WPI): whey protein isolate edible coating; (WPI-1% CEO): whey protein isolate edible coating + 1% cardamom essential oil; (WPI-1.5% CEO): whey protein isolate edible coating + 1.5% cardamom essential oil; (WPI-2% CEO) whey protein isolate edible coating + 2% cardamom essential oil.

تولید محصولات اکسیداسیون لیپید اولیه در این نوع پنیر جلوگیری کند [21].

### 3-4- تغییرات شاخص تیوباریتوریک اسید (TBARS)

مقدار شاخص تیوباریتوریک اسید شاخصی از محصولات اکسیداسیون ثانویه مانند مالون دی‌آلدئید (MDA) است که در طی واکنش اکسیداسیون لیپید تشکیل می‌شود [31].

نتایج نشان داد که میزان تیوباریتوریک اسید در روز اول کم‌ترین میزان را به خود اختصاص داد و این میزان در بازه  $0/173-0/196 \text{ mg MDA/kg}$  بود. مطابق با نتایج به‌دست

پنیر سفید حاوی اسیدهای چرب است که در طی نگهداری می‌تواند دچار اکسیداسیون گردد. اما با توجه به نتایج، میزان پراکسید در تمام نمونه‌های تیمار شده و نمونه شاهد در محدوده  $1 \text{ meq O}_2/\text{kg}$  تا 5 بودند که نشان دهنده شرایط مناسب فرآوری و نگهداری بود که میزان کمتر در نمونه‌های پنیر پوشش شده با اسانس روغنی هل بیان کننده تأثیر مثبت این بسته‌بندی می‌باشد. کاهش در مقدار پراکسید انتظار می‌رفت زیرا اسانس روغنی هل غنی از آنتی‌اکسیدان است که می‌تواند با رادیکال‌ها واکنش داده و در نتیجه از تشکیل پراکسید جلوگیری کند [30]. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که پوشش پروتئین آب پنیر حاوی سیستم لاکتوپراکسیداز و اسانس زیره سیاه بر روی پنیر گودا توانست به‌طور مؤثری از

1. Malondialdehyde (MDA)

60مگم نگهداری نمونه پنیر پوشش شده با 1/5 و 2% اسانس روغنی هل، به ترتیب دارای میزان تیوباریتوریک اسید 1/466±0/12 MDA/kg و 1/238±0/16 بودند و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول 4).

آمده میزان تیوباریتوریک اسید تمام نمونه‌ها در طی مدت نگهداری افزایش معنی‌داری داشتند. در بین تیمارها در روز اول نگهداری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما در سایر روزهای نگهداری بین تیمارها اختلاف معنی‌داری بود. در روز

**Table 4** Effect of edible coating and storage time on TBA changes of white cheese samples\*

Treatment	Day 1	Day 7	Day 15	Day 30	Day 60
Control	0.194±0.01 <sup>eA**</sup>	0.586±0.1 <sup>dA</sup>	1.119±0.1 <sup>cA</sup>	1.694±0.04 <sup>bA</sup>	2.141±0.01 <sup>aA</sup>
WPI	0.173±0.01 <sup>eA</sup>	0.501±0.12 <sup>dAB</sup>	0.962±0.03 <sup>cAB</sup>	1.408±0.19 <sup>bAB</sup>	1.638±0.14 <sup>aB</sup>
WPI-1% CEO	0.185±0.007 <sup>dA</sup>	0.454±0.1 <sup>dABC</sup>	0.839±0.11 <sup>cBC</sup>	1.236±0.2 <sup>bBC</sup>	1.692±0.33 <sup>aB</sup>
WPI-1.5% CEO	0.196±0.01 <sup>dA</sup>	0.339±0.19 <sup>cdBC</sup>	0.648±0.26 <sup>bcCD</sup>	0.783±0.25 <sup>bd</sup>	1.466±0.12 <sup>aBC</sup>
WPI-2% CEO	0.184±0.006 <sup>dA</sup>	0.256±0.01 <sup>cdC</sup>	0.477±0.09 <sup>cd</sup>	0.873±0.23 <sup>bCD</sup>	1.238±0.16 <sup>aC</sup>

\*Data are reported in three replications in terms of (Mean ± SD value).

\*\* The similar small letters (a-e) in each row and the similar capital letters (A-D) in each column indicate a significant no difference (p<0.05) based on the Duncan test between the data.

(WPI): whey protein isolate edible coating; (WPI-1% CEO): whey protein isolate edible coating + 1% cardamom essential oil; (WPI-1.5% CEO): whey protein isolate edible coating + 1.5% cardamom essential oil; (WPI-2% CEO) whey protein isolate edible coating + 2% cardamom essential oil.

کمترین میزان اسیدهای چرب آزاد در روز اول مشاهده شد و این میزان در بازه 0/318-0/355 بود و بالاترین میزان اسیدهای چرب آزاد برای روز 60 در محدوده 0/533-0/833 بود. مطابق با نتایج میزان اسیدهای چرب آزاد تمام نمونه‌ها در طی مدت نگهداری افزایش معنی‌داری داشتند؛ اما این افزایش در نمونه شاهد طی 60 روز نگهداری بیش‌تر از سایر نمونه‌ها بود. در بین تیمارها در روز اول، هفتم و 15مگم نگهداری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما در روزهای 30 و 60مگم نگهداری بین تیمارها با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری بود.

مطابق با نتایج در روز پایان نگهداری سه نمونه پنیر سفید پوشش شده با ایزوله پروتئین آب پنیر غنی شده با 1، 1/5 و 2 % اسانس روغنی هل کم‌ترین میزان اسیدهای چرب آزاد را داشتند که نشان دهنده اثر بازدارندگی پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر غنی شده با اسانس روغنی هل بر لیپولیز توسط استارترها می‌باشد. در پنیر، اسیدهای چرب آزاد در نتیجه هیدرولیز تری‌گلیسیرید عوامل کاتالیزوری شامل رطوبت، لیپازها، دمای ذخیره‌سازی، یون‌های فلزی تولید می‌شوند. کمترین مقدار اسیدهای چرب آزاد در نمونه پنیر گودای پوشش شده با پروتئین آب پنیر حاوی 0/5% اسانس زیره سیاه و پنیر پوشش شده با پروتئین آب پنیر حاوی 5 % لاکتوپراکسیداز + 0/5% اسانس زیره سیاه مشاهده شد [21]. بر اساس نتایج مطالعات نمونه‌های پوشش‌داده‌شده با مواد ضد میکروبی، این ترکیبات عمدتاً رشد میکروبی را در سطحی که روی آن اعمال می‌شوند کنترل می‌کنند، بنابراین بر شاخص‌های رسیدن تأثیر می‌گذارند.

تأثیر پوشش خوراکی سدیم آلزینات همراه با سطوح مختلف اسانس گیاهی *Pimpinella saxifraga* نشان داد که مقدار MDA در طول زمان نگهداری از 19/5 µg MDA/100g در روز 4 به 43/7 µg MDA/100g در روز 10 در پنیر بدون پوشش افزایش یافت، در حالی که از 34 µg MDA/100g در پنیر پوشش شده با آلزینات سدیم افزایش نیافت، همچنین پنیر پوشش داده شده با سدیم آلزینات حاوی 3 % اسانس کمترین مقادیر MDA (µg) 10/5، 8/5 و 11/7 در روزهای 4، 7 و 10 نگهداری) را دارد [32]. Vital و همکاران (2016) نشان دادند که پوشش‌های آلزینات غنی شده با اسانس پونه کوهی و رزماری، پراکسیداسیون لیپیدی گوشت گاو را به ترتیب 47 و 39 % کاهش می‌دهد [33]. این یافته‌ها حاکی از آن است که اسانس‌های گیاهی قادر هستند از اکسیداسیون لیپید در مواد غذایی جلوگیری کنند، علت اصلی آن وجود ترکیبات فنلی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برجسته است.

### 3-5- تغییرات اسیدهای چرب آزاد (FFA)

مقدار اسیدهای چرب آزاد در پنیر نشان دهنده توسعه لیپولیز است. لیپولیز نقش مهمی در ایجاد طعم پنیر دارد. در طی تهیه و رسیدن پنیر، چربی شیر توسط لیپاز طبیعی شیر، آنزیم‌های لیپولیتیک باکتری‌های شروع کننده و غیر شروع کننده و لیپاز باکتری‌های سرمادوست هیدرولیز می‌شود. لیپازهای طبیعی شیر به گرما حساس هستند، بنابراین در پنیرهای تهیه شده از شیر پاستوریزه غیر فعال هستند [34]. بر اساس نتایج (جدول 5)



**Table 5** Effect of edible coating and storage time on FFA changes of white cheese samples\*

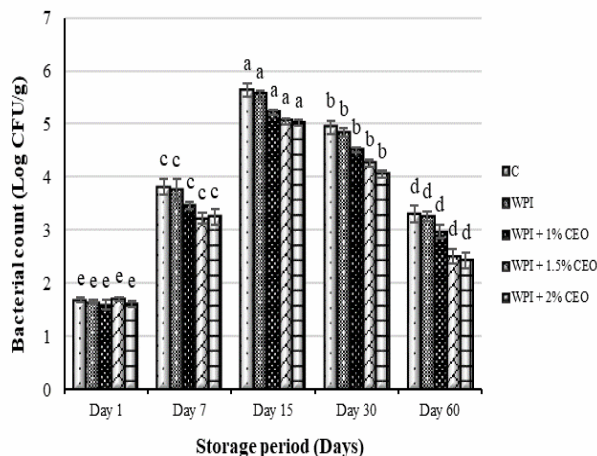
Treatment	Day 1	Day 7	Day 15	Day 30	Day 60
Control	0.355±0.01 <sup>dA**</sup>	0.546±0.05 <sup>cA</sup>	0.598±0.1 <sup>bcA</sup>	0.713±0.08 <sup>abA</sup>	0.833±0.09 <sup>aA</sup>
WPI	0.318±0.06 <sup>dA</sup>	0.477±0.09 <sup>abA</sup>	0.525±0.1 <sup>aA</sup>	0.616±0.09 <sup>aAB</sup>	0.683±0.16 <sup>aAB</sup>
WPI-1% CEO	0.331±0.06 <sup>dA</sup>	0.448±0.11 <sup>abA</sup>	0.481±0.12 <sup>abA</sup>	0.561±0.2 <sup>aAB</sup>	0.614±0.08 <sup>abB</sup>
WPI-1.5% CEO	0.351±0.07 <sup>dA</sup>	0.428±0.09 <sup>abA</sup>	0.436±0.1 <sup>abA</sup>	0.536±0.12 <sup>aAB</sup>	0.583±0.05 <sup>abB</sup>
WPI-2% CEO	0.32±0.04 <sup>dA</sup>	0.375±0.08 <sup>abA</sup>	0.412±0.07 <sup>abA</sup>	0.47±0.09 <sup>abB</sup>	0.533±0.12 <sup>abB</sup>

\*Data are reported in three replications in terms of (Mean ± SD value).

\*\* The similar small letters (a-d) in each row and the similar capital letters (A-B) in each column indicate a significant no difference ( $p < 0.05$ ) based on the Duncan test between the data.

(WPI): whey protein isolate edible coating; (WPI-1% CEO): whey protein isolate edible coating + 1% cardamom essential oil; (WPI-1.5% CEO): whey protein isolate edible coating + 1.5% cardamom essential oil; (WPI-2% CEO) whey protein isolate edible coating + 2% cardamom essential oil.

وجود داشت، اما تعداد آنها کمتر از پنیر شاهد بود؛ که وجود ترکیبات فنولیک عصاره پوست انار را مسئول فعالیت ضد میکروبی فیلم خوراکی زئین بیان کردند [35]. در همین راستا کاهش رشد باکتری در نمونه‌های پنیر با سه نوع پوشش خوراکی پروبیوتیک با ترکیبات کیتوزان، کربوکسی متیل سلولز و سدیم آلزینات نسبت به نمونه پنیر شاهد گزارش شده است، بطوری که تعداد باکتری‌های هوازی به ترتیب  $\log$  CFU/g) 4/10 و 4/64، 4/20، 5/06 شده با کیتوزان، کربوکسی متیل سلولز و سدیم آلزینات در 45 روز رسید [36].



**Fig 1** Bacterial count of white cheese samples with edible coating during storage

Different small letters (a-e) indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ) during the storage period.

انتشار مواد ضد میکروبی از ماتریس پلیمری به سطح ماده غذایی به صورت آهسته و در زمان طولانی انجام می‌شود و در نتیجه برای مدت طولانی غلظت بالای از ماده ضد میکروبی در سطح فرآورده وجود خواهد داشت. مواد ضد میکروبی با کاهش سرعت رشد و طولانی کردن فاز تأخیری

### 3-6-آزمون‌های میکروبی

#### 3-6-1-شمارش کلی باکتری‌ها

تأثیر نوع پوشش خوراکی و زمان ذخیره‌سازی (60 روز) نمونه‌های پنیر سفید بر شمارش کلی باکتری‌ها در شکل (1) ارائه شده است. جمعیت این باکتری‌ها در روز 60 نگهداری نسبت به روز اول افزایش معنی‌داری داشته است. شمارش باکتری کل تا روز 15<sup>ام</sup> نگهداری افزایش و سپس کاهش یافته است اما با اینحال در روز پایان نگهداری جمعیت این باکتری‌ها نسبت به روز اول بالاتر بوده است و تمام این تغییرات طی دوره نگهداری معنی‌دار بوده است. در بررسی تأثیر نوع پوشش خوراکی مشاهده شد که نمونه‌های پنیر سفید با پوشش خوراکی غنی شده با سطوح مختلف اسانس روغنی هل کم‌ترین جمعیت باکتری‌ها را داشته و با دو تیمار شاهد و پوشش ایزوله پروتئین آب پنیر اختلاف معنی‌داری داشته است. بالاترین و پائین‌ترین جمعیت باکتری در روز پایان نگهداری به ترتیب، در نمونه شاهد ( $3/301 \pm 0/16 \text{ Log cfu/g}$ ) و نمونه پنیر سفید با پوشش غنی شده با 2% اسانس روغنی هل ( $\text{Log}$   $2/431 \pm 0/56 \text{ cfu/g}$ ) بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس روغنی هل در پوشش خوراکی میزان رشد باکتری طی دوره نگهداری کاهش بیشتری داشته است؛ که این امر را می‌توان به ترکیبات عمده از جمله  $\alpha$ -ترپنیل استات (705/46%) و 1,8-سینئول (27/415%) موجود در اسانس هل نسبت داد.

نتایج مطالعه‌ای نشان داد که با افزایش غلظت عصاره پوست انار (25، 50 و 75 میلی‌گرم) در فیلم خوراکی زئین، شمارش باکتری‌های کل پنیر تا روز 15<sup>ام</sup> نگهداری کاهش یافت، با این‌حال، افزایش پس از 15 روز نگهداری در جمعیت آنها

بودند ولی جمعیت آنها در روز 60 نگهداری در دو نمونه شاهد و نمونه پنیر با پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر نسبت به روز اول افزایش معنی‌داری داشته است، در واقع از روز 15<sup>ام</sup> نگهداری رشد کپک و مخمر در این دو نمونه تا پایان نگهداری مشاهده شد. نتایج مطالعه نشان داد که هیچ رشد کپک و مخمر در پنیر با پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر حاوی سطوح مختلف اسانس روغنی هل مشاهده نشد (جدول 6).

میکروارگانسیم‌ها و یا غیرفعال کردن و نابودی میکروب‌ها باعث افزایش ماندگاری فرآورده‌های غذایی می‌شوند [37].

### 3-6-2- شمارش کپک و مخمر

عمده مشکل میکروبی پنیر فرآپالایش، رشد کپک و مخمر در سطح پنیر و تولید لکه‌های رنگی می‌باشد که در صورت مهار رشد کپک و مخمر می‌توان ماندگاری پنیر را به بیش از دو ماه افزایش داد [17]. در بررسی تأثیر زمان نگهداری مشاهده شد که در روز اول و هفتم تمام تیمارها بدون رشد کپک و مخمر

**Table 6** Effect of edible coating and storage time on mold & yeast growth of white cheese samples\*

Treatment	Day 1	Day 7	Day 15	Day 30	Day 60
Control	0 <sup>dA**</sup>	0 <sup>dA</sup>	1.068±0.17 <sup>cA</sup>	1.75±0.5 <sup>bA</sup>	4.139±0.09 <sup>aA</sup>
WPI	0 <sup>dA</sup>	0 <sup>dA</sup>	0.405±0.15 <sup>eB</sup>	1.169±0.08 <sup>bB</sup>	2.171±0.21 <sup>aB</sup>
WPI-1% CEO	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aC</sup>	0 <sup>aC</sup>	0 <sup>aC</sup>
WPI-1.5% CEO	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aC</sup>	0 <sup>aC</sup>	0 <sup>aC</sup>
WPI-2% CEO	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aC</sup>	0 <sup>aC</sup>	0 <sup>aC</sup>

\*Data are reported in three replications in terms of (Mean ± SD value).

\*\* The similar small letters (a-d) in each row and the similar capital letters (A-C) in each column indicate a significant no difference ( $p < 0.05$ ) based on the Duncan test between the data.

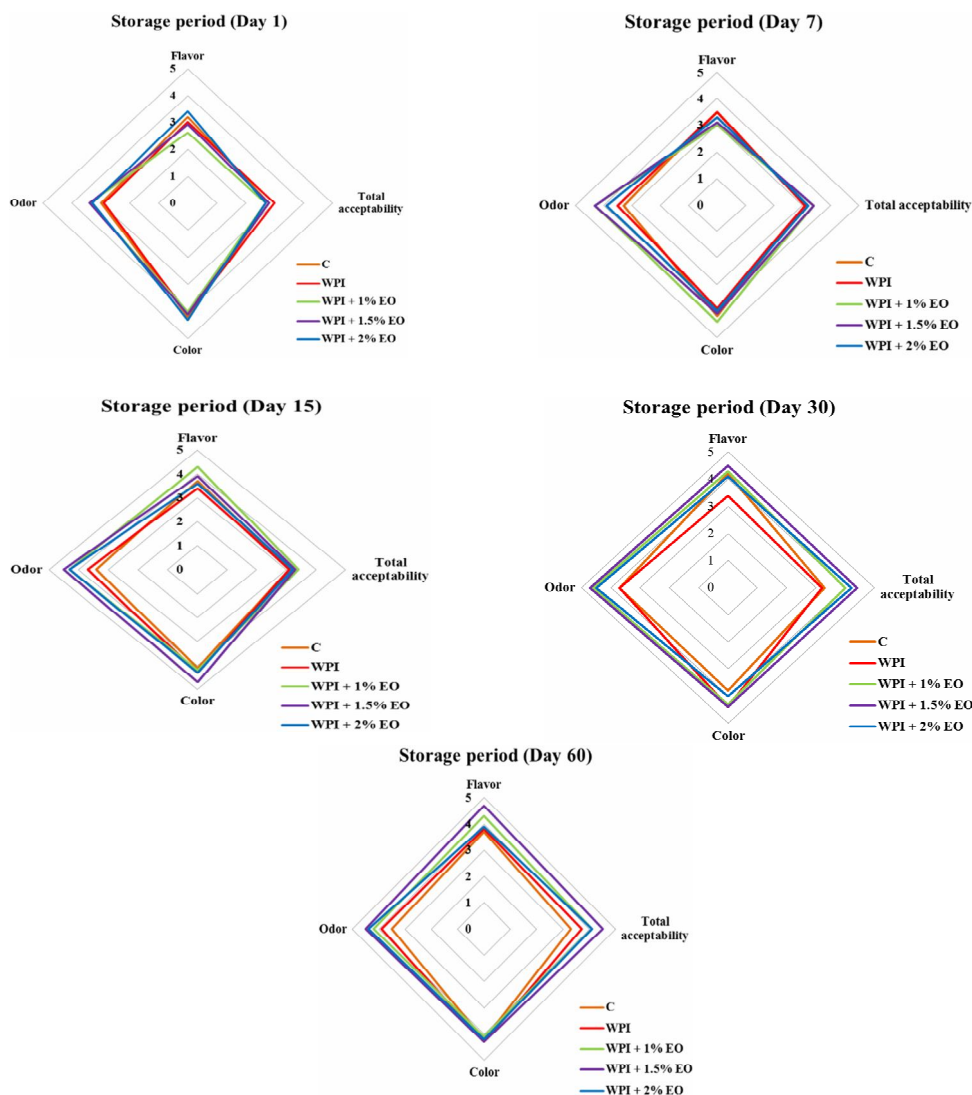
(WPI): whey protein isolate edible coating; (WPI-1% CEO): whey protein isolate edible coating + 1% cardamom essential oil; (WPI-1.5% CEO): whey protein isolate edible coating + 1.5% cardamom essential oil; (WPI-2% CEO) whey protein isolate edible coating + 2% cardamom essential oil.

حیوانات، محیط تولید شیر و تکنولوژی‌های فرآوری و ویژگی‌های شیمیایی و میکروبیولوژیکی مواد خام مورد استفاده قرار می‌گیرد [40]. کیفیت و ترکیب شیر خام یکی از عوامل اصلی تعیین کننده عملکرد و کیفیت پنیر است. طعم پنیر از یک سری واکنش‌های پیچیده ناشی می‌شود که شامل متابولیسم میکروبی و واکنش‌های آنزیمی، از جمله پروتئولیز پروتئین‌ها، لیپولیز چربی‌ها و تخمیر کربوهیدرات‌ها می‌شود [41]. نتایج ارزیابی حسی (پارامترهای طعم، بو، رنگ و مقبولیت کلی) نمونه‌های پنیر سفید پوشش شده با پوشش ایزوله پروتئین آب پنیر با سطوح مختلف اسانس روغنی هل طی 60 روز نگهداری در شکل (2) نشان داده شده است. بر اساس نتایج ارزیابی حسی، بالاترین امتیاز طعم (4/7±0/48)، بو (4/7±0/48) و مقبولیت کلی (4/5±0/52) به نمونه پنیر سفید با پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر غنی شده با 1/5% اسانس روغنی هل تعلق داشت که با سایر نمونه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود. نتایج ارزیابی حسی رنگ طی دوره نگهداری نشان داد که رنگ نمونه‌های پنیر اختلاف معنی‌داری با هم نداشته و حتی نوع پوشش خوراکی مورد استفاده در رنگ نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرده است.

در مطالعه‌ای نشان داده شد که تعداد کل کپک و مخمر در پنیر با فیلم زئین غنی شده با سطوح مختلف عصاره پوست انار به‌طور قابل توجهی کاهش یافته و در پایان نگهداری به صفر رسید، همچنین از 15 روز به بعد هیچ رشد کپک و مخمر در پنیر بسته‌بندی شده با 50 mg و 75 عصاره پوست انار مشاهده نشد اما برای پنیر بسته‌بندی شده در فیلم بدون عصاره پوست انار، تعداد کپک و مخمر در طول نگهداری افزایش یافت [35]. مخمر و کپک در تمام تیمارهای پنیر حاوی عصاره پوست انار و پوست لیمو تا روز 21<sup>ام</sup> نگهداری بجز پنیر شاهد که حاوی بالاترین تعداد مخمر و کپک بود، شناسایی نشد؛ در حالی که پنیرهای غنی شده با عصاره پوست انار و پوست لیمو کمترین میزان مخمر و کپک را در پایان دوره نگهداری داشتند [38]. در مطالعه‌ای تأثیر افزودن سه نوع پودر گیاهی از جمله پودر هل (0/1 و 0/2%)، پودر آویشن (0/1 و 0/15%) و پودر میخک (0/1 و 0/2%) به پنیر بر روی بازدارندگی رشد کپک و مخمر مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که افزودن پودر هل بیشترین تأثیر را بر مهار رشد کپک و مخمر طی دوره نگهداری 45 روزه داشته است [39].

### 3-6-3- ارزیابی حسی نمونه‌های پنیر سفید

کیفیت حسی پنیر تحت تأثیر تعدادی از عوامل از جمله ژنتیک



ارزیابی حسی می‌توان بیان کرد که پوشش خوراکی بر روی خواص حسی پنیر سفید تأثیر مثبتی داشته ولی پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر حاوی 1/5% اسانس روغنی هل خصوصیات حسی مطلوب‌تری نسبت به سایر پوشش‌ها نشان داد. به‌طور کلی، ارزیابی حسی پنیر سفید نشان داد که پوشش خوراکی ایزوله پروتئین آب پنیر با افزودن اسانس روغنی هل می‌تواند به عنوان یک ماده بسته‌بندی جدید برای پنیر سفید با ایجاد خصوصیات حسی مطلوب استفاده شود.

#### 4- نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پوشش خوراکی مورد استفاده برای پنیر سفید باعث کنترل اکسیداسیون چربی، کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها

بر اساس نتایج، نمونه‌های پنیر سفید در طی دوره نگهداری، مطلوبیت پارامتر طعم و بو افزایش یافت، بنابراین ایجاد پوشش خوراکی باعث جلوگیری از ایجاد طعم نامطلوب شده و استفاده از اسانس روغنی هل در افزایش این مطلوبیت می‌تواند تأثیرگذار باشد. یافته‌های مطالعه در مورد اثرات حسی مثبت استفاده از اسانس روغنی هل در پوشش خوراکی جهت افزایش ماندگاری و ایجاد مطلوبیت حسی در پنیر سفید با نتیجه Saravani و همکاران (2019) مبنی بر استفاده از اسانس زیره سیاه در پوشش پروتئین آب پنیر حاوی لاکتوپراکسیداز مطابقت دارد. آنها در مطالعه خود دریافتند که نمونه‌های پنیر پوشش داده شده با پروتئین آب پنیر و اسانس زیره سیاه دارای امتیاز رنگ، بو، طعم و مقبولیت کلی بالاتری نسبت به پنیر شاهد بودند [21]. با توجه به نتایج در

- response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2012. 36(3): p. 252-261.
- [9] Jafarizadeh, M.H., et al., Development of an edible coating based on chitosan-glycerol to delay Berangan banana (*Musa sapientum* cv. Berangan) ripening process. *International food research journal*, 2011. 18.(۳)
- [10] Khezerlou, A., et al., Plant gums as the functional compounds for edible films and coatings in the food industry: A review. *Polymers for Advanced Technologies*, 2021. 32(6): p. 2306-2326.
- [11] Sani, M.A., et al., Recent advances in the development of smart and active biodegradable packaging materials. *Nanomaterials*, 2021. 11(5): p. 1331.
- [12] Yong, H. and J. Liu, Active packaging films and edible coatings based on polyphenol-rich propolis extract: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021. 20(2): p. 2106-2145.
- [13] Noumi, E., et al., Chemical and biological evaluation of essential oils from cardamom species. *Molecules*, 2018. 23(11): p. 2818.
- [14] Ahmed, H.M., et al., Phytochemical screening, chemical composition and antimicrobial activity of cinnamon verum bark. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 2020: p. 36-43.
- [15] Sultana, S., F. Ripa, and K. Hamid, Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. *Pakistan journal of biological sciences*, 2010. 13(7): p. 340.
- [16] Ramos, O.L., et al., Edible films and coatings from whey proteins: a review on formulation, and on mechanical and bioactive properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2012. 52(6): p. 533-552.
- [17] Nottagh, S., et al., Development of a biodegradable coating formulation based on the biological characteristics of the Iranian Ultra-filtrated cheese. *Biologia*, 2018. 73(4): p. 403-413.
- [18] Torabi, F., H. Jooyandeh, and M. Noshad, Evaluation of physicochemical, rheological, microstructural, and microbial characteristics of synbiotic ultrafiltrated white cheese treated with transglutaminase. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021. 45(6): p. e15572.
- [19] Fox, P.F. and P.L. McSweeney, *Advanced dairy chemistry: volume 1: proteins, parts A&B*. 2013: Springer.
- [20] Jalili, M., Chemical composition and sensory characteristics of Feta cheese و ایجاد خصوصیات حسی مطلوب در طی مدت زمان نگهداری گردید. از این رو، با توجه به حفظ خصوصیات کیفی پنیر سفید، استفاده از پوشش‌های خوراکی می‌تواند به‌عنوان روشی ارزان، آسان و مؤثر در جهت افزایش ماندگاری باشند. بنابراین پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی حاوی اسانس‌های گیاهی از جمله اسانس روغنی هل می‌تواند در بسته‌بندی و پوشش‌دهی پنیر سفید جهت افزایش کیفیت و ایمنی آن استفاده شود. بر اساس نتایج، پوشش خوراکی مبتنی بر ایزوله پروتئین آب پنیر حاوی 1/5 % اسانس روغنی هل به‌عنوان یک پوشش کارآمد در افزایش ماندگاری پنیر سفید معرفی کرد.

## 5-منابع

- [1] Khan, I.T., et al., Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids in health and disease*, 2019. 18(1): p. 1-13.
- [2] Stanislav, S., et al., Functional dairy products enriched with plant ingredients. *Foods and Raw materials*, 2019. 7(2): p. 428-438.
- [3] Moghaddas Kia, E., M. Alizadeh, and M. Esmaili, Development and characterization of probiotic UF Feta cheese containing *Lactobacillus paracasei* microencapsulated by enzyme based gelation method. *Journal of food science and technology*, 2018. 55(9): p. 3657-3664.
- [4] Conte, A., et al., A novel preservation technique applied to fiordilatte cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2013. 19: p. 158-165.
- [5] Khezerlou, A. and S.M. Jafari, Nanoencapsulated bioactive components for active food packaging, in *Handbook of food nanotechnology*. 2020, Elsevier. p. 493-532.
- [6] Malmiri, H.J., M.A.G. Jahanian, and A. Berenjian, Potential applications of chitosan nanoparticles as novel support in enzyme immobilization. *Am. J. Biochem. Biotechnol*, 2012. 8(4): p. 203-219.
- [7] Khezerlou, A., et al., Development and characterization of a Persian gum-sodium caseinate biocomposite film accompanied by *Zingiber officinale* extract. *Journal of Applied Polymer Science*, 2019. 136(12): p. 47215.
- [8] JAFARIZADEH MALMIRI, H., et al., Effects of edible surface coatings (sodium carboxymethyl cellulose, sodium caseinate and glycerol) on storage quality of berangan banana (*Musa sapientum* cv. Berangan) using

- Oils, in *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. 2016, Elsevier. p. 295-301.
- [31] Nogueira, M.S., et al., Oxidation products from omega-3 and omega-6 fatty acids during a simulated shelf life of edible oils. *LWT*, 2019. 101: p. 113-122.
- [32] Ksouda, G., et al., Composition, antibacterial and antioxidant activities of *Pimpinella saxifraga* essential oil and application to cheese preservation as coating additive. *Food chemistry*, 2019. 288 :p. 47-56.
- [33] Vital, A.C.P., et al., Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. *PloS one*, 2016. 11(8): p. e0160535.
- [34] Lashkari, H., et al., Effect of Pomegranate Juice on the Manufacturing Process and Characterization of Feta-Type Cheese during Storage. *Journal of Food Quality*, 2020. 2020.
- [35] Mushtaq, M., et al., Use of pomegranate peel extract incorporated zein film with improved properties for prolonged shelf life of fresh Himalayan cheese (Kalari/kradi). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2018. 48: p. 25-32.
- [36] El-Sayed, H.S., et al., Development of eco-friendly probiotic edible coatings based on chitosan, alginate and carboxymethyl cellulose for improving the shelf life of UF soft cheese. *Journal of Polymers and the Environment*, 2021. 29(6): p. 1941-1953.
- [37] Motelica, L., et al., Biodegradable antimicrobial food packaging: Trends and perspectives. *Foods*, 2020. 9(10): p. 1438.
- [38] Khalil, M., et al., Production of feta like cheese fortified with pomegranate and lemon peels extract as natural antioxidants. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 2019. 46(3): p. 710-720.
- [39] Rabita, B., et al., Effect of cardamom, thyme and clove powder on the composition and quality of white soft cheese made from goat's milk. *Assiut Journal of Agricultural Science*, 2006. 37(4): p. 139-157.
- [40] Fekadu, B., et al., Changes in goat milk composition during lactation and their effect on yield and quality of hard and semi-hard cheeses. *Small Ruminant Research*, 2005. 59(1): p. 55-63.
- [41] Park, Y., C. Jeanjulien, and A. Siddique, Factors affecting sensory quality of goat milk cheeses: A Review. *J Adv Dairy Res*, 2017. 5(185): p. 2.
- fortified with iron and ascorbic acid. *Dairy Science & Technology*:(4)96.2016 p. 579-589.
- [21] Saravani, M., et al., Gouda cheese spoilage prevention: Biodegradable coating induced by *Bunium persicum* essential oil and lactoperoxidase system. *Food science & nutrition*, 2019. 7(3): p. 959-968.
- [22] Husain, S.S. and M. Ali ,Analysis of volatile oil of the fruits of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton and its antimicrobial activity. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS)*, 2014. 3(2): p. 1798-1808.
- [23] Mejd, S., et al., Chemical composition and antimicrobial activities of *Elettaria cardamomum* L.(Manton) essential oil: a high activity against a wide range of food borne and medically important bacteria and fungi. *J. Chem. Biol. Phy. Sci. Sec. A*, 2015. 6: p. 248-259.
- [24] Mutlu-Ingok, A. and F. Karbancioglu-Guler, Cardamom, cumin, and dill weed essential oils: Chemical compositions, antimicrobial activities, and mechanisms of action against *campylobacter* spp. *Molecules*, 2017. 22(7): p. 1191.
- [25] Merghni, A., et al., Assessment of the antibiofilm and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* essential oil and its main component 1, 8-cineole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Microbial pathogenesis*, 2018. 118: p. 74-80.
- [26] Nottagh, S., et al., Effectiveness of edible coating based on chitosan and Natamycin on biological, physico-chemical and organoleptic attributes of Iranian ultra-filtrated cheese. *Biologia*, 2020. 75(4): p. 605-611.
- [27] Ríos-de-Benito, L.F., et al., Design of an Active Edible Coating Based on Sodium Caseinate, Chitosan and Oregano Essential Oil Reinforced with Silica Particles and Its Application on Panela Cheese. *Coatings*, 2021. 11(10): p. 1212.
- [28] Sayyari, Z. and R. Farahmandfar, Stabilization of sunflower oil with pussy willow (*Salix aegyptiaca*) extract and essential oil. *Food science & nutrition*, 2017. 5(2): p. 266-272.
- [29] Ahmad, B.S., et al., Fennel oil and by-products seed characterization and their potential applications. *Industrial crops and products*, 2018. 111: p. 92-98.
- [30] Anwar, F., A. Abbas, and K.M. Alkharfy, Cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton)



## Effect of whey protein isolate coating with cardamom essential oil on shelf life of white cheese

Hamzei, S. <sup>1</sup>, Khezerlou, A. <sup>2</sup>, Ehsani, A. <sup>3\*</sup>

1. MSc student in Food Science and Technology, School of Agriculture and Natural Resources, Higher Education Institute of Afagh, Urmia, Iran.
2. Student Research Committee, PhD student in Food Safety and Hygiene, Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition and Food Science, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
3. Professor of Food Hygiene, Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition and Food Science, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2021/ 06/ 19  
Accepted 2022/ 02/ 21

#### Keywords:

White Cheese,  
Packaging,  
Edible Coating,  
Whey Protein Isolate (WPI),  
Cardamom Oil Essential Oil.

**DOI:** 10.22034/FSCT.19.127.267

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.127.17.0

\*Corresponding Author E-Mail:  
ehsaniali@yahoo.com

### ABSTRACT

Cheese packaging as one of the processes has an important effect on increasing the shelf life and quality of cheese. The aim of this study was to package Iranian white cheese using edible coating based on whey protein isolate (WPI) containing different levels of cardamom (*Elettaria cardamomum* L.) essential oil (CEO) (0, 1, 1.5 and 2%) during storage. Samples were examined for physicochemical, microbial and sensory changes during 60 days of storage. The chemical compounds of CEO were also identified by GC-MS. In the analysis of the chemical composition of CEO, two main compounds including  $\alpha$ -terpenyl acetate (46.705%) and 1.8-cineole (27.415%) were identified. Examination of pH changes showed that the pH of all samples decreased significant during storage ( $P < 0.05$ ). On the last day of storage, the lowest amount of peroxide was in the cheese sample coated with 2% CEO ( $0.97 \pm 0.21$  meq  $O_2$ /kg). The results of changes in TBARS in coated white cheese samples during storage showed that two samples of white cheese coated with WPI enriched with 1.5 and 2% CEO had the lowest Thiobarbituric acid reactive substances levels were from the 7th day to the end of the storage period. In microbiological analysis, the lowest population of total bacteria on the last day of storage was in the white cheese sample enriched with 2% CEO ( $2.431 \pm 0.56$  Log cfu/g). The results of sensory evaluation showed that the edible coating based on WPI containing 1.5% of CEO had more desirable sensory properties than other coatings. According to the results of the present study, it can be stated that edible coatings containing plant essential oils can be used in packaging and coating of white cheese to increase its quality and safety.