



اثرات بسته بندی با فیلم پلی اتیلنی پوشش دهی شده با منتول و کارواکرول بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبیولوژیکی و حسی پنیر موزارلای کم رطوبت

الهه جهدکاران^۱، سید ابراهیم حسینی^{۲*}، عبدالرضا محمدی نافچی^۳، لیلا نوری^۴

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشیار علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- استاد دانشگاه علوم مالزی USM، پنانگ، مالزی.

۴- استادیار علوم و صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۲۳

کلمات کلیدی:

بسته بندی فعال،

پنیر،

فساد میکروبی،

انبارمانی

هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر فیلم های پلی اتیلنی پوشش دهی شده با منتول و کارواکرول بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبیولوژیکی و حسی پنیر موزارلای کم رطوبت بود. در ابتدا، فیلم های پلی اتیلنی با محلول های متیل سلولز-هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی غلظت های مختلف منتول و کارواکرول (۰، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) پوشش دهی شدند و سپس، پنیر موزارلا با این فیلم های فعال بسته بندی شده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ضد میکروبی و حسی تیمارهای پنیر طی دوره نگهداری ۳۰ روزه در یخچال بررسی گردید. نتایج نشان داد که با گذشت زمان، مقادیر pH و رطوبت کلیه تیمارها به طور معنی داری کاهش یافت، در حالی که مقادیر اسیدیته و سفتی بافت پنیرها افزایش پیدا کرد، ولی سرعت تغییرات آنها در نمونه شاهد به طور قابل توجهی بیشتر از سایر نمونه ها بود ($p < 0.05$). بسته بندی پنیرها با فیلم های پلی اتیلنی فعال سبب کاهش سرعت رشد باکتری های مزوفیل و کپک ها و مخمرها در پنیرها گردید. در پایان دوره انبارمانی، کمترین تعداد کپک ها و مخمرها و بار میکروبی در نمونه های بسته بندی شده در فیلم های حاوی ۲٪ منتول و کارواکرول مشاهده شد. از لحاظ آلودگی /شرشیاکلی و /استافیلوکوکوس /اورئوس، نمونه های بسته بندی شده در فیلم های فعال تا روز آخر انبارمانی (روز سی ام) ایمن بودند، ولی نمونه شاهد در روز هفدهم غیرقابل قبول بود. بسته بندی پنیر موزارلا در فیلم های پلی اتیلنی حاوی سطوح مختلف منتول و کارواکرول همچنین موجب بهبود مشخصات پذیرش حسی پنیرها طی دوره انبارمانی در یخچال گردید. در نهایت نتایج حاصله نشان داد که فیلم های پلی اتیلنی پوشش دهی شده با محلول های حاوی ترکیبات فعال منتول و کارواکرول، مخصوصاً در غلظت ۲٪، تأثیر مثبتی بر توسعه دوره ماندگاری پنیر موزارلا داشت.

DOI: 10.22034/FSCT.20.137.60

DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.137.5.5

* مسئول مکاتبات:

۱- مقدمه

امروزه با افزایش جمعیت جهان، تقاضا برای محصولات غذایی و بسته بندی های غذایی افزایش یافته است. بسته بندی از ماده غذایی قرار گرفته در آن در مقابل فاکتورهای زیست محیطی مختلف نظیر اکسیژن، نور، حرارت، فشار و رطوبت محافظت می کند [۱]. بسته بندی های غذایی همچنین از طریق کاهش واکنش های شدت تخریبی نظیر واکنش های شیمیایی و رشد میکروبی، عمر ماندگاری محصولات غذایی را افزایش داده و ایمنی محصولات را بهبود می بخشد [۲]. در سال های اخیر، به منظور حفظ کیفیت مواد غذایی، بسته بندی های فعال توسعه یافته اند [۳]. در این سیستم های بسته بندی، از عوامل فعالی نظیر آنتی اکسیدان ها و عوامل ضد میکروبی استفاده می شود، که با گذشت زمان به تدریج به داخل بسته بندی رها می شوند [۴]. با این حال، جهت تولید بسته بندی های فعال بر پایه پلیمرهای سنتزی، نمی توان طی فرآیند تولید فیلم، مواد فعال را تلفیق نمود، زیرا در طی فرآیند تولید این فیلم ها از دماهای بالا استفاده می شود که این دمای بالا می تواند موجب تخریب عملکرد ترکیبات فعال مورد استفاده گردد. پوشش دهی فیلم های سنتزی با عوامل فعال، راهکاری مطلوب جهت غلبه بر این مشکل می باشد [۵].

امروزه توجه زیادی به سمت استخراج ترکیبات زیست فعال دارای فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی از منابع طبیعی گیاهی مختلف، معطوف شده است [۶-۸]. کارواکربول (۲-متیل-۵- (۱-متیل اتیل)-فنیل) یک ترکیب فعال فنولی از نوع مونوترپن است که در گیاهان آروماتیک و برخی از اسانس های گیاهی نظیر پونه کوهی، آویشن و زنیان یافت می شود [۹]. فعالیت ضد میکروبی قابل توجه کارواکربول در مقابل طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها، توسط محققین پیشین مورد تأیید قرار گرفته است [۱۰]. محققین دریافتند که فعالیت ضد میکروبی این ترکیب

زیست فعال به دلیل تأثیر آن بر ساختار و عملکرد غشاء سیتوپلاسمی میکروبی می باشد [۱۱]. متول، یک الکل تریپنی حلقوی است که از منابع گیاهی مختلف قابل استخراج می باشد و کاربردهای پزشکی مختلفی دارد. این ترکیب به فراوانی در نعنای فلفلی حضور دارد. تحقیقات پیشین بیانگر فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی بالای متول بودند [۱۲]. فعالیت ضد میکروبی متول نیز به تأثیر آن بر نفوذ پذیری غشاء سلول میکروبی و در نتیجه تراوش محتویات درون سلول به بیرون، نسبت داده شده است [۱۳].

پنیر موزارلا یکی از مهم ترین انواع پنیر به شمار می آید و بر اساس محتوای رطوبت آن، به دو دسته شامل انواع دارای رطوبت پایین (رطوبت بین ۴۵ تا ۵۴ درصد) و انواع دارای رطوبت بالا (رطوبت بین ۵۶ تا ۶۵ درصد)، طبقه بندی می شود. پنیر موزارلا دارای رطوبت پایین، به پنیر پیتزا معروف می باشد [۱۴]. این نوع پنیر جزو محصولات فسادپذیر قرار دارد، زیرا تنها به مدت ۳۰ روز در دمای یخچال قابل نگهداری است [۱۵]. در سال های اخیر مطالعات مختلفی در زمینه افزایش ماندگاری این پنیرها با استفاده از فیلم های فعال بسته بندی صورت گرفته است. به عنوان مثال، کاردوسا و همکاران (۲۰۲۲) با استفاده از فیلم فعال بر پایه پلی بوتیلن آدی پات-کوترفتالات (PBAT) تلفیق شده با اسانس پونه به افزایش ماندگاری میکروبی پنیر موزارلا پرداختند [۱۶]. چنگ و همکاران (۲۰۲۱) نیز با استفاده از فیلم های فعال بر پایه پلی اتیلن حاوی لینالول و تیمول، بار میکروبی پنیر موزارلا طی دوره انبارمانی را کاهش دادند [۱۵]. در تحقیق صورت گرفته توسط داسیلوادانبرگ و همکاران (۲۰۱۷) نیز کارایی ضدباکتریایی فیلم های فعال بر پایه استات سلولز تلفیق شده با اسانس فلفل در کاهش بار میکروبی پنیر گزارش گردید [۱۷]. بنابراین، این تحقیق به منظور تأثیر فیلم های پلی اتیلنی

پوشش‌دهی شده با کارواکرو و متتول به عنوان عوامل فعال ضد میکروبی، بر خصوصیات کیفی و میکروبیولوژیکی

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

فیلم پلی اتیلن دارای ضخامت $0.2/0$ mm از شرکت چاپ سلطان (کرج، ایران) خریداری شد. کارواکرو، متتول، محیط‌های کشت میکروبی و مواد شیمیایی مورد استفاده برای انجام آزمایشات از شرکت مرک (آلمان) خریداری شدند.

۲-۲- آماده‌سازی فیلم‌های پلی اتیلنی پوشش‌دهی شده با کارواکرو و متتول

محلول پوشش‌دهی، از مواد متیل سلولز و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) تهیه شد. ۷ گرم متیل سلولز و ۳ گرم HPMC به آهستگی به ۲۰۰ سی سی اتانول ۹۵ درصد اضافه شدند و بر روی یک هات پلیت، همراه با یک همزن مغناطیسی حرارت‌دهی گردیدند. زمانی که دما به ۶۵ درجه سانتی گراد رسید، حرارت‌دهی متوقف شد. همزمان با هم‌زدن، مخلوط پلی اتیلن گلاکول و ۱۰۰ سی سی آب مقطر، به عنوان پلاستی‌سایزر، به مخلوط سرد شده‌ی MC-HPMC اضافه گردید. سپس، کارواکرو و متتول در سطوح مختلف به محلول پوشش‌دهی اضافه گردید، تا مواد پوشش‌دهی حاوی عوامل ضد میکروبی در سطوح نهایی ۰، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد وزنی/وزنی حاصل آمد. واسط پوشش‌دهی با استفاده از یک غلطک بر روی فیلم پلی اتیلن قرار گرفت و سپس فیلم‌ها در شرایط عادی خشک شدند. افزودن عوامل ضد میکروبی و پوشش‌دهی فیلم‌ها با پوشش‌های تهیه شده، در دمای پایین انجام گرفت تا آفت عوامل ضد میکروبی به دلیل فراریشان، به حداقل برسد [۱۸].

پنیر موزارلای کم‌رطوبت انجام گرفت.

۲-۳- آماده‌سازی نمونه‌های پنیر موزارلای بسته‌بندی شده

پنیر موزارلای کم‌رطوبت تازه از کارخانه پگاه خریداری شده و به دسته‌های مختلف ۱۵۰ گرمی تقسیم شد، هر کدام از این قطعات پنیر با فیلم‌های پلی اتیلنی پوشش‌دهی شده با ترکیب متیل سلولز-هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی سطوح مختلف ترکیبات فعال کارواکرو و متتول بسته‌بندی شده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد (دمای یخچال) به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند. در روزهای ۰، ۷، ۱۷ و ۳۰ انبارمانی، آزمون‌های مربوطه بر روی نمونه‌های پنیر انجام گرفت.

۲-۴- آنالیز ترکیب شیمیایی پنیرها

اندازه‌گیری pH و اسیدیته تیمارها بر اساس روش بیان شده توسط سازمان ملی استاندارد شماره ۲۸۵۲ صورت گرفت [۱۹]. نمونه داخل بشر ۵۰ میلی لیتری ریخته شده و الکترود pH متر کاملاً داخل نمونه قرار داده شد. دمای نمونه حدود ۲۰ درجه سلسیوس بود و حداقل زمان تماس نمونه با الکترود، ۴۵ ثانیه در نظر گرفته شد. سپس pH قرائت گردید. جهت اندازه‌گیری اسیدیته، ابتدا نمونه پنیر در مخلوط‌کن مناسب کاملاً نرم و مخلوط شد. سپس ۲۰ گرم از آن در بشر توزین شده و در مقداری آب حل گردید. بعد از وارد کردن کلیه محتویات آن به داخل بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری، به حجم رسانده شد و با استفاده از صافی صاف گردید و ۲۵ میلی لیتر از محلول صاف شده به یک بشر مناسب انتقال داده شد و به آن ۰/۵ میلی لیتر فنل فتالین افزوده و با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال عیارسنجی گردید. این عمل تا ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ و پایداری آن به مدت ۵ ثانیه ادامه یافت. میزان اسیدیته از طریق رابطه زیر محاسبه شد، که در این رابطه: N مقدار میلی لیتر سود ۰/۱

نرمال؛ M1 وزن نمونه برابر ۲۰ گرم؛ V حجم نمونه برابر ۲۵ میلی لیتر است.

$$\text{حجم بالن مورد استفاده} = \frac{N \times 0.009 \times 100}{M1} \times \frac{1}{V} = \text{اسیدیتة}$$

اندازه گیری درصد رطوبت نمونه های پنیر بر اساس روش ارائه شده توسط سازمان ملی استاندارد ایران به شماره ۱۷۵۳ انجام شد. به طور خلاصه، ۳ گرم از نمونه در پلیت توزین شد و در آن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید و در نهایت با استفاده از رابطه زیر، محتوای رطوبت پنیرها مشخص گردید [۲۰].

$$\text{رطوبت (\%)} = \frac{\text{وزن نهایی وزن اولیه}}{\text{وزن نمونه}} \times 100$$

۲-۵- آنالیز میکروبی پنیرها

۲-۵-۱- شمارش کلی میکروبی

شمارش کلی میکروبی در نمونه های پنیر موزارلا با استفاده از روش کشت آمیخته بیان شده توسط استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۲-۱ صورت گرفت. در ابتدا، رقت 10^{-3} از نمونه های پنیر آماده سازی شد. سپس با استفاده از پی پت سترون، ۱ میلی لیتر از رقت مورد نظر به هر یک از دو پتری دیش سترون منتقل گردید. حدود ۱۵-۱۲ میلی لیتر محیط کشت PCA با دمای ۴۷-۴۴ درجه سلسیوس در هر پلیت ریخته شد. پلیت ها با محیط کشت به وسیله حرکت چرخشی با دقت مخلوط شده و روی سطح افقی و خنک قرار داده شدند تا کاملاً جامد گردند. سپس پلیت های آماده شده به صورت وارونه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت زمان ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. بعد از دوره گرمخانه گذاری، تعداد کلنی های میکروبی شمارش شده و به صورت لگاریتم تعداد میکروارگانیسم های هوازی در هر گرم نمونه ها ($\log \text{CFU/g}$) گزارش گردیدند [۲۱].

۲-۵-۲- بررسی حضور اشرشیاکلی

بررسی اشرشیاکلی در نمونه های پنیر بر طبق روش بیان شده توسط سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۵۲۳۴ صورت گرفت. در ابتدا رقت مورد نظر از نمونه آماده سازی شد. سپس ۳ لوله آزمایش بزرگ حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط کشت غنی کننده با غلظت دو برابر انتخاب شده و به هر یک به وسیله پی پت سترون ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه (رقت اولیه) اضافه گردید. ۳ لوله کوچک دیگر حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط کشت غنی کننده با غلظت معمولی انتخاب شده و به هر کدام از آن ها توسط پی پت سترون ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه اضافه گردید. به کمک یک مخلوط کن مناسب، ماده کشت داده شده با محیط به خوبی مخلوط شد. لوله های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از این زمان، در صورت عدم مشاهده گاز، لوله ها تا ۲۴ ساعت دیگر گرمخانه گذاری شدند. برای بررسی در دومین محیط انتخابی، از لوله های گرمخانه گذاری شده حاوی گاز به وسیله حلقه کشت در دومین محیط انتخابی که قبلاً در حمام آب تا ۴۴ درجه سلسیوس گرم شده بود، کشت داده شد. سپس ماده کشت داده شده مخلوط گردید. لوله های کشت داده شده در مرحله، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۴ درجه سلسیوس در حمام آب، گرمخانه گذاری شدند. اگر در این مرحله گاز مشاهده نمی شد، گرمخانه گذاری تا ۴۸ ساعت ادامه می یافت. جهت بررسی در آب پپتونه، از لوله های گرمخانه گذاری شده که تشکیل گاز داده بودند، با حلقه کشت در آب تریپتونه که قبلاً در حمام آب با دمای ۴۴ درجه سلسیوس قرار گرفته بود، کشت داده شده و مخلوط گردید. لوله های کشت داده شده در حمام آب و در دمای ۴۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. در نهایت برای آزمایش تولید اندول، ۰/۵ میلی لیتر معرف اندول به لوله های حاوی آب تریپتونه گرمخانه گذاری شده، اضافه شد و به خوبی مخلوط گردید و بعد از یک

دقیقه بررسی شد. آشکار شدن رنگ قرمز در فاز الکلی نشانگر وجود اندول است (لوله‌های مثبت) [۲۲].

۲-۵-۳- بررسی حضور استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت

بررسی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌ها با استفاده از روش بیان شده توسط سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۶۸۰۶-۳ انجام گرفت. بدین صورت که مقدار معینی از سوسپانسیون اولیه در محیط کشت انتخابی تلقیح شد. محیط تلقیح شده در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری گردید. وجود استافیلوکوکوس اورئوس با احیای تلوریت پتاسیم^۱ مشخص شد. از لوله‌های مثبت احتمالی پس از مدت زمان ۲۴ ساعت و از همه لوله‌های باقیمانده پس از مدت زمان ۴۸ ساعت در سطح محیط کشت انتخابی برد-پارکر آگار^۲ کشت داده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. با انجام آزمون کواگولاز، کلنی‌های مشخص و یا نامشخص تأیید شدند [۲۳].

۲-۵-۴- شمارش کپک و مخمر

شمارش تعداد کپک و مخمر در نمونه‌های پنیر موزارلا با استفاده از روش کشت آمیخته بیان شده توسط سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۱۰۱۵۴ انجام گرفت. با استفاده از پی‌پت سترون، ۱ میلی‌لیتر از رقت مورد نظر به هر یک از دو پتری‌دیش سترون منتقل گردید. حدود ۱۵-۱۲ میلی‌لیتر محیط کشت YGC با دمای ۴۷-۴۴ درجه سانتی‌گراد در هر پلیت ریخته شد. پلیت‌ها با محیط کشت به وسیله حرکت چرخشی با دقت مخلوط شده و روی سطح افقی و خنک قرار داده شدند تا کاملاً جامد گردند. سپس پلیت‌های آماده

شده به صورت وارونه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۵ روز گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از دوره گرمخانه‌گذاری، تعداد کلنی‌های کپک و مخمر شمارش شدند [۲۴].

۲-۶- ارزیابی پذیرش حسی پنیرها

نمونه‌های موزارلای کم رطوبت شاهد و بسته‌بندی شده در فیلم‌های پلی‌اتیلنی پوشش‌دهی شده با ترکیب متیل سلولز-هیدروکسی پروپیل متیل سلولز حاوی سطوح مختلف ترکیبات فعال کارواکرول و متتول، توسط ۷ ارزیابی آموزش‌دیده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از ارزیاب‌ها خواسته شد تا به ارزیابی پذیرش کلی با در نظر گرفتن طعم، رنگ، بو و بافت نمونه‌های پنیر موزارلای کم رطوبت بپردازند. نمونه‌های پنیر در اختیار ارزیاب‌های قرار گرفتند و از آن‌ها خواسته شد که بر اساس آزمون ۵ نقطه‌ای هدونیک به پذیرش کلی نمونه‌ها امتیاز دهند، به طوری که عدد ۵: خیلی خوب، عدد ۴: خوب، عدد ۳: متوسط، عدد ۲: بد و عدد ۱: خیلی بد می‌باشد.

۲-۹- روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

میانگین هر پارامتر، توسط آنالیز تجزیه واریانس در طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22.0 تجزیه و تحلیل شدند. تفاوت‌های بین تیمارها، در آزمون دانکن و در سطح اطمینان ۹۵ درصد بیان گردیده و نمودارهای مربوطه با Excel 2013 رسم شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقادیر pH پنیر موزارلا

تغییرات مقادیر pH نمونه‌های پنیر موزارلای کم رطوبت طی دوره نگهداری، در شکل ۱ نشان داده شده است. در شروع دوره نگهداری، میزان pH پنیر موزارلا ۵/۷۸ بود. در همه نمونه‌های پنیر، طی دوره نگهداری میزان pH به طور

1- Potassium tellurite (K₂TeO₃)

2- Baird – Parker agar

با نتایج این تحقیق نشان دادند که طی دوره انبارمانی، میزان pH نمونه‌های پنیر کاهش یافت، ولی استفاده از پوشش فعال حاوی اسانس زنجبیل توانست سرعت تغییرات pH را در مقایسه با شاهد کاهش دهد [۲۹]. هراس (۲۰۱۰) نیز گزارش کرد که بسته‌بندی پنیر چدار با فیلم LDPE حاوی سطوح مختلف عامل ضد میکروبی تیمول، از طریق اثر ممانعت‌کنندگی بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک، سبب کاهش تغییرات pH طی ۳۶ روز انبارمانی گردید [۳۰].

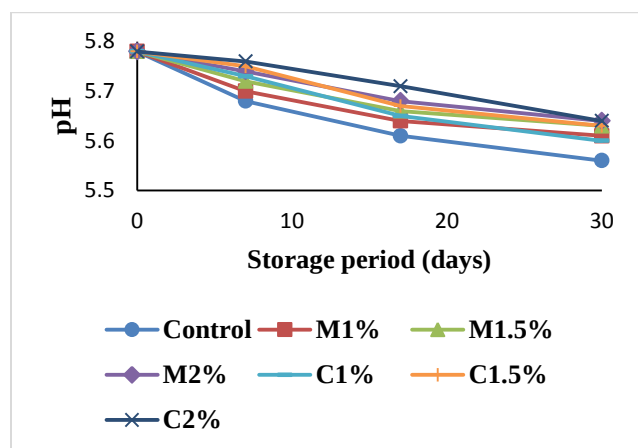


Figure 1. Changes in pH values of Mozzarella cheese samples during the 30-days storage period

۳-۲- اسیدیته پنیر موزارلا

پنیر یک فرآورده لبنی تخمیری است که در طی مراحل تولید و رسیدن این فرآورده، کنترل تولید اسید لاکتیک و سایر اسیدها از لاکتوز ضروری می‌باشد. اسیدیته موجب جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد شده و فعالیت کواگولانت را طی مراحل تولید و رسیدن تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. اسیدیته همچنین موجب حل شدن فسفات کلسیم کلوئیدی شده و باعث افزایش خواص سینرژیستی شده و فعالیت آنزیم‌ها را طی رسیدن پنیر تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. همچنین اسیدیته بر روی کیفیت بافت و طعم پنیر مؤثر است [۳۱]. تغییرات میانگین مقادیر اسیدیته نمونه‌های مختلف پنیر طی دوره انبارمانی ۳۰ روزه، در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطوری که در نمودار مشاهده می‌شود،

معنی‌داری کاهش یافت، ولی تغییرات pH در نمونه شاهد بیشتر از نمونه‌های بسته‌بندی شده در فیلم‌های فعال ضد میکروبی بود. کاهش pH در طی دوره نگهداری می‌تواند به دلایل مختلفی از جمله مصرف لاکتوز، هیدرولیز چربی و پروتئین که باعث تولید اسید لاکتیک، اسیدهای چرب و آمینواسیدها می‌شوند، مربوط باشد، به طوری که تولید همه این اسیدها موجب کاهش pH در پنیر می‌گردد [۲۵]. تأثیر فیلم‌های ضد میکروبی پوشش دهی شده با سطوح مختلف کارواکرول و متول بر کاهش تغییرات pH طی دوره انبارمانی در ارتباط با کاهش سرعت تکثیر باکتری‌های موجود در نمونه‌های پنیر، مخصوصاً باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد، زیرا این باکتری‌های با مصرف قند لاکتوز موجود در پنیرها، اسید لاکتیک تولید کرده و pH را کاهش می‌دهند، ترکیبات فعال کارواکرول و متول از طریق کاهش سرعت تکثیر این باکتری‌های و ممانعت از رشد آن‌ها می‌توانند تولید اسید در محیط را کاهش دهند و تغییرات کمتری در میزان pH ایجاد می‌گردد [۲۶]. در روز آخر انبارمانی در دمای یخچال، بیشترین میزان pH در نمونه‌های حاوی ۲ درصد متول و کارواکرول به دست آمد (به طور مشابه؛ ۵/۶۴) و بین این دو تیمار و پنیرهای حاوی ۱/۵ درصد متول و کارواکرول از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). بر طبق سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۴۶۵۸، میزان pH پنیر موزارلای کم‌رطوبت بایستی در محدوده ۵/۸۰-۵/۶۰ باشد [۲۷]. با مقایسه نتایج حاصله در این تحقیق با استاندارد ملی ایران می‌توان دریافت که میزان pH کلیه تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق در تمامی روزهای انبارمانی در محدوده تعیین شده توسط استاندارد قرار داشت، به استثنای نمونه شاهد که در روز آخر به کمتر از این حد رسید. محققین اظهار داشتند که اسانس‌های گیاهی از طریق غیرفعال کردن باکتری‌های اسید لاکتیک، مصرف لاکتوز و تولید اسید را کاهش می‌دهند [۲۸]. کاواس و همکاران (۲۰۱۵) نیز به طور موافق

از حد توصیه شده توسط استاندارد بود. سایر تیمارها تا روز آخر نگهداری در محدوده تعیین شده قرار داشتند. در مطالعه صورت گرفته توسط کاواس و کاواس (۲۰۱۴) مشاهده گردید که میزان اسیدیته پنیر کنترل به طور قابل توجهی بالاتر از نمونه‌های پوشش‌دهی شده با فیلم‌های برپایه پروتئین آب‌پنیر حاوی غلظت‌های مختلف اسانس نعناع بود. افزایش دوره نگهداری، منجر به افزایش میزان اسیدیته کلیه تیمارهای پنیر گردید، که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی داشت [۳۳]. در تحقیق خزائی و همکاران (۲۰۲۲) نیز طی دوره انبارمانی ۶۰ روزه، میزان اسیدیته نمونه‌های پنیر به طور معنی‌داری افزایش یافت، ولی استفاده از فیلم‌های فعال حاوی اسانس‌های سیر، زنجبیل و دارچین توانست سرعت تولید اسید در نمونه‌های پنیر را در مقایسه با شاهد به طور قابل توجهی کاهش دهد [۳۴].

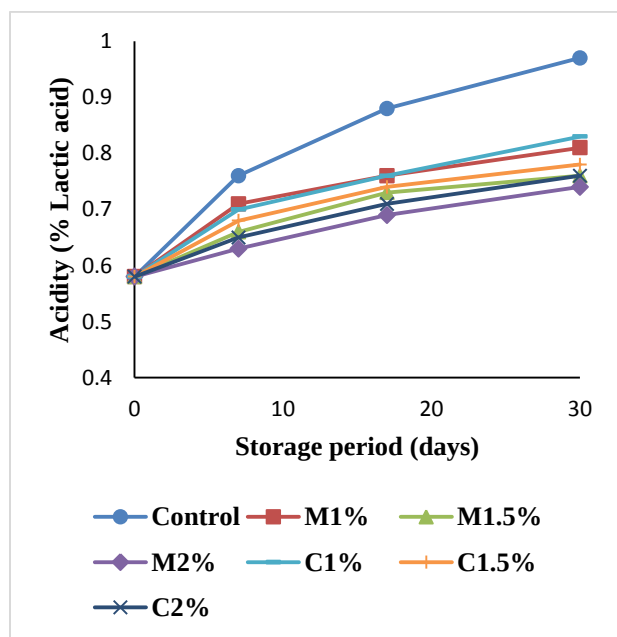


Figure 2. Changes in acidity values of Mozzarella cheese samples during the 30-days storage period

۳-۳- رطوبت پنیر موزارلا

تغییرات میانگین مقادیر رطوبت نمونه‌های مختلف پنیر موزارلای کم‌رطوبت طی دوره انبارمانی، در شکل ۳ نشان

در شروع دوره انبارمانی، میزان اسیدیته نمونه‌های مختلف پنیر ۰/۵۸ درصد بود و با گذشت زمان، از روز صفر تا روز سی‌ام انبارمانی در یخچال، میزان اسیدیته کلیه نمونه‌های پنیر به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$)، ولی سرعت افزایش آن در نمونه شاهد به طور قابل توجهی بیشتر از پنیرهای بسته‌بندی شده در فیلم‌های پلی‌اتیلنی پوشش‌دهی شده با ترکیبات فعال منتول و کارواکرول بود، به طوری که در نمونه‌های حاوی بالاترین سطوح منتول و کارواکرول (غلظت ۲ درصد)، میزان اسیدیته از ۰/۵۸ درصد در روز اول، به ترتیب به ۰/۷۴ و ۰/۷۶ درصد تا روز سی‌ام افزایش نشان داد، در حالی که در نمونه شاهد، میزان اسیدیته در روز آخر به ۰/۹۷ درصد رسید. با این حال، در روز آخر انبارمانی، بین مقادیر اسیدیته پنیرهای حاوی ۱/۵ و ۲ درصد منتول و کارواکرول و ۱ درصد منتول از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). افزایش میزان اسیدیته تیمارهای مختلف پنیر در طول دوره نگهداری، به دلیل تولید اسید لاکتیک توسط فلور میکروبی پنیر می‌باشد [۲۵]. تجزیه لاکتوز، مقدمه کلیه تبدیلات، تولید اسید و تنظیم pH مناسب در پنیر است، که این امر در هنگام رسیدن طبیعی پنیر سبب هدایت پروتئولیز در مسیر صحیح و مانع فساد آن می‌گردد. pH و اسید محیط دلمه، تأثیر قابل توجهی بر روی درصد خروج آب در مرحله تولید، فعالیت آنزیم‌ها و فلور میکروبی در طول مراحل تولید و دوره رسیدن و همچنین طعم و قوام پنیر دارد. به طور کلی، یکی از واکنش‌های مهم در تولید پنیرها، تجزیه کربوهیدرات‌ها می‌باشد [۳۲]. سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۴۶۵۸، حداکثر میزان اسیدیته پنیر موزارلای کم‌رطوبت را ۰/۸۰ (درصد بر حسب اسید لاکتیک) تعیین کرده است [۲۷]، که بر طبق نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، میزان اسیدیته تیمار شاهد در روز ۱۷ و ۳۰ و میزان اسیدیته پنیرهای بسته‌بندی شده در فیلم‌های حاوی ۱ درصد منتول و کارواکرول در روز ۳۰ انبارمانی در یخچال، بیشتر

نیز کاهش محتوای رطوبت پنیرها طی دوره نگهداری ۶۰ روزه را مشاهده کردند. این محققین اظهار داشتند که استفاده از پوشش خوراکی برپایه پروتئین آب پنیر توانست سرعت کاهش رطوبت در پنیرها را کاهش دهد [۳۶].

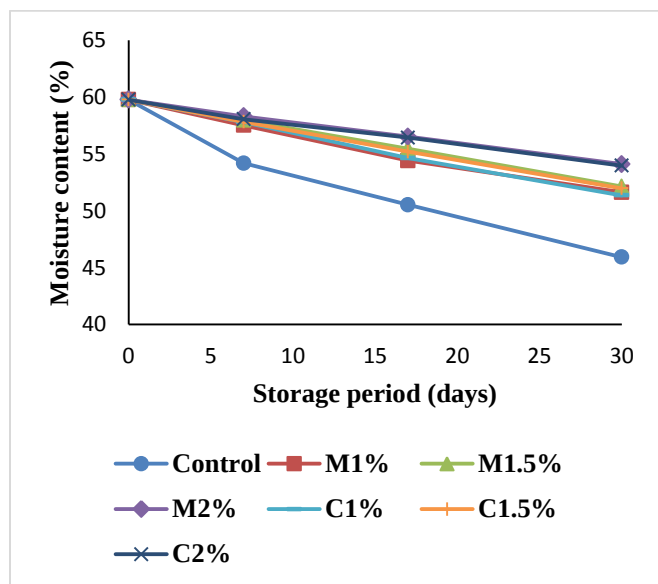


Figure 3. Changes in moisture content of Mozzarella cheese samples during the 30-days storage period

۴-۳- نتایج آزمون‌های میکروبی پنیر موزارلا

۴-۳-۱- شمارش کلی میکروبی

تغییرات میانگین لگاریتم تعداد کلی میکروبی در نمونه‌های مختلف پنیر موزارلای کم رطوبت طی دوره انبارمانی ۳۰ روزه در دمای یخچال، در شکل ۴ نشان داده شده است. در ابتدای دوره نگهداری، تفاوتی بین شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های مختلف پنیر وجود نداشت. با افزایش دوره انبارمانی در دمای یخچال، به دلیل رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها در پنیرها، شمارش کلی میکروبی به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) و همانطوری که انتظار می‌رفت، بیشترین میزان رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها مربوط به نمونه شاهد بود که از روز اول تا روز سی‌ام، از $3/11 \log \text{CFU/g}$ به $6/41$ افزایش یافت. سرعت افزایش بار میکروبی در پنیرهای بسته‌بندی شده در فیلم پلی اتیلنی

داده شده است. در ابتدا دوره انبارمانی، محتوای رطوبت پنیرها ۵۹/۷۶ درصد بود و با گذشت زمان از روز اول تا روز سی‌ام انبارمانی در یخچال، محتوای رطوبت پنیرها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$)، ولی همانطوری که انتظار می‌رفت، سرعت کاهش رطوبت در نمونه شاهد به طور قابل توجهی بیشتر از نمونه‌های بسته‌بندی شده در فیلم فعال حاوی سطوح مختلف متول و کارواکرول بود. کاهش رطوبت نمونه‌های پنیر طی دوره انبارمانی در یخچال، در ارتباط با خروج رطوبت از پنیر به محیط اطراف آن می‌باشد. کاهش افت رطوبت طی دوره انبارمانی در اثر بسته‌بندی پنیرهای موزارلا با فیلم‌های فعال حاوی سطوح مختلف کارواکرول و متول، به خصوصیات ممانعت‌کنندگی این فیلم‌ها در برابر بخار آب برمی‌گردد. افزودن عوامل فعال به فیلم پلی اتیلن سبب کاهش نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های تولیدی می‌گردد [۱۸]، در نتیجه تبخیر رطوبت از سطح پنیرها کاهش می‌یابد. به طور کلی، در نمونه شاهد محتوای رطوبت در روز آخر به ۴۵/۹۳ درصد کاهش یافت، در حالی که در نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم‌های حاوی بالاترین سطوح متول و کارواکرول (سطح ۲ درصد)، محتوای رطوبت در روز آخر به ترتیب به ۵۴/۱۰ و ۵۳/۹۷ درصد رسید. سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۴۶۵۸، میزان رطوبت پنیر موزارلای کم رطوبت را حداکثر ۶۱ درصد وزنی تعیین کرده است [۲۷]. مقایسه نتایج حاصله در این تحقیق با میزان توصیه شده توسط استاندارد ملی ایران نشان داد که محتوای رطوبت کلیه تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش تا آخرین روز انبارمانی در دمای یخچال، در حد قابل قبول بود. کانوامبونا و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند که پوشش دهی پنیر تازه شیر بز با پوشش‌های فعال حاوی اسانس‌های رزماری و پونه، به دلیل خصوصیات ممانعت‌کنندگی خوب این فیلم‌ها در برابر بخار آب، افت رطوبت پنیرها طی دوره انبارمانی را به طور قابل توجهی کاهش داد [۳۵]. راموس و همکاران (۲۰۱۲)

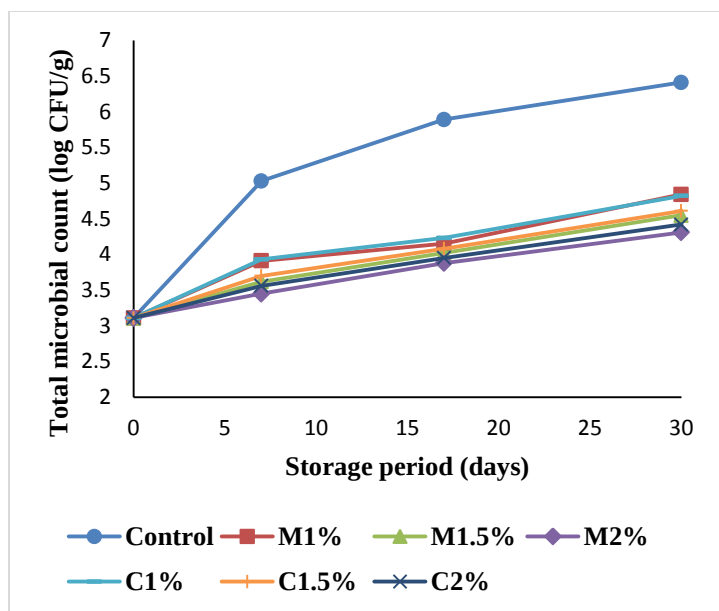


Figure 4. Changes in total microbial count of Mozzarella cheese samples during the 30-days storage period

۳-۴-۲- بررسی حضور/شرشیاکلی در پنیرها

باکتری/شرشیاکلی یک باکتری بیماری‌زا و گرم‌منفی است که می‌تواند پنیرها را آلوده کند [۴۱]. نتایج بررسی حضور باکتری گرم‌منفی/شرشیاکلی در نمونه‌های پنیر موزارالا کم‌رطوبت، در جدول ۱ نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که در نمونه شاهد تا روز هفتم/شرشیاکلی یافت نشد، ولی در روز هفدهم این باکتری در نمونه شاهد مشاهده شده و تا روز سی‌ام تعداد آن به طور معنی‌داری افزایش یافت. با این حال، در نمونه‌های بسته‌بندی شده در فیلم‌های فعال حاوی سطوح مختلف ترکیبات لینالول و تیمول تا روز آخر/شرشیاکلی یافت نشد. منتول و کارواکرول، ترکیبات فعال ضد میکروبی هستند که باعث متلاشی شدن غشاء خارجی در باکتری‌های گرم‌منفی شده و موجب آزاد شدن لیپوپلی‌ساکاریدها و افزایش تولید ترکیبات کلونیدی می‌شوند [۴۲]. سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۲۴۰۶ بیان کرد که/شرشیاکلی در پنیر موزارالا بایستی منفی باشد [۴۳]. از این رو، نمونه شاهد از روز

پوشش‌دهی شده با بالاترین سطح منتول و کارواکرول (غلظت ۲ درصد) طی دوره انبارمانی به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$), به طوری که در روز آخر انبارمانی، بار میکروبی کل در این دو تیمار، به ترتیب 4.42 و 4.31 log CFU/g به دست آمد و بین این دو تیمار از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های پلی‌اتیلنی پوشش‌دهی شده با عوامل فعال کارواکرول و منتول وابسته به غلظت بود، به طوری که با افزایش غلظت این دو عامل ضد میکروبی، فعالیت عملکردی فیلم‌های فعال بسته‌بندی به طور معنی‌داری افزایش یافته و شمارش کلی باکتریایی کاهش نشان داد. به طور کلی تأیید شده است که در غلظت‌های بالاتر عوامل ضد میکروبی در فیلم‌ها مهاجرت ترکیبات بیشتر اتفاق می‌افتد و در نتیجه مقدار بیشتری از این ترکیبات در واسط یافت می‌گردد [۳۷]. فعالیت ضد میکروبی کارواکرول و منتول اساساً در ارتباط با خاصیت هیدروفوبی ذاتی آن‌ها می‌باشد [۳۸]. افزایش فعالیت ضد باکتریایی پوشش فعال حاوی اسانس هل در کاهش بار میکروبی پنیر سفید نیز در تحقیق حمزه‌ای و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده گردید [۳۹]. سوپاکول (۲۰۰۴) نیز دریافت که پوشش‌دهی پنیر چدار با فیلم‌های حاوی لینالول^۱ و متیل‌کاوایکول^۲ موجب کاهش بار میکروبی کل پنیرها طی دوره انبارمانی ۹-۱۵ روزه گردید [۴۰]. در تحقیق صورت گرفته توسط کاردوسا و همکاران (۲۰۲۲) نیز کاهش بار میکروبی در نمونه‌های پنیر موزارالا در اثر استفاده از فیلم فعال بر پایه پلی‌بوتیلن آدی‌پات-کوترفتالات (PBAT) تلفیق شده با اسانس پونه گزارش گردید [۱۶].

1- Linalool

2- Methylchavicol

داد. با این حال، در فیلم های حاوی سطوح بالای کارواکول و متول (۱/۵ و ۲ درصد)، تا آخرین روز نگهداری در یخچال، *استافیلوکوکوس اورئوس* یافت نشد، این نتایج در ارتباط با انتقال تدریجی عوامل ضد میکروبی از لایه فیلم به ماده غذایی در سیستم های پوشش دهی ضد میکروبی می باشد. با انتقال تدریجی عوامل ضد میکروبی، غلظت این ترکیبات فعال در سطح ماده غذایی تا روز آخر انبارمانی در حد مطلوب بوده و از محصول غذایی در برابر میکروارگانیسم ها محافظت می نماید [۴۵]. بر طبق سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۲۴۰۶، *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر موزارلا باید منفی باشد [۴۳]، از این رو، نمونه شاهد از روز هفدهم به بعد از لحاظ میکروبی غیر قابل مصرف است. کاواس و همکاران (۲۰۱۶) به طور موافق با نتایج پژوهش حاضر مشاهده کردند که استفاده از فیلم های فعال حاوی اسانس زنجبیل توانست رشد باکتری های *شرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در پنیر Kashar را طی دوره نگهداری به طور قابل توجهی کاهش دهد [۴۶]. سیدیم و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش کردند که در پنیرهای Kasar تلقیح شده با *استافیلوکوکوس اورئوس*، استفاده از فیلم های فعال حاوی اسانس پونه توانست پس از ۲۴ ساعت، موجب کاهش این باکتری تا ۲/۱۵ لگاریتم در مقایسه با شاهد گردد [۴۷].

Table 2. Changes in *Staphylococcus aureus* number of Mozzarella cheese samples during the 30-days storage period

Samples	Day 0	Day 7	Day 17	Day 30
Control	ND	ND	26.35 ± 0.11 ^b	37.77 ± 0.24 ^a
M1%	ND	ND	ND	ND
M1.5%	ND	ND	ND	ND
M2%	ND	ND	ND	ND
C1%	ND	ND	ND	ND
C1.5%	ND	ND	ND	ND
C2%	ND	ND	ND	ND

هفدهم به بعد از لحاظ میکروبی غیر قابل مصرف است. کاواس و کاواس (۲۰۱۴) به بررسی تأثیر پوشش فعال حاوی غلظت های مختلف اسانس نعناع، بر خصوصیات میکروبی پنیر لور پرداخته و به طور موافق با نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که افزایش غلظت اسانس نعناع در پوشش های خوراکی، تعداد *شرشیاکلی* و *کپک ها* و مخمرها را در پنیرها به طور قابل توجهی کاهش داد، به نحوی که در بالاترین غلظت این اسانس (سطح ۴ درصد)، *شرشیاکلی* یافت نشد [۳۳]. تأثیر فیلم بایونانو کامپوزیتی فعال تلفیق شده با اسانس دارچین در کاهش تعداد *شرشیاکلی* در پنیر نیز در تحقیق شارما و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده گردید [۴۴].

Table 1. Changes in *Escherichia coli* number of Mozzarella cheese samples during the 30-days storage period

Samples	Day 0	Day 7	Day 17	Day 30
Control	ND	ND	14.69 ± 0.08 ^b	29.44 ± 0.16 ^a
M1%	ND	ND	ND	ND
M1.5%	ND	ND	ND	ND
M2%	ND	ND	ND	ND
C1%	ND	ND	ND	ND
C1.5%	ND	ND	ND	ND
C2%	ND	ND	ND	ND

*Values represent mean ± SD. Different letters in each row represent statistical significant difference at 5% level.

۳-۴-۳- بررسی حضور *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های پنیر

نتایج بررسی حضور باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های پنیر موزارلا کم رطوبت، در جدول ۲ نشان داده شده است. در نمونه شاهد تا روز هفتم *استافیلوکوکوس اورئوس* یافت نشد، ولی در روز هفدهم این باکتری در نمونه شاهد مشاهده گردید و تا روز سیام تعداد این میکروارگانیسم به طور معنی داری افزایش نشان

تا روز آخر در حد قابل پذیرش تعیین شده توسط استاندارد ایران بود. آگوتیر و همکاران (۲۰۱۳) اظهار داشتند که کارواکرول یک ترکیب ضد میکروبی است که در برابر طیف وسیعی از قارچ‌ها، مخمرهای و باکتری‌های عامل فساد یا بیماری‌زا فعالیت دارد [۴۹]. حمزه‌ای و همکاران (۲۰۲۲) نیز مشاهده کردند که پوشش فعال حاوی اسانس هل فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی از خود نشان داده و توانست موجب مهار رشد کپک‌ها و مخمرها در پنیر سفید گردد [۳۹].

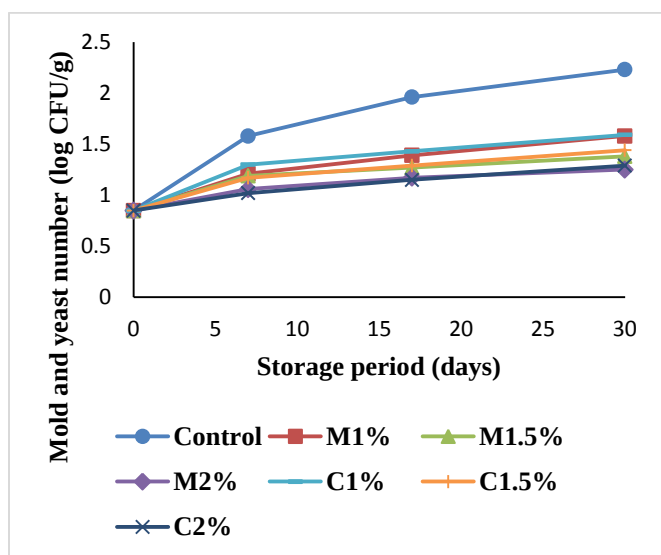


Figure 5. Changes in mold and yeast number of Mozzarella cheese samples during the 30-days storage period

۳-۵- ارزیابی حسی پنیر موزارلا

تغییرات میانگین امتیازات پذیرش کلی نمونه شاهد و پنیرهای بسته‌بندی شده در فیلم‌های پلی اتیلنی پوشش‌دهی شده با محلول‌های حاوی سطوح مختلف ترکیبات فعال متول و کارواکرول طی دوره انبارمانی ۱۷ روزه در دمای یخچال، در شکل ۶ آورده شده و نشان می‌دهد که در روز اول، همه تیمارهای پنیر مورد بررسی در این تحقیق امتیاز کامل پذیرش کلی را کسب نمودند. با گذشت زمان از روز اول تا روز آخر نگهداری در یخچال، امتیاز پذیرش کلی

*Values represent mean $\pm$ SD. Different letters in each row represent statistical significant difference at 5% level.

۳-۴- شمارش کپک و مخمر در پنیرها

تغییرات میانگین لگاریتم تعداد کپک‌ها و مخمرها در نمونه‌های مختلف پنیر موزارلا طی دوره انبارمانی ۳۰ روزه در دمای یخچال، در شکل ۵ نشان داده شده است. در ابتدای دوره نگهداری، تفاوتی بین تعداد کپک‌ها و مخمرها در نمونه‌های مختلف پنیر وجود نداشت. با گذشت زمان از روز اول تا روز سی‌ام، در اثر تکثیر کپک‌ها و مخمرها در نمونه‌ها، تعداد این میکروارگانیسم‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) و همانطوری که انتظار می‌رفت، بیشترین تعداد کپک‌ها و مخمرها مربوط به نمونه شاهد بود که از روز اول تا روز سی‌ام، از $0.85 \log \text{CFU/g}$ به $2.23 \log \text{CFU/g}$ افزایش یافت. سرعت افزایش تعداد کپک‌ها و مخمرها در پنیرهای بسته‌بندی شده در فیلم پلی اتیلنی پوشش‌دهی شده با بالاترین سطح متول و کارواکرول (غلظت ۲ درصد) طی دوره انبارمانی به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$)، به طوری که در روز آخر انبارمانی، تعداد کپک و مخمر در این دو تیمار، به ترتیب $1.25 \log \text{CFU/g}$ و $1.29 \log \text{CFU/g}$ به دست آمد و بین این دو تیمار از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). کارواکرول و متول در مکان‌های مختلفی از حلقه فنولی خود، گروه هیدروکسیل دارند. این ترکیبات، غشای خارجی میکروارگانیسم‌ها را تخریب می‌کنند و موجب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشای سلولی به ATP می‌شود. خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ آن می‌گردد [۴۸]. بر طبق سازمان ملی استاندارد ایران شماره ۲۴۰۶، حداکثر تعداد کپک‌ها و مخمرها در پنیر موزارلا بایستی $2 \log \text{cfu/g}$ باشد [۴۳]. نتایج حاصله در این تحقیق نشان داد که تعداد کپک‌ها و مخمرها در نمونه شاهد تا روز هفدهم و در سایر نمونه‌ها

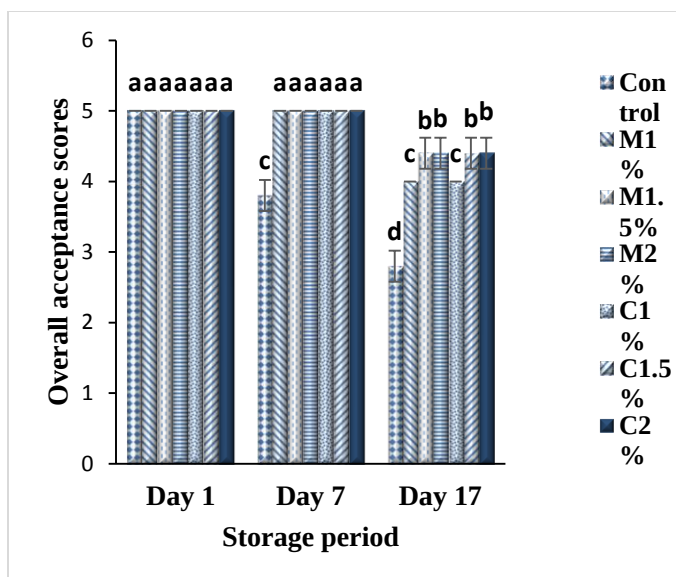


Figure 6. Changes in overall acceptance scores of Mozzarella cheese samples during the 30-days storage period

۴- نتیجه گیری

نتایج حاصل از بررسی تأثیر فیلم های فعال پوشش دهی شده با سطوح مختلف متول و کارواکرول بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی پنیر موزارلا طی دوره نگهداری ۳۰ روزه در دمای یخچال نشان داد که بسته بندی نمونه های پنیر با فیلم های پلی اتیلنی پوشش دهی شده با سطوح مختلف متول و کارواکرول، از طریق کاهش سرعت رشد و تکثیر میکروارگانیسم های عامل فساد و بیماری زا، سبب افزایش دوره ماندگاری پنیرها و کاهش سرعت تغییرات pH و اسیدیته در آنها در طول دوره نگهداری در یخچال گردید. بسته بندی پنیر در فیلم های فعال مذکور همچنین سبب حفظ رطوبت پنیرها طی زمان انبارمانی شد. با بسته بندی پنیر موزارلا در بسته بندی های فعال حاوی سطوح مختلف متول و کارواکرول، پذیرش حسی پنیر طی دوره نگهداری بهبود یافت و تا روز آخر، این نمونه ها قابل پذیرش بودند. در کل، با توجه به نتایج گزارش شده در این تحقیق مشخص گردید که استفاده از فیلم های فعال پوشش دهی شده با سطوح مختلف متول و کارواکرول

نمونه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$), در حالی که نمونه های بسته بندی شده در فیلم های فعال مختلف، در روز هفتم نیز دارای امتیاز کامل پذیرش کلی بودند، ولی در روز هفدهم امتیاز پذیرش کلی کلیه تیمارها به طور معنی داری کاهش پیدا کرد ($p < 0.05$). کاهش امتیاز پذیرش کلی در روز آخر انبارمانی در یخچال، در ارتباط با کاهش ویژگی های حسی طعم، بافت، بو و رنگ تیمارها می باشد. به طور کلی، از آنجایی که متول و کارواکرول ترکیبات دارای فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی نیز هستند، سبب حفظ ویژگی های حسی مختلف در محصولات می گردند. از این رو، کلیه پنیرهای بسته بندی شده با فیلم های فعال حاوی سطوح مختلف کارواکرول و متول تا روز هفدهم از لحاظ کلیه ویژگی های حسی قابل پذیرش بودند. کانوامبونا و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که پوشش دهی پنیر تازه ی شیر بز با پوشش فعال حاوی اسانس های رزماری و پونه اثر نامطلوبی بر ویژگی های حسی نمونه های پنیر نداشت. در مطالعه صورت گرفته توسط ماهسن و همکاران (۲۰۲۱) نیز پنیرهای پوشش دهی شده با پوشش های فعال حاوی اسانس ریحان از پذیرش حسی بالایی برخوردار بودند [۵۰]. خزائی و همکاران (۲۰۲۲) نیز گزارش کردند که استفاده از فیلم های فعال حاوی اسانس های دارچین و زنجبیل نه تنها تأثیر نامطلوبی بر پذیرش کلی پنیر کوزه ای نداشت، بلکه موجب بهبود ویژگی های حسی پنیرهای بسته بندی شده نیز گردید [۳۴].

و کارواکرول اختلاف قابل توجهی مشاهده نشد.

توانست دوره ماندگاری پنیر موزارلای کم رطوبت را حداقل تا ۲۳ روز افزایش دهد و بین اثرات ایجاد شده توسط منتول

۵- منابع

- [۱] Mousavian, D., Mohammadi Nafchi, A., Nouri, L., and Abedinia, A., Physicomechanical properties, release kinetics, and antimicrobial activity of activated low-density polyethylene and orientated polypropylene films by Thyme essential oil active component. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2021. 15: p. 883-891.
- [۲] Tsironi, M., Kosma, I. S., and Badeka, A. V., The Effect of Whey Protein Films with Ginger and Rosemary Essential Oils on Microbiological Quality and Physicochemical Properties of Minced Lamb Meat. *Sustainability*, 2022. 14(6): p. 3434.
- [۳] Kazemi, M. M., Hashemi-Moghaddam, H., Mohammadi Nafchi, A., and Ajodnifar, H., Application of modified packaging and nano ZnO for extending the shelf life of fresh pistachio. *Journal of Food Process Engineering*, 2020. 43(12): p. e13548.
- [۴] Moslehi, Z., Mohammadi Nafchi, A., Moslehi, M., and Jafarzadeh, S., Aflatoxin, microbial contamination, sensory attributes, and morphological analysis of pistachio nut coated with methylcellulose. *Food science & nutrition*, 2021. 9(5): p. 2576-2584.
- [۵] Nor Adilah, A., Noranizan, M. A., Jamilah, B., and Nur Hanani, Z. A., Development of polyethylene films coated with gelatin and mango peel extract and the effect on the quality of margarine. *Food Packaging and Shelf Life*, 2020. 26: p. 100577.
- [۶] Oladzadabbasabadi, N., Mohammadi Nafchi, A., Ghasemlou, M., Ariffin, F., Singh, Z., and Al-Hassan, A. A., Natural anthocyanins: Sources, extraction, characterization, and suitability for smart packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 2022. 33: p. 100872.
- [۷] Esfahani, A., Mohammadi Nafchi, A., Baghaei, H., and Nouri, L., Fabrication and characterization of a smart film based on cassava starch and pomegranate peel powder for monitoring lamb meat freshness. *Food Science & Nutrition*, 2022. 10(10): p. 3293-3301.
- [۸] Ebrahimi, V., Mohammadi Nafchi, A., Bolandi, M., and Baghaei, H., Fabrication and characterization of a pH-sensitive indicator film by purple basil leaves extract to monitor the freshness of chicken fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 2022. 34: p. 100946.
- [۹] Jeon, N.-J., Kim, Y.-S., Kim, E.-K., Dong, X., Lee, J.-W., Park, J.-S., Shin, W.-B., Moon, S.-H., Jeon, B.-T., and Park, P.-J., Inhibitory effect of carvacrol on melanin synthesis via suppression of tyrosinase expression. *Journal of Functional Foods*, 2018. 45: p. 199-205.
- [۱۰] Dhumal, C. V., Ahmed, J., Bandara, N., and Sarkar, P., Improvement of antimicrobial activity of sago starch/guar gum bi-phasic edible films by incorporating carvacrol and citral. *Food Packaging and Shelf Life*, 2019. 21: p. 100380.
- [۱۱] Nostro, A. and Papalia, T., Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future perspectives. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, 2012. 7(1): p. 28-35.
- [۱۲] Turcheniuk, V., Raks, V., Issa, R., Cooper, I. R., Cragg, P. J., Jijie, R., Dumitrascu, N., Mikhalevska, L. I., Barras, A., and Zaitsev, V., Antimicrobial activity of menthol modified nanodiamond particles. *Diamond and related materials*, 2015. 57: p. 2-8.
- [۱۳] Kamatou, G. P., Vermaak, I., Viljoen, A. M., and Lawrence, B. M., Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemistry*, 2013. 96: p. 15-25.
- [۱۴] Jafarzadeh, S., Rhim, J. W., Alias, A. K., Ariffin, F., and Mahmud, S., Application of antimicrobial active packaging film made of semolina flour, nano zinc oxide and nano-kaolin to maintain the quality of low-moisture mozzarella cheese during low-temperature storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019. 99(6): p. 2716-۲۷۲۵.
- [۱۵] Chang, S., Mohammadi Nafchi, A., and Baghaie, H., Development of an active packaging based on polyethylene containing linalool or thymol for mozzarella cheese.

- Food science & nutrition*, 2021. 9(7): p. 3732-3739.
- [۱۶] Cardoso, L. G., SILVA, J., SILVA, J. A., Camilloto, G. P., SOUZA, C. O., Druzian, J. I., and Guimaraes, A. G., Development and characterization of antioxidant and antimicrobial poly (butylene adipate-co-terephthalate)(PBAT) film incorporated with oregano essential oil and applied in sliced mozzarella cheese. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2022. 94.
- [۱۷] da Silva Dannenberg, G., Funck, G. D., dos Santos Cruxen, C. E., de Lima Marques, J., da Silva, W. P., and Fiorentini, Â. M., Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: Potential for application as active packaging for sliced cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 2017. 81: p. 314-318.
- [۱۸] Jahdkaran, E., Hosseini, S. E., Mohammadi Nafchi, A., and Nouri, L., The effects of methylcellulose coating containing carvacrol or menthol on the physicochemical, mechanical, and antimicrobial activity of polyethylene films. *Food science & nutrition*, 2021. 9(5): p. 2768-2778.
- [۱۹] Iran, I. o. S. a. I. R. o., *Milk and milk products-Determination of titratable acidity and value pH-Test method. National Iranian Standard No. 2852*. 1987.
- [۲۰] Iran, I. o. S. a. I. R. o., *Cheese and processed cheese-determination of total solids, (Reference method)-Test method content. National Iranian Standard No. 1753*. 2002.
- [۲۱] Iran, I. o. S. a. I. R. o., *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. National Iranian Standard No. 5272-1*. 2014.
- [۲۲] Iran, I. o. S. a. I. R. o., *Milk and Milk Products-Enumeration of Presumptive Esherichia coli-Most probable number (MPN). National Iranian Standard No. 5234*. 2016.
- [۲۳] Iran, I. o. S. a. I. R. o., *Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive Staphylococci (Staphylococcus aureus and other species)- Part 3 :Detection and MPN technique for low numbers National Iranian Standard No. 6806-3*. 2008.
- [۲۴] Iran, I. o. S. a. I. R. o., *Milk and milk products – Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds-colony - Count technique at 25 °C. National Iranian Standard No. 10154*. 2007.
- [۲۵] Nottagh, S., Hesari, J., Peighambardoust, S. H., Rezaei-Mokarram, R., and Jafarizadeh-Malmiri, H., 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.
- [۲۶] Rynne, N. M., Beresford, T. P., Guinee, T. P., Sheehan, E., Delahunty, C. M., and Kelly, A. L., Effect of high-pressure treatment of 1 day-old full-fat Cheddar cheese on subsequent quality and ripening. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2008. 9(4): p. 429-440.
- [۲۷] Iran, I. o. S. a. I. R. o., *Milk and milk products_mozzarella cheese(pizza cheese) - Specifications and test methods. National Iranian Standard No. 4658*. 2011.
- [۲۸] Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I., and Kontominas, M., Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. *Food microbiology*, 2007. 24(6): p. 607-617.
- [۲۹] Kavas, G., Kavas, N., and Saygili, D., The effects of thyme and clove essential oil fortified edible films on the physical, chemical and microbiological characteristics of kashar cheese. *Journal of food quality*, 2015. 38(6): p. 405-412.
- [۳۰] Herath, L. S. R., *Development and evaluation of low density polyethylene-based antimicrobial food packaging films containing natural agents*. 2010, Victoria University.
- [۳۱] McSweeney, P. L., *Cheese problems solved*. 2007: Elsevier.
- [۳۲] Mirzaei, H. and Aligholi Nezhad, A., A study on the chemical characteristics changes throughout the manufacture and ripening of Lighvan cheese. *Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal*, 2011. 5(2 (18) Summer): p. 1161-1168.
- [۳۳] Kavas, G. and Kavas, N., The effects of mint (*Mentha spicata*) essential oil fortified edible films on the physical, chemical and microbiological characteristics of lor cheese. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 2014. 12(3-4): p. 40-45.
- [۳۴] Khazaei, A. and Zand, N., Evaluation of physicochemical and sensory properties of

- Jug cheese packed in biodegradable film based on polyvinyl alcohol and pinto bean starch containing essential oils of garlic, ginger and cinnamon. *Journal of food science and technology (Iran)*, 2022. 18(119): p. 95-112.
- [۳۵] Cano Embuena, A. I., Cháfer Nácher, M., Chiralt Boix, A., Molina Pons, M. P., Borrás Llopis, M., Beltran Martínez, M.C., and González Martínez, C., Quality of goat's milk cheese as affected by coating with edible chitosan-essential oil films. *International Journal of Dairy Technology*, 2017. 70(1): p. 68-76.
- [۳۶] Ramos, Ó., Pereira, J., Silva, S., Fernandes, J., Franco, M., Lopes-da-Silva, J., Pintado, M., and Malcata, F., Evaluation of antimicrobial edible coatings from a whey protein isolate base to improve the shelf life of cheese. *Journal of Dairy Science*, 2012. 95(11): p. 6282-6292.
- [۳۷] Limjaroen, P., Ryser, E., Lockhart, H., and Harte, B., Inactivation of *Listeria monocytogenes* on beef bologna and Cheddar cheese using polyvinyl-idene chloride films containing sorbic acid. *Journal of food Science*, 2005. 70(5): p. M267-M271.
- [۳۸] Nostro, A., Roccaro, A. S., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. A., Pizzimenti, F. C., Cioni, P. L., Procopio, F., and Blanco, A. R., Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of medical microbiology*, 2007. 56(4): p. 519-523.
- [۳۹] Hamzei, S., Khezerlou, A., and Ehsani, A., Effect of whey protein isolate coating with cardamom essential oil on shelf life of white cheese. *Journal of food science and technology (Iran)*, 2022. 19(127): p. 267-280.
- [۴۰] Suppakul, P., *Study of antimicrobial polymeric packaging films containing basil extracts*. 2004, Victoria University of Technology.
- [۴۱] Nunes Silva, B., Cadavez, V., Teixeira, J. A., and Gonzales-Barron, U., Effects of essential oils on *Escherichia coli* inactivation in cheese as described by meta-regression modelling. *Foods*, 2020. 9(6): p. 716.
- [۴۲] El Atki, Y., Aouam, I., El Kamari, F., Taroq, A., Gouch, A., Lyoussi, B., and Abdellaoui, A., Antibacterial efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of nosocomial infection-bacteria. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2019. 11(2): p. 306-309.
- [۴۳] Iran, I. o. S. a. I. R. o., *Microbiology of milk and milk products – Specifications and test methods*. National Iranian Standard No. 2406. 2017.
- [۴۴] Sharma, S., Byrne, M., Perera, K. Y., Duffy, B., Jaiswal, A. K., and Jaiswal, S., Active film packaging based on bio-nanocomposite TiO₂ and cinnamon essential oil for enhanced preservation of cheese quality. *Food Chemistry*, 2022: p. 134798.
- [۴۵] Cagri, A., Ustunol, Z., and Ryser, E., Inhibition of three pathogens on bologna and summer sausage using antimicrobial edible films. *Journal of Food Science*, 2002. 67(6): p. 2317-2324.
- [۴۶] Kavas, N., Kavas, G., and Saygili, D., Use of ginger essential oil-fortified edible coatings in Kashar cheese and its effects on *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus*. *CyTA-Journal of Food*, 2016. 14(2): p. 317-323.
- [۴۷] Seydim, A. C., Sarikus-Tutal, G., and Sogut, E., Effect of whey protein edible films containing plant essential oils on microbial inactivation of sliced Kasar cheese. *Food Packaging and Shelf Life*, 2020. 26: p. 100567.
- [۴۸] Hosseini, M., Razavi, S., and Mousavi, M., Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of food processing and preservation*, 2009. 33(6): p. 727-743.
- [۴۹] Aguirre, A., Borneo, R., and Leon, A. E., Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience*, 2013. 1: p. 2-9.
- [۵۰] Mahcene, Z., Khelil, A., Hasni, S., Bozkurt, F., Goudjil, M. B., and Tornuk, F., Home-made cheese preservation using sodium alginate based on edible film incorporating essential oils. *Journal of Food Science and Technology*, 2021. 58(6): p. 2406-2419.



Scientific Research

The effects of polyethylene film coated with menthol and carvacrol on the physicochemical, microbiological and sensory properties of low-moisture Mozzarella cheese

Elahe, Jahdkaran¹, Seyed Ebrahim Hosseini^{1,*}, Abdorreza, Mohammadi Nafchi^{2,3}, Leila Nouri²

1- Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Food Science and Technology Department, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran

3- Food Technology Division, School of Industrial Technology, Universiti Sains Malaysia, Minden 11800, Penang, Malaysia.

ABSTRACT

ARTICLE INFO

The aim of this research was to evaluate the effect of polyethylene (PE) films coated with menthol and carvacrol on the physicochemical, microbiological, and sensory properties of low-moisture Mozzarella cheese. At first, PE films were coated with MC-HPMC solution containing different concentrations of menthol and carvacrol (0, 1, 1.5 and 2%), Mozzarella cheeses were then packed with these active films, and physicochemical, antimicrobial, and sensory properties of cheese treatments for 30 days storage in refrigerator were studied. The results showed that over time, the pH and moisture amount of all treatments significantly were decreased, whereas, the acidity and hardness amounts of cheeses were increased, but their exchange rate in control significantly was higher than other samples ($p < 0.05$). Packaging of cheeses with active PE films leads to decrease the growth rate of mesophyll bacteria and molds and yeasts in cheeses. At the end of storage period, the lowest number of molds and yeasts and microbial load were for samples packed in films containing 2% menthol and carvacrol. From the point of *E. coli* and *S. aureus* contamination, the samples packed in active films were safe until the last day of storage (30th days), while control sample was incredible at 17th of storage. Packaging of Mozzarella cheese in PE films containing different levels of menthol and carvacrol also leads to improved sensory acceptance of cheeses during refrigerated storage. Finally, the results demonstrated that coated PE films with solutions containing menthol and carvacrol active components had a positive effect on the extension of the Mozzarella cheese shelf life, especially, at 2% concentration.

Article History:

Received :2023/1/9
Accepted:2023/6/13

Keywords:

Active packaging,
Cheese,
Microbial spoilage,
Shelf-life

DOI: 10.22034/FSCT.20.137.60

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.137.5.5

*Corresponding Author E-Mail: