



## بررسی اثر آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس آویشن بر پنیر خامه ای

فرزانه ملک‌زاده حقیقی<sup>۱</sup>، حنان لشکری<sup>۲\*</sup>

۱- گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد سروستان، دانشگاه آزاد اسلامی، سروستان، ایران.  
 ۲- گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد زرین دشت، دانشگاه آزاد اسلامی، زرین دشت، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

پنیر، فرآورده لبنی است که به آلودگی توسط میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فسادزا حساس است. آلودگی میکروبی می‌تواند باعث کاهش عمر مفید آن و ایجاد خطرات جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان شود. اسانس آویشن فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالایی دارد و می‌تواند منجر به بهبود و ارتقای ماندگاری سیستم‌های غذایی گردد. به منظور بررسی تأثیر اسانس آویشن بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی پنیر خامه‌ای، غلظت‌های مختلف اسانس آویشن (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد) به پنیر خامه‌ای افزوده شد. نمونه‌های پنیر در هفته‌های اول، چهارم و هفتم از دوره نگهداری مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر میزان اسیدیته، ماده خشک، نیروی چسبندگی،  $IC_{50}$  و پراکسید پنیر تأثیر معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) دارد. با افزایش درصد اسانس روند کاهش در میزان اسیدیته، نیروی چسبندگی، پراکسید و  $IC_{50}$  پنیر مشاهده شد. تغییرات درصد اسانس بر میزان pH، سختی بافت، میزان چربی و پروتئین پنیر تأثیر معنی‌دار نداشت. نتایج نشان داد که زمان تأثیر معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بر میزان اسیدیته، pH، ماده خشک،  $IC_{50}$ ، پراکسید و نیروی چسبندگی پنیر دارد در حالی که بر پروتئین، چربی و سختی بافت تأثیر معنی‌داری نداشت. در طی دوره نگهداری اسیدیته، ماده خشک، پراکسید و  $IC_{50}$  افزایش و pH و چسبندگی کاهش یافتند. افزودن اسانس به پنیر تأثیر معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بر تعداد کلی‌فرم‌ها نداشت اما موجب کاهش معنی‌دار تعداد کپک و مخمر و شمارش کلی گردید. نتایج نشان داد که افزودن اسانس به پنیر بر رنگ و بافت تأثیر معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) ندارد، اما بر طعم و پذیرش کلی پنیر تأثیر معنی‌دار است و موجب بهبود طعم و پذیرش کلی گردید. درصدهای بالای اسانس موجب کاهش امتیاز خصوصیات حسی پنیر گردید. در مجموع تیمار حاوی ۰/۰۰۵ درصد اسانس از نظر خصوصیات حسی بهترین تیمار بود.

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۰۱

کلمات کلیدی:

اسانس آویشن، پنیر، حسی، فیزیکوشیمیایی، میکروبی.

DOI: 10.52547/fsct.18.119.205

\* مسئول مکاتبات:

hlashkari@gmail.com

## ۱- مقدمه

تایروبوتریکوم در پنیر [۱۰]، اثر اسانس رزماری بر کیفیت پنیر [۱۰]، اثر اسانس آویشن بر کپک، مخمر، اشرشیاکلی و کلی فرم‌ها، برخی واکنش‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک و افزایش زمان ماندگاری پنیر موزارلا [۲] اشاره کرد. هدف از این پژوهش استفاده از اسانس آویشن به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی طبیعی در پنیر خامه‌ای است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد اولیه

شیر تازه از شرکت پگاه فارس تهیه شد. خامه با ۶۵ درصد چربی از شرکت لبنیات ققنوس و کنسانتره پروتئین آب پنیر با پروتئین ۸۰ درصد و پایدارکننده کاراگینان از شرکت بهین آزما و نمک از شرکت هامر تهیه گردید. استارتر حاوی گونه‌های مزوفیل (CHN22) از شرکت کریستین هانسن خریداری گردید.

### ۲-۲- تولید پنیر خامه‌ای و افزودن اسانس

شیر و خامه تا دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گرم و با یکدیگر مخلوط گردیدند؛ سپس کنسانتره پودر آب پنیر و خامه به آن اضافه شد و چربی آن با میزان ۲۴ درصد بالانس گردید. مخلوط به مدت ۵ دقیقه به دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسانیده و عملیات آب‌گیری به مدت ۳۰ دقیقه انجام و با فشار ۱۵۰ بار هموژن و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد پاستوریزه گردید، سپس تا دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد سرد و به میزان ۰/۰۱ درصد استارتر به آن افزوده و تا رسیدن pH به ۴/۷ در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس لخته شکسته و به چهار قسمت تقسیم و هر کدام یک درصد نمک و ۰/۲ درصد کاراگینان افزوده و ده دقیقه مخلوط گردید. دو دقیقه مانده به پایان مخلوط کردن؛ درصد‌های مختلف اسانس (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد) اضافه شده و پس از پر کردن و درب‌بندی نمونه‌ها در یخچال نگهداری شدند.

### ۲-۳- آزمون‌ها

#### ۲-۳-۱- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

میزان اسیدیته و pH بر اساس استاندارد ملی به شماره ۲۸۵۲، چربی بر اساس استاندارد ملی شماره ۸۷۸۵ پروتئین بر اساس استاندارد ملی شماره ۱۸۱۱ و ماده خشک بر اساس استاندارد ملی به شماره ۱۷۵۳ تعیین شدند.

آویشن<sup>۱</sup> یکی از شناخته‌شده‌ترین گیاهان دارویی و از تیره نعنا است، درختچه‌ای کوتاه و پر شاخه است که برگ‌های نازک و متقابل دارد. آویشن در طب سنتی ایران و اروپا مصرف دارویی دارد [۱]. آویشن حاوی ۰/۸ الی ۲/۶ درصد اسانس است که قسمت اعظم آن را فنل‌ها، هیدروکربن‌ها، مونوترپن‌ها و الکل‌ها تشکیل می‌دهند. تیمول جزء اصلی ترکیبات آن است [۲]. ترکیبات مؤثر ضد میکروبی در عصاره آویشن حاوی فلاوونوئیدهایی مانند اپی ژنین، نارین‌ژین، لوتولین و روغن‌های فرار محتوی تیمول و کارواکرول می‌باشد. ادویه‌جات و گیاهان دارویی، اسانس‌ها و عصاره‌های آنها درجات متنوعی از فعالیت بیولوژیکی را دارا هستند [۱]. ترکیبات فنولی مسئول خواص ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی هستند. بنابراین هر چه مقدار مواد فنولی در اسانس‌ها بالاتر باشد، خواص ضد میکروبی آنها نیز بالاتر خواهد بود. این مواد شامل کارواکرول، اوژنول و تیمول می‌باشد. در پنیر گونه‌های میکروبی زیادی از جمله استافیلوکوکوس‌ها، سالمونلاها، کلی‌فرم‌ها، اشرشیاکلی و تعدادی از انواع کپک و مخمرها و همچنین تعداد متنوعی از سایکروفیل‌های مولد فساد مشاهده شده است. همچنین مطالعات متعدد نشان داده است که علاوه بر میکروارگانیزم‌ها، برخی واکنش‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک نیز از اهمیت بسیار بالایی در نگهداری پنیر دارند [۳]. بدین منظور در این تحقیق اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس آویشن بر پنیر خامه‌ای مورد بررسی قرار خواهد گرفت. از جمله پژوهش‌های انجام گرفته در این زمینه می‌توان به اثر ضد میکروبی اسانس دارچین و آویشن بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلاهی در پنیر [۴]، تأثیر افزودن آویشن، زیره و زردچوبه بر افزایش عمر ماندگاری پنیر [۵]، افزودن عصاره چای سبز به پنیر پرچرب [۶]، اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس انواع آویشن بر پایداری اکسیداتیو ناگت مرغ [۷]، اثر فیلم‌های خوراکی حاوی اسانس‌های آویشن و میخک بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی پنیر کاشار [۸]، تأثیر اسانس پونه بر استرپتوکوکوس ترموفیلوس در نمونه پنیر آرژانتینی [۹]، اثر اسانس رزماری بر رشد کلستریدیوم-

1. *Thymus vulgaris*

**۲-۳-۲- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی**

ابتدا عصاره گیری از پنیر انجام گردید و سپس فعالیت آنتی-اکسیدانی به روش DPPH و با خواندن جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر بدست آمد. جهت عصاره گیری از پنیر ۵ گرم از نمونه با ۲۰ میلی لیتر متانول در دو نوبت مخلوط و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دور ۴۵۰۰g سانتریفیوژ شد. عصاره متانولی حاصل با کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر گردید و با عصاره مرحله بعد مخلوط و در نهایت مجموع دو عصاره مجدداً در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۵ دقیقه و دور ۶۵۰۰g سانتریفیوژ و فیلتر گردید. از این عصاره جهت اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده گردید.

ابتدا غلظت‌های ۶/۲۵ تا ۳۲۰۰ ppm را ساخته و در میکرو پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای مقدار ۲۰ میکرولیتر عصاره + ۲۰۰ میکرولیتر DPPH مخلوط شدند و سپس ۱۰ ثانیه هم زده و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی جذب آنها در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. پس از قرائت جذب نمونه‌ها در میکرو پلیت ریدر طبق فرمول زیر عمل شد. سپس منحنی را رسم کرده و از روی معادله خط، IC<sub>50</sub> را بدست آمد [۱۱].

= درصد بازدارندگی DPPH

$100 \times (\text{جذب DPPH خالص} / \text{جذب DPPH خالص} - \text{جذب نمونه})$

**۲-۳-۳- اندازه گیری پراکسید**

در این روش ۲/۵ گرم از نمونه پنیر به ۵۰ میلی لیتر محلول کلروفورم/متانول ۱:۲ (حجمی/حجمی) اضافه و مخلوط شد. سپس ۱۰ میلی لیتر محلول کلریدکلسیم (۱ میلی مولار) به آن اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه یکنواخت سازی و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. فاز کلروفورم جدا و به باقی مانده آن ۳۰ میلی لیتر کلروفورم افزوده و دوباره به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. مجدداً، فاز کلروفورم جدا و به کلرفرمی که در مرحله قبل جدا شده بود اضافه و در تبخیر کننده تا تبخیر شدن کامل حلال نگهداری شد. این روش اندازه‌گیری پراکسید بر اساس اکسیداسیون آهن (۲) به آهن (۳) توسط هیدروپراکسیدها، تشکیل کمپلکس آهن(۳)-تیوسیانات و تعیین عدد پراکسید به روش اسپکتوفتومتری انجام شد. ۰/۲ گرم روغن استخراج شده از پنیر با ۱۵ میلی لیتر محلول کلروفورم/ متانول (۳:۷ حجمی/حجمی) مخلوط شد. سپس به آن ۲ میلی لیتر

محلول کلرید آهن ۱٪ و ۰/۲ میلی لیتر تیوسیانات آمونیوم ۴ مولار اضافه شد و با محلول کلروفورم/متانول به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. محلول به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری و سپس جذب نوری آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در ۵۰۵ نانومتر اندازه و نتیجه بر اساس میلی‌اکی والان اکسیژن در هر کیلوگرم چربی بیان شد.

**۲-۴-۱- سنجش بافت**

برای سنجش بافت نمونه‌ها از دستگاه آنالیز بافت و پروب استوانه‌ای به قطر ۳۸ میلی‌متر استفاده شد. نمونه‌ها بلافاصله قبل از انجام آزمایش از یخچال خارج شدند و استوانه‌ای به قطر ۱ سانتی‌متر و ارتفاع ۱/۸ سانتی‌متر از آن‌ها تهیه شد. سرعت حرکت پروب دستگاه ۳۰ میلی‌متر در دقیقه بود. این عمل در طی دو بار عمل رفت و برگشت انجام شد و تنش لازم برای فشردن در مرحله اول تا رسیدن به ۷۰٪ ارتفاع اولیه از نمونه وارد گردید و بعد از ۵ ثانیه دوباره این نیرو وارد شد [۱۱].

**۲-۵-۱- آزمون‌های میکروبی****۲-۵-۱-۱- شمارش کلی میکروبی**

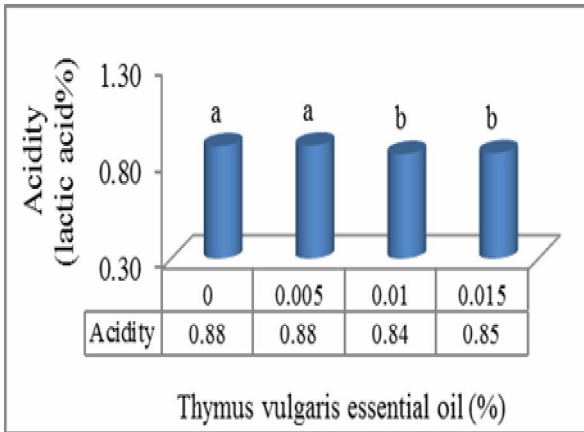
شمارش کلی میکروبی بر اساس استاندارد میکروبی شیر و فراورده‌های لبنی به شماره ۲۴۰۶ انجام شد به منظور شمارش کلی میکروبی از روش کشت عمقی و محیط کشت پلیت کانت اسکیم میلک آگار<sup>۱</sup> استفاده شد. انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز انجام شد و نتایج شمارش و بصورت cfu/g گزارش شد.

**۲-۵-۱-۲- شمارش کلی فرمها**

شمارش کلی فرمها بر اساس استاندارد میکروبی شیر و فراورده‌های لبنی به شماره ۲۴۰۶ انجام شد به منظور شمارش کلی فرمها از روش کشت عمقی و محیط کشت ویولت رد بایل آگار (VRB) (مرک، آلمان) استفاده شد. گرمخانه گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بمدت ۲۴ ساعت انجام شد و نتایج بوسیله دستگاه شمارش کلنی شمارش و بصورت cfu/g گزارش شد.

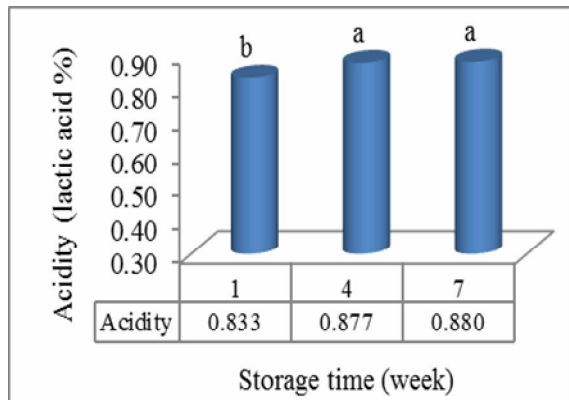
**۲-۵-۱-۳- شمارش کپک و مخمرها**

شمارش کپک و مخمر بر اساس استاندارد میکروبی شیر و فراورده‌های لبنی به شماره ۲۴۰۶ انجام شد. به منظور شمارش



**Fig 1** Acidity of cheese samples (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

همچنین نتایج نشان داد که زمان تأثیر معنی داری بر میزان اسیدیته پنیر دارد (نمودار ۲). بین میزان اسیدیته در هفته اول و چهارم اختلاف معنی دار ( $P < 0.05$ )، اما هفته چهارم و هفتم اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) وجود نداشت. به طور کلی در طی نگهداری اسیدیته روند افزایشی را نشان داد. میزان اسیدیته از ۰/۸۳ درصد در هفته اول به ۰/۸۸ درصد در هفته هفتم رسید. اوطیبی و همکاران [۱۲] بیان نمودند که در طی دوره نگهداری میزان اسیدیته لبه افزایش یافت.



**Fig 2** Acidity of cheese samples during the storage period (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

### ۲-۳- pH

نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر میزان pH پنیر تأثیر معنی دار ندارد (نمودار ۳). روشنی و همکاران [۲] بیان نمودند که افزودن درصدهای مختلف آویشن تأثیر معنی داری بر pH پنیر در طی دوره نگهداری نداشت.

کپک و مخمر از روش کشت سطحی و محیط کشت YGC آگار (مرک، آلمان) استفاده شد. انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ روز انجام شد و نتایج بوسیله دستگاه پلیت کلنی کانتر شمارش و به صورت cfu/g گزارش شد.

### ۲-۶- ارزیابی حسی

پس از آموزش‌های مقدماتی، تعداد ۱۰ نفر به عنوان ارزیاب انتخاب شد و با استفاده از روش هدونیک ۵ نقطه ای نمونه‌های پنیر تولید شده را از لحاظ ظاهر، بافت، بو، طعم و پذیرش کلی ارزیابی کردند. به این ترتیب که بیشترین نمره یعنی ۵ به منزله عالی بودن نمونه و ۱ کمترین نمره که نشان دهنده خیلی بد بودن نمونه است.

### ۲-۷- آزمون آماری

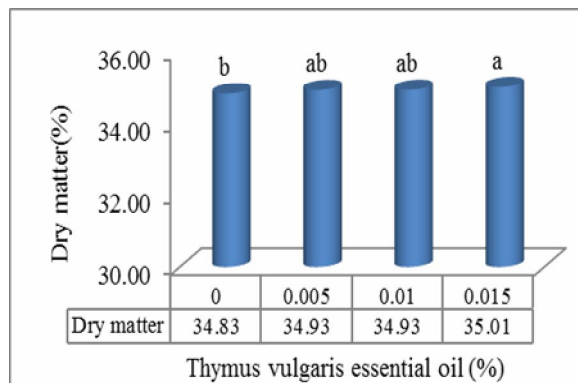
آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و با استفاده از جدول ANOVA یک طرفه آنالیز و از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- اسیدیته

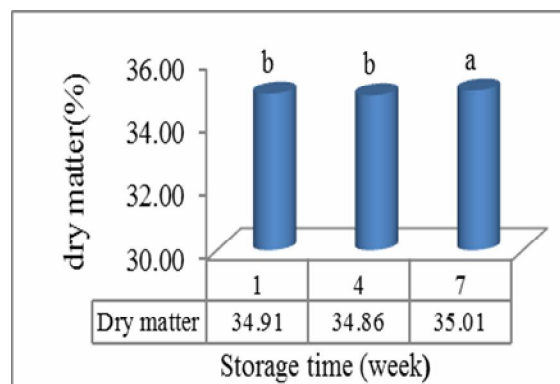
نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر میزان اسیدیته پنیر تأثیر معنی دار دارد (نمودار ۱). همانطور که مشاهده می‌شود بین تیمار شاهد و ۰/۰۰۵ درصد اسانس و همچنین بین تیمارهای ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد اسانس از نظر میزان اسیدیته در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود ندارد. در کل با افزایش درصد اسانس یک روند کاهش در میزان اسیدیته پنیر مشاهده می‌شود. می‌توان گفت اسانس با داشتن خاصیت بازدارندگی در درصدهای بالاتر موجب کاهش رشد استارترها شده و اسیدیته را کاهش می‌دهد. الدین و همکاران [۱۳] بیان نمودند که افزودن عصاره آویشن موجب کاهش اسیدیته پنیر در طی دوره نگهداری گردید. اوطیبی و همکاران [۱۲] بیان نمودند که افزودن ۰/۲ ppm اسانس آویشن موجب افزایش اسیدیته پنیر گردید. احمد الگرنی [۵] بیان نمود که افزودن آویشن به پنیر موجب افزایش اسیدیته می‌گردد و pH نیز روند مخالف اسیدیته دارد.

آن کاهش رطوبت پنیر مشاهده می‌شود. الدین و همکاران [۱۳] بیان نمودند که افزودن عصاره آویشن تأثیر زیادی بر خصوصیات شیمیایی پنیر نداشت. نورالدین و همکاران [۱۵] بیان نمودند که اسانس آویشن تأثیر معنی‌داری بر میزان رطوبت پنیر نداشت. احمد الگرنی [۵] بیان نمود که کاهش رطوبت در نمونه حاوی آویشن کمتر از تیمار کنترلی بود.

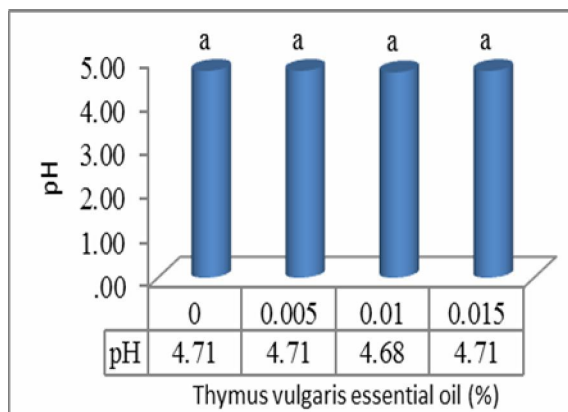


**Fig 5** Dry matter of cheese samples (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

همچنین نتایج نشان داد که زمان تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک پنیر دارد (نمودار ۶). بین میزان ماده خشک در هفته اول و چهارم اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) وجود نداشت، اما هفته چهارم و هفتم اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) وجود داشت. به طور کلی در طی نگهداری میزان ماده خشک روند افزایشی را نشان داد. میزان ماده خشک از ۳۴/۹۱ درصد در هفته اول به ۳۵/۰۱ درصد در هفته هفتم رسید. احمد الگرنی [۵] بیان نمود که در طی دوره نگهداری میزان رطوبت در همه نمونه‌های پنیر کاهش یافت. نورالدین و همکاران [۱۵] بیان نمودند که در طی دوره نگهداری میزان رطوبت اندکی کاهش یافت.

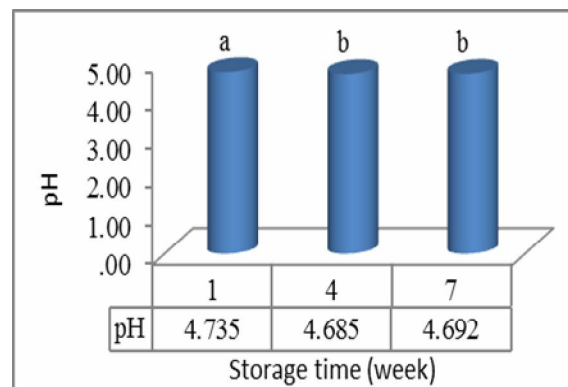


**Fig 6** pH of cheese samples during the storage period (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).



**Fig 3** pH of cheese samples (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

همچنین نتایج نشان داد که زمان تأثیر معنی‌داری بر میزان pH پنیر دارد (نمودار ۳). بین میزان pH در هفته اول و چهارم اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ )، اما هفته چهارم و هفتم اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) وجود نداشت. بطور کلی در طی نگهداری pH روند کاهشی را نشان داد. میزان pH از ۴/۷۳ در هفته اول به ۴/۶۹ در هفته هفتم رسید. مشاک و همکاران [۱۴] بیان نمودند که در طی دوره نگهداری پنیر میزان pH کاهش یافت که به دلیل فعالیت میکروارگانیسم‌های مولد اسید لاکتیک و اسیدهای آلی موجود در استارتر می‌باشد.



**Fig 4** pH of cheese samples during the storage period (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

### ۳-۳- ماده خشک

نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر میزان ماده خشک پنیر تأثیر معنی‌دار دارد (نمودار ۵). همانطور که مشاهده می‌شود بین تیمار ۰/۱۵ درصد اسانس با تیمار شاهد در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در کل با افزایش درصد اسانس یک روند افزایشی در میزان ماده خشک و در پی

### ۳-۴- چربی

میزان چربی نمونه ها بین ۲۳/۹۷ الی ۲۴/۱۷ درصد بدست آمد. آنالیز آماری نشان داد، اسانس بر میزان چربی پنیر تاثیر معنی دار ندارد. نورالدین و همکاران [۱۵] بیان نمودند که افزودن اسانس آویشن تاثیر معنی داری بر چربی پنیر نداشت. زمان نیز تاثیر معنی داری بر میزان چربی پنیر ندارد. الدین و همکاران [۱۳] بیان نمودند که در طی دوره نگهداری میزان چربی در ماده خشک پنیر به خصوص در پایان دوره کاهش یافت و تاکید کردند که چربی در طول نگهداری به دلیل هیدرولیز کاهش می یابد. این امکان وجود دارد که در حضور اسانس رشد میکروبی کمتر و در پی آن فعالیت هیدرولیزی آنها کاهش یافته و میزان چربی ثابت باقی مانده است.

### ۳-۵- پروتئین

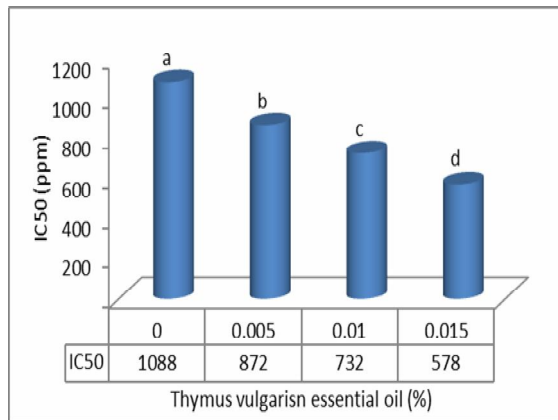
میزان پروتئین نمونه ها بین ۵/۰۳ الی ۵/۱۳ درصد بدست آمد. آنالیز آماری نشان داد، تغییرات درصد اسانس بر میزان پروتئین پنیر تاثیر معنی دار ندارد. الدین و همکاران [۱۳] بیان نمودند که افزودن عصاره آویشن تاثیر زیادی بر خصوصیات شیمیایی پنیر نداشت. زمان نیز تاثیر معنی داری بر میزان پروتئین پنیر ندارد. فرایند پروتئولیز نیز همچون لیپولیز در نمونه های پنیر تولیدی در حدی نیست که بر میزان پروتئین کل تاثیر گذارد و از طرفی پنیر تولیدی از نوع بدون آب است و خروج ترکیبات از لخته در طول نگهداری صورت نمی گیرد.

### ۳-۶- خاصیت آنتی اکسیدانی

نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر میزان  $IC_{50}$  پنیر تاثیر معنی دار دارد (نمودار ۷). در کل با افزایش درصد اسانس یک روند کاهشی در میزان  $IC_{50}$  پنیر مشاهده می شود. الدین و همکاران [۱۳] بیان نمودند که افزودن عصاره آویشن به رینتیت موجب افزایش جذب رادیکال آزاد گردید و نمونه های حاوی عصاره آویشن تا پایان دوره نگهداری دارای فعالیت جذب رادیکال آزاد بالاتری نسبت به نمونه کنترلی بودند.

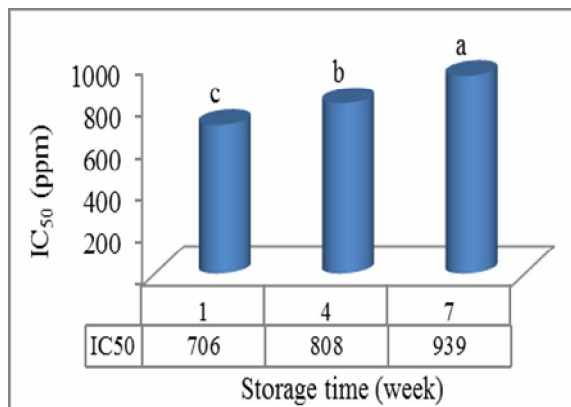
فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مربوط به وجود ترکیبات فنلی از قبیل فلاونوئیدها و اسیدهای فنلیک می باشد. میلادی و همکاران [۱۶] بیان نمودند که غلظت ۴۳۷ میکروگرم بر میلی لیتر اسانس آویشن قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد ( $IC_{50}$ ) می باشد. آن ها بیان نمودند که بین میزان مونوترپن های اکسیژنه شده و فعالیت آنتی اکسیدانی ارتباط معنی داری وجود

داشت. به نظر می رسد که اسانس های حاوی مقادیر بالاتر مونوترپن ها و یا سزکوئی ترپن ها خاصیت آنتی اکسیدانی قوی تری دارند.



**Fig 7**  $IC_{50}$  of cheese samples (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

همچنین نتایج نشان داد که زمان تاثیر معنی داری بر میزان  $IC_{50}$  پنیر دارد (نمودار ۸). به طور کلی در طی نگهداری میزان  $IC_{50}$  روند افزایشی را نشان داد. میزان  $IC_{50}$  از ۷۰۶/۱۵ ppm در هفته اول به ۹۳۸/۶۳ ppm در هفته هفتم رسید. این مسئله نشان می دهد که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در طول دوره نگهداری کاهش یافته است. الدین و همکاران [۱۳] بیان نمودند که در طی دوره نگهداری فعالیت جذب رادیکال آزاد در همه نمونه های پنیر کاهش یافت.



**Fig 8**  $IC_{50}$  of cheese samples during the storage period (Columns with same letters are not significantly different at the 5)

### ۳-۷- پراکسید

نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر میزان پراکسید پنیر تاثیر معنی دار دارد (نمودار ۹). در کل با افزایش درصد اسانس یک روند کاهشی در میزان پراکسید پنیر مشاهده می شود. روشنی و همکاران [۲] بیان نمودند که کاربرد اسانس آویشن



سستی و بافت دار نظیر پنیر آب نمکی و فتا در ابتدا دوره نگهداری افزایش و سپس کاهش می‌یابد. کاواس و همکاران [۸] به نتایج مشابه دست یافتند. اما در نمونه‌های تولیدی بدلیل اینکه پروتئین خیلی کم است و فرایند پروتئولیز و لیپولیز کمتر صورت گرفته است، تغییرات معنی داری در سختی بافت مشاهده نشد.

### ۳-۹- نیروی چسبندگی

نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر میزان نیروی چسبندگی پنیر تأثیر معنی‌دار دارد (نمودار ۱۱). تیمار حاوی ۰/۰۱۵ درصد اسانس با سایر تیمارها از نظر چسبندگی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری دارد. در کل با افزایش درصد اسانس از ۰/۰۱ درصد به ۰/۰۱۵ درصد یک روند کاهشی در میزان نیروی چسبندگی پنیر مشاهده می‌شود. هر چه ساختار پروتئینی شبکه پنیر بازتر باشد، چسبندگی بیشتر می‌باشد و هر چه شبکه متراکم‌تر باشد چسبندگی کمتر و پیوستگی بیشتر می‌شود. نتایج نشان داد که درصد بالاتر اسانس موجب متراکم‌تر شدن شبکه و کاهش چسبندگی می‌شود.

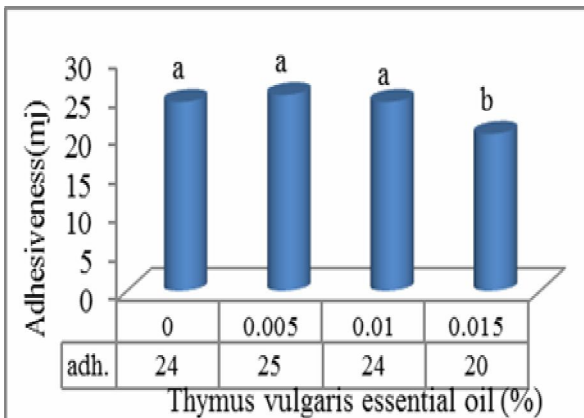


Fig 11 adhesiveness of cheese samples (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

نتایج نشان داد که زمان تأثیر معنی‌داری بر میزان چسبندگی پنیر دارد (نمودار ۱۲). بین میزان نیروی چسبندگی در هفته اول و چهارم اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ )، اما هفته چهارم و هفتم اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) وجود ندارد. بطور کلی در طی نگهداری میزان چسبندگی روند کاهشی را نشان داد. میزان چسبندگی از  $25/92 \text{ mj}$  در هفته اول به  $21/75 \text{ mj}$  در هفته هفتم رسید.

در پنیر موجب کندتر شدن افزایش عدد پراکسید در طی دوره نگهداری می‌گردد.

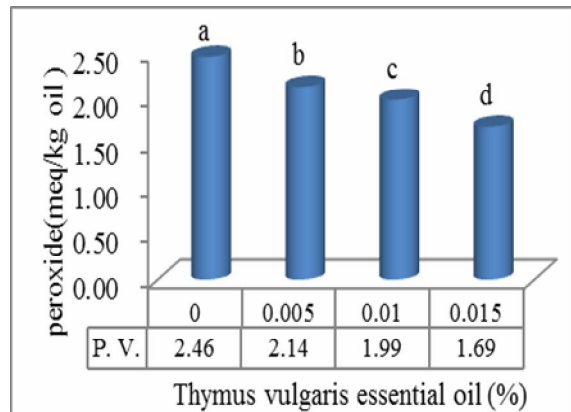


Fig 9 peroxid value of cheese samples (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

همچنین نتایج نشان داد که زمان تأثیر معنی‌داری بر میزان پراکسید پنیر دارد (نمودار ۱۰). به طور کلی در طی نگهداری میزان پراکسید روند افزایشی را نشان داد. میزان پراکسید از  $0/71 \text{ meq/kg oil}$  در هفته اول به  $3/82 \text{ meq/kg oil}$  در هفته هفتم رسید.

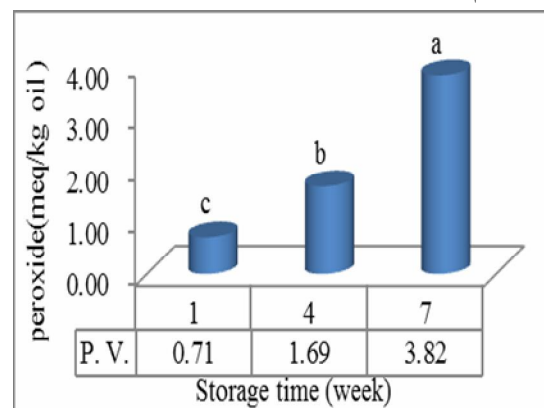


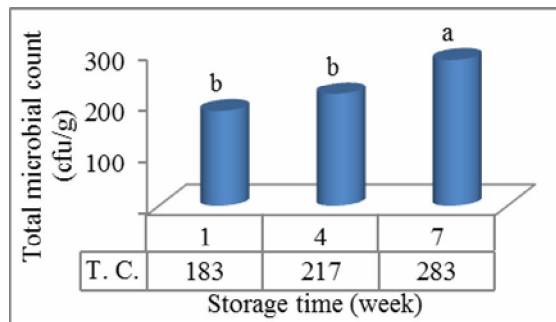
Fig 10 Peroxid value of cheese samples during the storage period (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

### ۳-۸- سختی

سختی نمونه‌ها بین  $2337$  الی  $2460 \text{ g}$  بدست آمد. آنالیز آماری نشان داد تغییرات درصد اسانس بر میزان سختی پنیر تأثیر معنی‌دار ندارد. به طور کلی سختی همه نمونه‌ها یکسان است. عبدالسلام و سعد [۴] بیان نمودند که اسانس آویشن و دارچین تأثیر معنی‌داری بر بافت پنیر نداشت. نتایج نشان داد که زمان تأثیر معنی‌داری بر میزان سختی بافت پنیر ندارد و پنیرها همواره دارای سختی ثابت بودند. سختی در انواع پنیر

باکتری‌ها می‌شوند. مهم‌ترین ویژگی اسانس‌ها خاصیت آبدوستی آن‌ها می‌باشد که سبب نفوذ اسانس در چربی غشاء سلولی و افزایش نفوذپذیری غشاء و در نتیجه خروج یون‌ها و محتویات سلولی می‌گردد.

نتایج نشان داد که زمان تأثیر معنی‌داری بر شمارش کلی میکروبی در پنیر دارد (نمودار ۱۴). به طور کلی در طی نگهداری شمارش کلی میکروبی در همه تیمارها روند افزایشی را نشان می‌دهد ولی همواره سرعت افزایش در تیمارهای حاوی اسانس خیلی کمتر از تیمار شاهد است. نکته قابل توجه این است که شمارش کلی میکروبی تیمار حاوی ۰/۰۱۵٪ اسانس بعد از هفت هفته نگهداری  $200 \text{ cfu/g}$  است که از آلودگی تیمار شاهد در هفته اول ( $266 \text{ cfu/g}$ ) کمتر است.

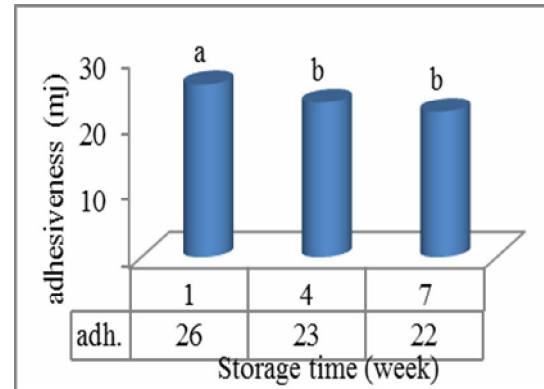


**Fig 14** Total microbial count during the storage period

(Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

### ۱۲-۳- شمارش کپک و مخمر

نتایج شمارش کپک و مخمر نشان داد که در هیچ‌یک از تیمارهای حاوی اسانس در طول دوره نگهداری آلودگی کپک و مخمر یافت نشد. روشنی و همکاران [۲] بیان نمودند که استفاده از اسانس آویشن موجب کاهش کپک و مخمر در طی نگهداری در پنیر گردید. اوطیبی و همکاران [۱۲] بیان نمودند که در لبنة حاوی اسانس آویشن رشد کپک و مخمر مشاهده نشد. کارواکرول ترکیب اصلی اسانس آویشن بوده و نه تنها باعث مهار جمعیت میکروبی می‌شود، بلکه با افزایش نفوذپذیری غشاء قارچ‌ها، آن‌ها را نسبت به سایر مواد ضد قارچی حساس و آسیب‌پذیر می‌کند. محمدی و همکاران [۱۹] بیان نمودند که اسانس آویشن قادر به مهار رشد آسپرژیلوس فلاووس، فوزاریوم، اگزیسپوروم و آلترناریا آلترناتا می‌باشد.



**Fig 12** Adhesiveness of cheese samples during the storage period

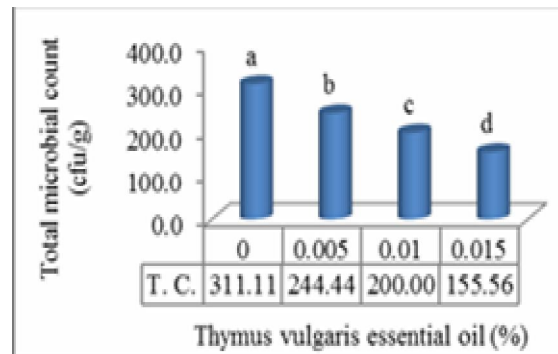
(Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

### ۱۰-۳- شمارش کلی فرم‌ها

نتایج نشان داد که نمونه‌های تولیدی فاقد کلی‌فرم می‌باشند. روشنی و همکاران [۲] بیان نمودند که استفاده از اسانس آویشن موجب کاهش کلی‌فرم‌ها در طی نگهداری در پنیر گردید.

### ۱۱-۳- شمارش کلی میکروبی

نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر شمارش کلی میکروبی در پنیر تأثیر معنی‌دار دارد (نمودار ۱۳).



**Fig 13** Total microbial count of cheese samples (Columns with same letters are not significantly different at the 5% probability level).

در کل با افزایش درصد اسانس یک روند کاهشی در شمارش کلی میکروبی مشاهده می‌شود. اوطیبی و همکاران [۱۲] بیان نمودند که اسانس آویشن موجب کاهش بار میکروبی پنیر لبنة گردید. اسمیت و همکاران [۱۸] بیان نمودند که اسانس آویشن موجب کاهش تعداد لیستریامنوسیتوجنز در پنیر تا یک کلنی در گرم شد. ترکیبات مؤثره اسانس آویشن از طریق تجزیه دیواره سلولی، آسیب زدن به غشای سیتوپلاسمی و در نتیجه نشت محتوای سلول به بیرون و انعقاد سیتوپلاسم موجب تخریب



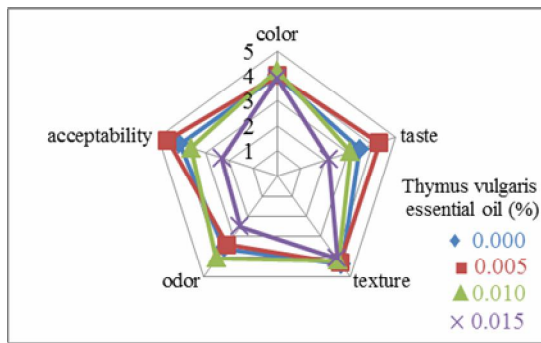


Fig 15 Sensory evaluation of different cheese samples in the fourth week.

### ۳-۱۳- خصوصیات حسی

نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر امتیاز رنگ در پنیر تأثیر معنی‌دار ندارد (نمودار ۱۵). الدین و همکاران [۱۳] بیان نمودند که غلظت‌های بالای آویشن موجب کاهش امتیاز خصوصیات حسی پنیر گردید. با گذشت زمان امتیاز ظاهر کلیه نمونه‌ها کاهش یافت. نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر امتیاز طعم<sup>۲</sup> در پنیر تأثیر معنی‌دار دارد. تیمارهای شاهد و ۰/۰۱ درصد اسانس از نظر امتیاز طعم در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. در کل با افزایش درصد اسانس یک روند کاهشی در امتیاز طعم مشاهده می‌شود. عبدالسلام و سعد [۴] بیان نمودند که اسانس آویشن موجب بهبود طعم و پذیرش کلی پنیر گردید و با گذشت زمان امتیاز خصوصیات حسی کاهش یافت. نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر امتیاز بو<sup>۳</sup> در پنیر تأثیر معنی‌دار دارد. تیمارهای ۰/۰۰۵ درصد و ۰/۰۱ درصد اسانس از نظر امتیاز بو در سطح احتمال ۵ درصد با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ندارند. در کل با افزایش درصد اسانس یک روند کاهشی در امتیاز بو مشاهده می‌شود. روشنی و همکاران [۲] بیان نمودند که نمونه پنیر حاوی ۰/۰۰۵ درصد اسانس آویشن از نظر عطر و طعم که مهم‌ترین پارامتر در ارزیابی می‌باشد بالاترین امتیاز را کسب کرد. نتایج نشان داد که تغییرات درصد اسانس بر امتیاز بافت<sup>۴</sup> در پنیر تأثیر معنی‌دار ندارد. همانطور که در سختی پنیر تأثیر معنی‌داری نداشت. تغییرات درصد اسانس بر پذیرش کلی<sup>۵</sup> پنیر تأثیر معنی‌دار دارد. تیمارهای ۰/۰۰۵ درصد و ۰/۰۱ درصد اسانس از نظر پذیرش کلی در سطح احتمال ۵ درصد با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ندارند. اوطیبی و همکاران [۱۲] بیان نمودند که غلظت ۰/۲ ppm اسانس آویشن موجب بهبود خصوصیات حسی پنیر در طی نگهداری گردید. احمد الگرنی [۵] بیان نمود که افزودن ۲ درصد آویشن به پنیر موجب بهبود خصوصیات ارگانولپتیکی و پذیرش کلی آن می‌گردد.

### ۴- نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه ابتدا پنیر خامه‌ای با درصد‌های مختلف (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵) اسانس آویشن تولید و از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی بررسی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس آویشن در بهبود ویژگی‌های اکسیداسیونی و میکروبی تأثیر فراوانی دارد و همچنین باعث بهبود طعم و پذیرش کلی می‌گردد. در مجموع تیمار حاوی ۰/۰۰۵ درصد اسانس از نظر خصوصیات حسی دارای عملکرد بهتری بود و نسبت به تیمارهای ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵٪ اسانس دارای طعم بهتر و تیزی کمتر بود و همه ویژگی‌های آن در سطح استاندارد بود و به عنوان بهترین تیمار انتخاب گردید.

### ۵- منابع

- [1] Nguefack, J., Budde, B.B., Jakobsen, M. (2004). Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Letters in Applied Microbiology*, 39: 359-400.
- [2] Roshani, S., Gohari Ardebili, A, Arianfar, A. (2015). Investigation on antimicrobial and antioxidant effects of *Thymus vulgaris* on mozzarella cheese, *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4(3): 233-246.
- [3] Law, B. A. and Tamime, A. Y. (2010). *Technology of cheese making*. 2nd ed. Wiley-black well. Westmorland. UK.
- [4] Abdel-Salam, A.B. and Saad, M.F. (2016). Influence of selected essential oils on some pathogenic microorganisms in white soft

1. color
2. taste
3. odor
4. texture
5. acceptability

- (2012). Total Phenolic Compounds, Radical Scavenging And Ferric Reducing Activity Of Low Fat UF-Soft Cheese Supplemented With Thyme Extract. *Journal of Applied Sciences Research*, 8 (4): 2335-2341.
- [14] Mashak Z, Moradi B, Akhondzadeh basti A, Abasifar A, Gandomi H. (2009). Fate of *Listeria monocytogenes* During the Manufacturing Process of Iranian white Brined Cheese as Affected by *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil. *Journal of Medicinal Plants*. 4 (29): 114-122
- [15] Nour-Eldin, M., Hamad, F., Taha, E.M. and Mohamed, W.M. (2016). Effect of fortification palm oil with some Egyptian spices on physico-chemical composition, microbiological analysis, sensory evaluation and economic study of Tallaga-like cheese. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 22 (4): 263-275.
- [16] Miladi, H., Ben Slama, R., Mili, D., Zouari, S., Bakhrouf, A. and Ammar, E. (2013). Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science*, 5 (6): 729-739.
- [17] Choobkar, N., Soltani. M., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Akhonzadeh Basti. A. and Matinfar, A. 2010. Effect of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the growth of *Staphylococcus aureus* in the light salted fillets of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Iran Journal of Fish Science*, 9 (3): 352-359.
- [18] Smith, P., Stewart, J. and Fyfe, L. 2001. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18: 463 - 70.
- [19] Mohammadi; KH Karim; G Hanifian; SH Tarinejad; A Gasemnezhad R. 2011. Antimicrobial effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on *Escherichia coli* O157:H7 during manufacture and ripening of white brined cheese, *Journal of Food Hygiene*. 1(2):69-78.
- cheese. *International Journal of ChemTech Research*, 9 (12): 214-220.
- [5] Ahmed Algarni, E.H. (2016). Soft Cheese supplemented with Thyme, Cumin and Turmeric herbs to increase shelf life during storage period. *Advances in Environmental Biology*, 10 (12): 227-236.
- [6] Rashidinejad, A., Birch, E.J. and Everett, D.W. (2016). Antioxidant activity and recovery of green tea catechins in full-fat cheese following gastrointestinal simulated digestion. *J. Food Compos. Anal*, 48: 13–24.
- [7] Ganjali Dashti, N., Mirlohi, M., Ganjali Dashti, M., Jafari, M. and Bahreini Esfahani, N. (2015). Antioxidant Effect of Thyme Essential Oil on Oxidative Stability of Chicken Nuggets. *International Journal of Food Engineering*, 1 (2): 115-120.
- [8] Kavas, G., Kavas, N. and Saygili, D. (2015). The effects of Thyme and Clove essential Oil for tified edible films on the Physical, chemical and microbiological characteristics of Kashar Cheese. *Journal of Food Quality*, 38: 405-412.
- [9] Marcial, G.E. (2016). Influence of oregano essential oil on traditional Argentinean cheese elaboration: effect on lactic starter cultures. *Revista Argentina de Microbiología*, 48 (3): 229- 235.
- [10] Moro, A. (2015). Dairy matrix effect on the transference of rosemary essential oil compounds during cheese making. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95:1507-1513.
- [11] Mohammadzadeh Milani, J., Khedmati, SH., Ghorbani Hasansarai, A., Golkar, A. (2017). The Effect of Tragacanth Gum in Physicochemical and Textural Properties of Lighvan Cheese during Ripening. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 6(1): 103-114.
- [12] Al.Otaibi, M. and El.Demerdash, H. (2008). Improvement of the quality and shelf life of concentrated yoghurt (labneh) by the addition of some essential oils. *African Journal of Microbiology Research*, 2:156-161.
- [13] El-Din, H.M.F., Ghita, E.I., Badran, S.M.A., Gad, A.S. and El-Said, M.M.



## Evaluation of antioxidant and antimicrobial effects of *Thymus vulgaris* essential oil on cream cheese

Malek Zadeh Haghighi, F.<sup>1</sup>, Lashkari, H.<sup>2\*</sup>

1. Department of Food Science and technology, Sarvestan Branch, Islamic Azad University, Sarvestan, Iran.  
2. Department of Food Science and technology, Zarindasht Branch, Islamic Azad University, Zarin Dasht, Iran.

### ABSTRACT

### ARTICLE INFO

Cheese is a dairy product that is susceptible to contamination by pathogenic and spoilage microorganisms. Microbial contamination can reduce its shelf life and Cause serious health risks to consumers. *Thymus vulgaris* essential oil has high antioxidant and antimicrobial activity and can improve and enhance the storage time of food systems. In order to evaluate the effect of *thymus vulgaris* essential oil on physicochemical, microbial and sensory properties of cream cheese, different percentages of thymus essential oil (0, 0.005, 0.01% and 0.015%) were added to cream cheese. Cheese sample were analyzed in the first, fourth and seventh weeks of storage. The results showed that Changes in essential oil percentage had significant effect ( $P < 0.05$ ) on acidity, dry matter, adhesiveness, IC50 and peroxide. With increasing essential oil percentage, a decrease in the level of acidity, adhesiveness, peroxide and IC50 was observed. Changes in essential oil percentage had no significant effect ( $P < 0.05$ ) on pH, fat, hardness and protein content of cheese. The results showed that storage period had a significant effect ( $p < 0.05$ ) on acidity, pH, dry matter, IC50, peroxide, adhesiveness, but had no significant effect ( $P < 0.05$ ) on protein, fat and hardness. During the storage time, Acidity, dry matter, protein and IC50 increased and pH and adhesiveness decreased. The addition of thymus essential oil did not have a significant effect ( $P < 0.05$ ) on coliforms but significantly decreased ( $P < 0.05$ ) mold and yeast and total count. The results showed that the addition of essential oil to cheese did not have a significant effect on color and texture but had a significant effect on taste and acceptance of cheese and improved the taste and acceptance. High percentage of essential oils reduced the sensory characteristics of cheese. In general, the treatment containing 0.005% essential oil was the best treatment for the sensory properties.

#### Article History:

Received 2019/ 01/ 13  
Accepted 2019/ 10/ 23

#### Keywords:

*Thymus vulgaris* essential oil,  
Cheese,  
Sensory,  
Physicochemical,  
Microbial.

DOI: 10.52547/fsct.18.119.205

\*Corresponding Author E-Mail:  
hlashkari@gmail.com