تأثیر تیمار آنزیمی سرد ترانس گلوتامیناز شیر بر ویژگی‌های بافت ماست

حسین جوینده[۱*]، رضوانه محمودی[۲]، وحید سمواتی[۳] و محمد حجتی[۳]

۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین
۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین
٤- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین

(تاریخ دریافت: ۹٤/٦/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹٤/۹/۱۲)

چکیده

ژل پروتئین اساساً بوسیله برهم‌کنش‌های غیر کووالانسی ضعیف پایدار می‌شود. بکارگیری باندهای کووالانسی جدید سبب تشکیل ژل با خصوصیات و ساختار متفاوت می‌شود. استفاده از ترانس‌گلوتامیناز (TG) به منظور ایجاد باندهای کووالانسی در شیر و افزایش درجه پلیمریزاسیون به عنوان روشی کاربردی برای بهبود خواص بافتی و حسی ماست پیشنهاد شده است. بنابراین هدف از این مطالعه تیمار آنزیمی سرد شیر توسط ترانس گلوتامیناز و بررسی تأثیر آن بر ویژگی‌های بافت محصول می‌باشد. برای این منظور آنزیم ترانس گلوتامیناز در چهار سطح غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۳ درصد) و در سه زمان فعالیت (۱۲، ۲٤ و ٤۸ ساعت) در دمای ۵ °C بکار برده شد. نتایج به دست آمده نشان داد تیمار شیر بوسیله آنزیم TG و همچنین افزایش زمان نگهداری سبب بهبود ویژگی‌های بافتی، افزایش ویسکوزیته و کاهش آب اندازی ماست شد. تمامی سطوح غلظت آنزیم از نظر بافت و قوام کیفیت بسیار بالاتری نسبت به نمونه شاهد (فاقد آنزیم) داشتند و حتی استفاده مقدار ۰/۰۱ درصد آنزیم سبب گردید مقدار سفتی به‌طور معنی‌دار از ۰/۰۹٦ به ۰/۱۳۱ گرم و قوام از ۰/۸۷۲ به ۱/۰٤۹ گرم برثانیه افزایش یابد. در میان ۱۰ نمونه ماست تولید شده، نمونه تیمار شده با ۰/۰۳ درصد آنزیم به مدت ٤۸ ساعت دارای بیشترین سفتی و قوام بود و میانگین آن در طی ۲۰ روز نگهداری به‌ترتیب ۰/۲۰٤ گرم و ۱/٦٤۵ گرم برثانیه گزارش گردید. در هرحال، براساس نتایج به‌دست آمده ویسکوزیته نمونه تیمار شده با ۰/۰۳ درصد آنزیم به مدت ۲٤ ساعت (۲٤/۳۲ پاسکال‌ثانیه) به‌طور معنی‌داری بالاتر از بقیه نمونه‌ها بود.

کلید واژگان: ترانس گلوتامیناز ، تیمار سرد آنزیمی، ماست، ویژگی های بافت

* مسئول مکاتبات: hosjooy@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

۱- مقدمه

ساختار پروتئین‌ها را می‌توان از طریق روش‌های فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی تغییر داد [۱]. روش‌های آنزیمی به دلیل بالا بودن کارایی واکنش آنزیمی و در نتیجه کاهش خطر تشکیل مواد و محصولات سمی، به عنوان روش‌های مفید پیشنهاد شده‌اند. در ماست، ژل پروتئینی اساساً بوسیله برهم‌کنش‌های غیر کووالانسی ضعیف (الکترواستاتیک، پیوند هیدروژنی، باندهای هیدروفوبیک) پایدار می‌شود. بکارگیری باندهای کووالانسی جدید سبب تشکیل ژل با خصوصیات و ساختار متفاوت می‌شود [۲]. تحریک آنزیمی برهم‌کنش‌های پروتئینی در شیر به‌عنوان یک روش کاربردی برای بهبود خواص بافتی ماست پیشنهاد شده است [۳]. این امر سرانجام سبب تشکیل اتصالات عرضی برون و درون مولکولی جدید می‌شود و چنین اتصالاتی می‌تواند ساختار و عملکرد پروتئین‌ها را تغییر دهد.

اتصالات عرضی آنزیمی روشی است که طی۱۰ سال اخیر توجه روبه افزایشی را به خود اختصاص داده است [٤]. برای این منظور آنزیم ترانس گلوتامیناز (TG[1]) در طی سال‌های اخیر مورد مطالعه قرار گرفته است. در واقع تنها آنزیم اتصال-دهنده که هم‌اکنون برای تشکیل باندهای کووالانسی بین مولکول‌های پروتئین در مقیاس تجاری در دسترس می‌باشند، آنزیم ترانس گلوتامیناز (TG) می‌باشد [٥]. این آنزیم واکنش انتقال آسیل بین گروه‌های گاما کربوکسی آمید پپتیدهای اطراف باقیمانده گلوتامین (گیرنده الکترون) و گروه‌های آمین نوع اول باقیمانده‌های گلوتامین و لیزین را کاتالیز می‌کند. به دلیل تولید مقرون به صرفه ترانس گلوتامیناز بوسیله آنزیم‌ها، بخصوص بوسیله سویه‌های *Streptoverticillium* (*S. morbaeaense* و *S. griseocameum*)، کاربرد آنزیم در تولید صنعتی مواد غذایی امکان پذیر است [٦]. از جمله مزیت‌های استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی هزینه کمتر استخراج و خالص‌سازی و عمل کاتالیتیکی غیر وابسته به کلسیم آن می‌باشد [۷].

در میان پروتئین‌های لبنی، قسمت کازئینی، به خصوص سدیم کازئینات، یک سوبسترای مطلوب برای ترانس گلوتامیناز می-باشد. برعکس، پروتئین‌های آب پنیر، در فرم اصلی خود، تمایل کمتری به واکنش‌های اتصالات عرضی دارند، که اساساً به دلیل کنفورماسیون کروی پایدار شده‌ی آنها بوسیله پیوندهای دی سولفید می‌باشد. با این حال اتصالات عرضی پروتئین‌های آب پنیر می‌تواند از طریق دناتوره شدن حرارتی آنها بهبود یابد [۸ و ۹].

کاربرد آنزیم قبل از تخمیر به زمان فرایند طولانی‌تری نیاز دارد، اما از مزیت‌های این روش این است که pH در طول واکنش-های اتصالات عرضی ثابت باقی خواهد ماند [۱۰]. بنابراین بازه وسیع‌تری از شرایط واکنش ایجاد می‌شود. در این روش فعالیت آنزیم با کاربرد یک مرحله حرارتی متوقف می‌شود. هدف از این تحقیق بکارگیری تیمار آنزیمی شیر با آنزیم TG در دمای پایین قبل از تخمیر و تأثیر آن بر خواص فیزیکوشیمیایی ماست است.

۲- مواد و روش‌ها

۲- ۱- مواد

در این پژوهش، از شیر خام تازه پرجرب (pH برابر ٦/٧ و حاوی ۳/۲٪ چربی) ایستگاه دامپروری دانشگاه رامین جهت تهیه نمونه های مورد آزمایش استفاده شد. جهت تهیه نمونه های ماست قالبی از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (TG) تهیه شده از میکروب *Streptoverticillium morbaeaense* با مارک تجاری Activa YG (شرکت Ajinomato، فرانسه) استفاده شد. میزان فعالیت هر گرم پودر این آنزیم، ۱۰۰ واحد به ازاء هر گرم پروتئین مشخص گردیده بود. به‌علاوه جهت تهیه نمونه‌های مورد آزمایش از مایه کشت ماست با کد تجاری Express، تولید شده در شرکتCHR Hansen، ساخت کشوردانمارک استفاده شد. به‌علاوه کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمون‌های شیمیایی از شرکت مرک آلمان خریداری و استفاده گردید.

۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- روش تهیه ماست

تولید نمونه‌ها مطابق روش تولید ماست تک نفره، در آزمایشگاه گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه رامین خوزستان انجام گردید. برای تهیه نمونه‌ها ابتدا شیر در دمای ۹۰°C به مدت ۱۵ دقیقه تحت فرآیند حرارتی قرار گرفت (Ozer و همکاران، ۲۰۰۷). در ادامه جهت تیمار آنزیمی، شیر تا دمای ٥ °C سرد شد و پس از افزودن آنزیم در سطوح غلظت ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۳ درصد، نمونه‌های شیر به مدت ۱۲، ۲٤ و ٤٨

1. Transglutaminase

Archive of SID

www.SID.ir

ساعت در این دما نگهداری شدند. همچنین یک نمونه بدون افزودن آنزیم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد (جدول ۱). بنابراین جمعاً تعداد ۱۰ تیمار ماست تولید گردید. پس از سپری شدن زمان فعالیت آنزیم، عمل آن توسط تیمار حرارتی به صورت ۸۰ ^{o}C به مدت یک دقیقه متوقف شد [۱۰]. در ادامه، شیر تا دمای تلقیح (٤٥ ^{o}C) سرد شد و مقدار ۳ درصد استارتر ماست به آن اضافه شد. در این مرحله شیر درون ظروف ۱۰۰ cc یک‌بار مصرف از جنس پلی‌استایرن پر شد و در دمای ٤٤ ^{o}C تا رسیدن pH به ٤/٦ در اینکوباتور (Binder، ساخت انگلستان) نگهداری شد. بعد از گرم‌خانه گذاری، نمونه‌های ماست تا دمای ٤ ^{o}C سرد شدند و به مدت ۲۰ روز در یخچال تا انجام آزمایشات نگهداری گردیدند [۱۱].

۲-۲-۲- آزمونهای فیزیکوشیمیایی

pH، اسیدیته وچربی با استفاده از روش AOAC [۱۲] اندازه گیری شد. pH با استفاده از pH متر دیجیتال Metrohm مدل ۸۲۷ (ساخت کشور سوئیس) و اسیدیته (برحسب درصد اسیدلاکتیک) نیز از طریق تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنول‌فتالئین اندازه گیری گردید. مقدار چربی شیر نیز به روش ژربر تعیین گردید.

۲-۲-۳- اندازه گیری ویسکوزیته

اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها در دمای اتاق و با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (مدل DV-۲ ، ساخت انگلستان) مجهز به اسپیندل شماره ۳ در سرعت‌های rpm ۲۰، ۱۲، ٦، ۳ انجام شد و در نهایت به منظور مقایسه بین تیمارها عدد خوانده شده در سرعت rpm ۳ به عنوان ویسکوزیته نمونه‌ها گزارش شد. همچنین به منظور کنترل اثر زمان برش، خواندن عدد ویسکوزیته در مورد همه نمونه‌ها پس از گذشت ۲۰ ثانیه انجام شد و گشتاور در تمام طول کار بین ۱۰ تا ۱۰۰ درصد حفظ شد. قبل از اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها به مدت ۱۵ ثانیه به صورت یکسان هم‌زده شدند [۷].

۲-۲-٤- آنالیز بافت

آزمون بافت با استفاده از دستگاه آنالیز بافت TA.XT.PLUS (Micro stable system، ساخت انگلستان) انجام شد. برای این منظور از پروب با قطر ۳٦ میلی‌متر و ارتفاع ۳/۵ میلی‌متر استفاده شد [۱۳]. نمونه‌ها درون ظروف یک بار مصرف به حجم تقریبی ۱۳۰ میلی‌لیتر و ارتفاع ٤/۵ سانتی‌متر تهیه شدند. نفوذ پروب به درون نمونه‌ها به میزان ۱۰ میلی‌متر تنظیم شد. سرعت پروب قبل از تست ۱mm/s، سرعت تست ۱mm/s و سرعت پروب پس از تست ۱۰mm/s تعیین شد. پارامترهای بافتی شامل سفتی[1] (بیش‌ترین نیروی فشردگی لازم در فرو رفتن پروب به درون نمونه (گرم نیرو))، قوام[2] (سطح زیر نمودار در طی مرحله فرو رفتن پروب (گرم نیرو برثانیه))، پیوستگی[3] (بیش‌ترین نیروی فشردگی لازم در طی بیرون راندن پروب از درون نمونه‌ها (گرم نیرو))، اندیس ویسکوزیته[4] (مساحت زیر نمودار در ناحیه منفی در طی بیرون آمدن پروب (گرم نیرو در ثانیه) زیر ثبت شد.

۲-۳- تجزیه تحلیل داده ها

با توجه به دو متغیر درصد آنزیم (سه سطح ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۳۰ درصد) در سه زمان متفاوت تیمار آنزیمی (۱۲، ۲٤ و ٤۸ ساعت)، در این مطالعه تعداد ۱۰ تیمار (شامل نمونه کنترل) تولید گردید (جدول ۱). به‌علاوه تمامی تیمارها در سه تکرار تولید و ویژگی نمونه‌های ماست از نظر اسیدیته، pH، و آب اندازی در روزهای مختلف نگهداری (۱، ۱۰ و ۲۰ روز) بررسی گردید. نتایج طرح به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و میانگین نتایج نیز با کمک آزمون دانکن در سطح ۵٪ توسط برنامه آماری SAS (ویرایش ۹) مقایسه گردیدند. نمودارها با بهره‌گیری از نرم افزار Exel ترسیم و گزارش شد.

جدول ۱ تیمارهای مختلف ماست تولید شده

شماره تیمار	غلظت آنزیم (٪)	زمان فعالیت آنزیم (ساعت)
۱	۰	-
۲		۱۲
۳	۰/۰۱	۲٤
٤		٤۸
۵		۱۲
٦	۰/۰۲	۲٤
۷		٤۸
۸		۱۲
۹	۰/۰۳	۲٤
۱۰		٤۸

1. Firmness
2. Consistency
3. Cohesiveness
4. Viscosity index

Archive of SID

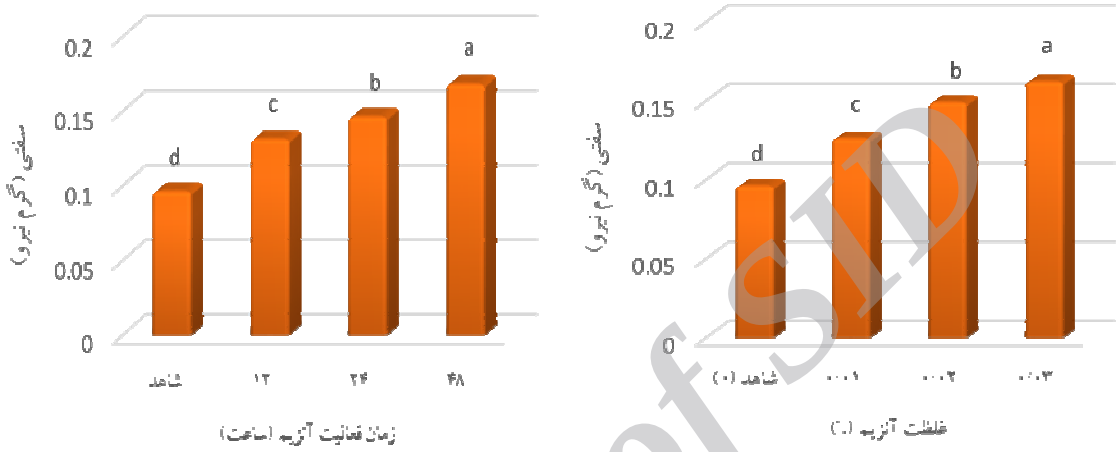
www.SID.ir

۳- نتایج و بحث

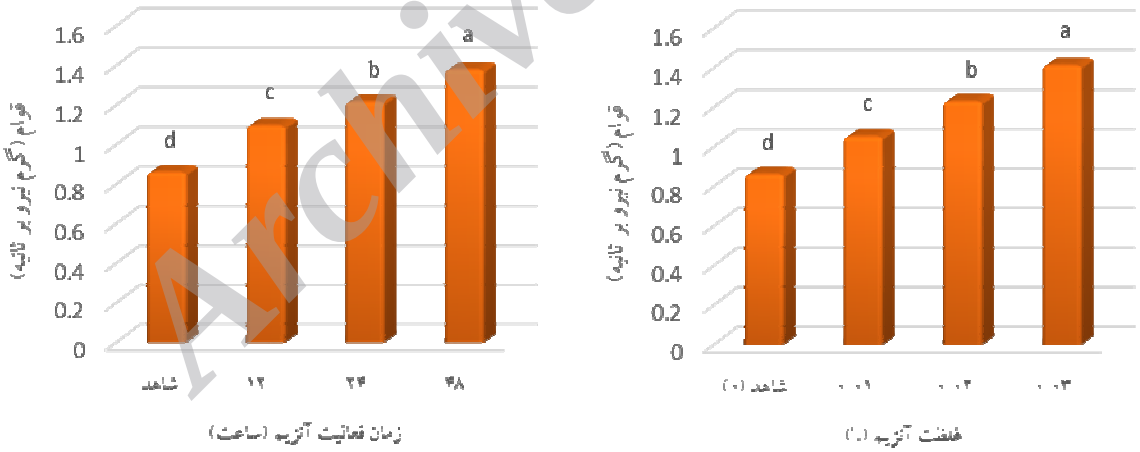
۳-۱- اثر تیمار آنزیمی بر ویژگی‌های بافتی

۳-۱-۱- اثر غلظت آنزیم

اثر غلظت و زمان فعالیت آنزیم بر سفتی نمونه‌های ماست تیمار شده در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس این نمودارها، با افزایش غلظت آنزیم و همچنین زمان فعالیت آن میزان سفتی نمونه‌ها افزایش یافت و غلظت آنزیم در سطح ۰/۰۳ درصد و سطح سوم زمانی بالاترین سفتی را سبب شد. به علاوه غلظت آنزیم و زمان فعالیت آن اثر مثبتی بر میزان چسبندگی و اندیس ویسکوزیته نمونه‌های ماست داشت و با افزایش غلظت و زمان فعالیت آن مقادیر چسبندگی و اندیس ویسکوزیته افزایش یافت. در هرحال این تغییرات معنی‌دار نگردید (نتایج نشان داده نشده است).



شکل ۱ اثر غلظت و زمان فعالیت آنزیم بر سفتی نمونه‌های ماست



شکل ۲ اثر غلظت و زمان فعالیت آنزیم بر قوام نمونه‌های ماست

شکل ۲ نیز تأثیر غلظت و زمان فعالیت آنزیم را بر قوام نمونه-های ماست نشان می‌دهند. همان طور که مشخص است در اینجا نیز اختلاف میان سطوح مختلف غلظت آنزیم و همچنین زمان فعالیت آن معنی‌دار بود و افزایش در مقادیر غلظت و زمان باعث افزایش معنی‌دار قوام نمونه‌ها شد.

همچنین اثر متقابل معنی داری ($p < ۰/۰۱$) میان متغیر آنزیم و زمان فعالیت مشاهده گردید. مقایسه میانگین اثرات متقابل دو متغیر نشان داد که با افزایش غلظت آنزیم و زمان فعالیت آن میزان سفتی و قوام نمونه‌ها افزایش می‌یابد (جداول ۲ و ۳). اگرچه تیمار ۱۰ (سطح سوم غلظت و زمان فعالیت آنزیم)

Archive of SID
www.SID.ir

بالاترین میزان سفتی و قوام را داشت اما همان‌گونه که می‌توان ملاحظه نمود اختلاف میان آن و تیمار شماره ۷ (غلظت دوم آنزیم و سطح سوم زمان فعالیت آنزیم) معنی‌دار نبود.

جدول ۲ میانگین سفتی (میلی‌گرم) تیمارهای ماست در طی زمان نگهداری (میانگین ± خطای استاندارد)

تیمار	روز ۱	روز ۱۰	روز ۲۰	میانگین
۱(شاهد)	۷٦/٥۸± ۱۱/۲٦^{f}	۹۹/٤۰± ۱۲/۳۲^{c}	۱۱۲/۱۲± ۱۱/٤۸^{d}	۹٦/۲۳± ۱٤/۲۱^{c}
۲	۱۰۳/٦۷± ۱۱/٥۱^{e}	۱۲۹/۰۱± ۱۲/۰۱^{b}	۱۳۷/۳۷± ۱۱/۷٥^{cd}	۱۲۳/۳٥ ±۲٥/۱٤^{b}
۳	۱۰٦/٤٤± ۱۳/۲۱^{de}	۱۳۱/٥۷± ۱۱/٦۲^{b}	۱٤۱/۹۸± ۱۱/۷۲^{cd}	۱۲٦/٦٦ ± ۱٥/۳۷^{b}
٤	۱۱۳/۰۰± ۱۱/۳۲^{cde}	۱۲۹/۸۰± ۱۲/٤۷^{b}	۱٤۷/۹۲ ± ۱۱/٦٤^{c}	۱۳۰/۲٤ ± ۹/۱۲^{b}
٥	۱۱٥/۱۳± ۱۱/٦۲^{cde}	۱۲٥/٥۰± ۱۲/٥۹^{b}	۱٤۹/۷۷± ۱۱/۲۱^{c}	۱۳۰/۱۳ ± ۸/۲۱^{b}
٦	۱۲٦/۳٦± ۱۲/۳۹^{cd}	۱۳۸/۲۱± ۱۲/۲۱^{b}	۱٦۰/۳۱± ۱۱/۸۲^{bc}	۱٤۱/٦۳ ± ۱٥/۰۸^{b}
۷	۱٥٦/٦٦± ۱۲/۰۳^{ab}	۱۸۱/۷۳± ۱۲/۲۱^{a}	۱۹٥/۲۱± ۱۲/۰٦^{ab}	۱۷۷/۸۷ ± ۲۳/٦۸^{a}
۸	۱۲۸/۹۸± ۱۲/٤۷^{c}	۱٤۰/۹۱± ۱۲/٥۰^{b}	۱٥۲/۳٦± ۱۱/۱٦^{c}	۱۳۹/۰۸ ± ۱٦/۱۹^{b}
۹	۱٤٤/۱٤± ۱۱/٤٥^{b}	۱۹۱/٦۲± ۱۳/۷٥^{a}	۲۰۹/٤٤± ۱۱/۹٤^{a}	۱۸۱/۷٤ ± ۱٤/۰۸^{a}
۱۰	۱۷٥/۹۲± ۱۱/٤۰^{a}	۲۰٥/۸۸± ۱۲/٦۸^{a}	۲۳۱/۱٦± ۱۱/۸٦^{a}	۲۰٤/۳۲ ± ۳۲/۰٤^{a}
میانگین روز	۱۳۱/۲۸±٤/٤٥^{C}	۱٤۷/۳٦±٥/۲٦^{B}	۱٦۳/۸۲±٥/٥۰^{A}	-

در هر ستون بین میانگین‌هایی که حروف غیر مشابه دارند، اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰٥) وجود دارد.

جدول ۳ میانگین قوام (میلی‌گرم برثانیه) تیمارهای ماست در طی زمان نگهداری (میانگین ± خطای استاندارد)

تیمار	روز ۱	روز ۱۰	روز ۲۰	میانگین
۱(شاهد)	۷۲۰/۹۰±۳۹/۳۱^{g}	۸۹۰/۱٦±٥۹/۳۱^{c}	۱۰۰٦/٤٥±٥٤/٥۱^{d}	۸۷۲/٤٤±۷۰/۳۱^{d}
۲	۸٦۲/٤٤±۱۹/۳۱^{f}	۱۰٦۷/۱۸±۷٤/۸۱^{bc}	۱۱٦۳/۸٥±۹۸/۱۲^{cd}	۱۰۳۸/٦۸ ± ٥۹/۹۹^{cd}
۳	۸۸۰/۰٤±۲٤/۳٦^{ef}	۱۰۷٥/۱۷±۷۳/۱۸^{bc}	۱۱٦۹/۷۲±٤۹/۹٤^{cd}	۱۰۳۹/٦۸ ± ۱۰۸/۹۷^{cd}
٤	۹۳٥/۳۳ ± ٤۳/٦٦^{def}	۱۰۸۳/۸۸±۱۱۲/٤٥^{bc}	۱۱۹۹/٤۳±۸۸/۹٦^{cd}	۱۰٦۷/۳۱ ± ۸۷/۲۱^{cd}
٥	۹٥۱/۱۲ ±٤٥/٦۸^{def}	۱۰۸٤/٤۲±۱٦٤/۷۳^{bc}	۱۲۱٤/۰۲±٦۳/۹۷^{cd}	۱۰۸۳/۱۹ ± ۳۷/۹٥^{cd}
٦	۱۰٥٥/۷٤± ٥٦/۰٤^{cd}	۱۱٦۷/٥۷±۱۸۲/۸٦^{b}	۱۳۲۲/۹۷±۷٦/۳۲^{bcd}	۱۱۸۱/۹۳ ± ۸٦/۷۹^{bc}
۷	۱۲٥٦/۰۹±۸۳/۳۹^{ab}	۱٤۷۰/٥۸±۲۰۱/۰۰٤^{a}	۱٥۲٤/۰٤±۱۱/۲۹^{abc}	۱٤۱٦/۹ ± ٤۱/۰۷^{ab}
۸	۱۰۲۰/٤۳± ٤۸/٤۱^{cde}	۱۱۷٤/٤۳±۱۹۳/۰۰^{b}	۱۲٦۷/۳۷±۱۰۱/٤۱^{bcd}	۱۱٥٤/٥۸ ± ٦۹/۲٥^{c}
۹	۱۱٦۳/۲۷±۹۷/۷۱^{bc}	۱٥۱٥/۰۷±۱۸۳/٤٤^{a}	۱٥۹۹/٤٥±٤۳/٦۱^{ab}	۱٤۲٥/۹۳ ±۹٦/۸۲^{a}
۱۰	۱۳۸۹/۹۹± ٦٦/۹٥^{a}	۱٦۷٤/۹۹±۲۰٤/۷۲^{a}	۱۸۷۱/۱۱±۹۱/٤۷^{a}	۱٦٤٥/۱۸ ± ۹۱/۹٤^{a}
میانگین روز	۱۰۲۳/٥۳±٥۰/۰۳^{C}	۱۲۲۰/۳۹ ± ۷۱/۸۱^{B}	۱۳۳٦/۹٤ ± ٦٤/۰۷^{A}	-

در هر ستون بین میانگین‌هایی که حروف غیر مشابه دارند، اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰٥) وجود دارد.

افزایش در مقادیر سفتی و قوام ماست حاصل از شیر گاو تیمار شده با TG بوسیله محققان بسیاری گزارش شده است [۳، ۱٤ و ۱٥]. Færgemand و همکاران [۳] بیان کردند اتصالات عرضی پروتئین‌های شیر می‌تواند به عنوان روشی جایگزین برای غنی سازی ماده جامد شیر یا استفاده از پایدارکننده‌ها در شیر پایه برای رسیدن به خواص رئولوژیکی بهتر در ماست استفاده شود. Oner و همکاران [۱۰] گزارش کردند افزودن TG (U/g ۱ پروتئین) قدرت ژل ماست را افزایش می‌دهد.

۳-۱-۲- اثر زمان نگهداری

نتایج نشان داد ویژگی‌های بافتی شامل سفتی، قوام، چسبندگی و اندیس ویسکوزیته نمونه‌های ماست تحت تأثیر مدت زمان

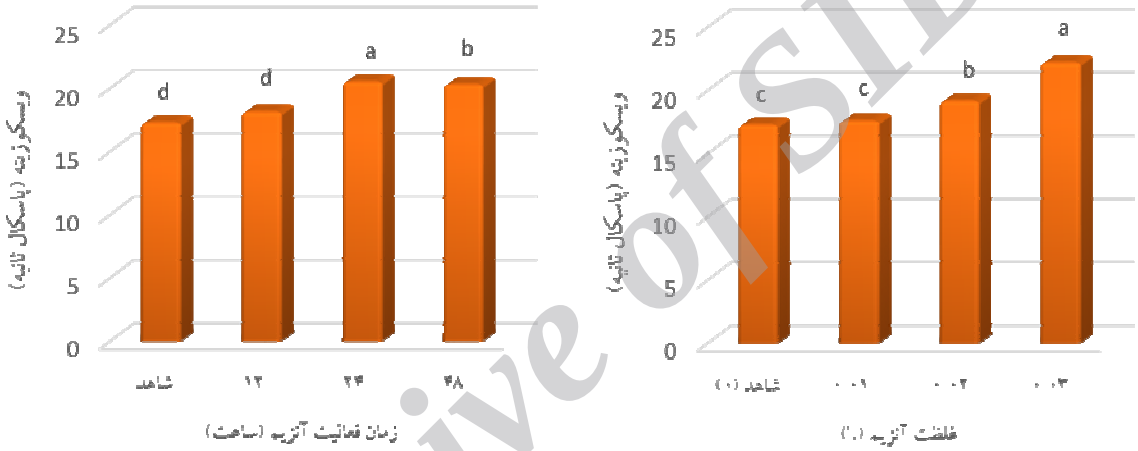
Archive of SID

www.SID.ir

نگهداری قرار گرفتند. با افزایش زمان نگهداری در مورد همه-ی تیمارها سفتی و قوام نمونه‌ها افزایش یافت. به طوری که نمونه‌های مربوط به روز بیستم بالاترین مقادیر سفتی و قوام را داشتند (جداول ۲ و ۳). در بسیاری از مطالعات انجام شده در این زمینه نتایج مشابهی مطابق با نتایج این تحقیق گزارش گردیده است [۱۸-۱۵]. Schorsch و همکاران (۲۰۰۰b) نشان دادند که طی دوره‌ی نگهداری، سفتی ژل‌های حاصل از تیمار TG به مقدار مشخصی افزایش می یابد [۱۹].. این محققین پیشنهاد دادند که اکثر اتصالات پروتئینی در این دوره-ی زمانی ساخته می‌شوند. آنها همچنین عنوان کردند که عملکرد اصلی آنزیم TG اتصال پروتئین‌های شیر به صورت کووالانسی می‌باشد و به تشکیل شبکه‌ای نرم‌تر و قوی‌تر در ماست در مقایسه با ژل‌های حاصل از اسید منتج می‌شود.

۳-۲- اثر تیمار آنزیمی بر ویسکوزیته

شکل ۳ نشان می‌دهد که غلظت و زمان فعالیت آنزیم اثر معنی‌داری بر ویسکوزیته نمونه‌های ماست داشت، به نحوی که با افزایش غلظت آنزیم و همچنین زمان فعالیت آن ویسکوزیته نمونه‌ها افزایش یافت. غلظت ۰/۰۳ درصد آنزیم و سطح دوم زمان (۲٤ ساعت) بالاترین میزان ویسکوزیته را سبب شدند. به‌علاوه همان طور که در جدول ٤ مشاهده می‌شود، با افزایش زمان نگهداری ، ویسکوزیته تمامی تیمارها به طور معنی‌داری افزایش یافت.



شکل ۳ اثر غلظت و زمان فعالیت آنزیم بر ویسکوزیته نمونه‌های ماست

حضور آنزیم TG به سبب توانایی ایجاد پلی‌مرهای با وزن مولکولی بالا از مونومرهای پروتئین بدون تغییر در خصوصیات شیمیایی ماست، باعث افزایش ویسکوزیته می‌شود. نتایج مشابهی توسط Ozer و همکاران در سال ۲۰۰۷ ارائه شده است [۲۰]. بنابر نتایج آن‌ها نمونه‌های تیمار شده با آنزیم TG به صورت معنی‌داری دارای ویسکوزیته بالاتری نسبت به انواع تیمار نشده بودند. در همین راستا Gauche و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های ماست در هنگام استفاده از تیمار آنزیمی در سطح ۰/۵ U/g پروتئین قبل از فرآیند تخمیر بالاتر بود [۲۱].. در ارتباط با اثر متقابل دو متغیر مشاهدات نشان داد که با افزایش غلظت آنزیم و زمان فعالیت آن میزان ویسکوزیته نمونه‌ها افزایش می‌یابد، هرچند اختلاف معنی‌داری میان نمونه شاهد (۱۷/۲۵ پاسکال‌ثانیه) با نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۰/۰۱ درصد آنزیم در زمان ۱۲ و ۲٤ ساعت مشاهده نگردید.

Mahmood و Sebo [۱٦] مشاهده کردند که در هفته اول نگهداری مقدار ویسکوزیته نمونه‌ها افزایش یافت و پس از آن افزایش کمتری، با همان مقدار اختلاف بین تیمارها، تا انتهای دوره‌ی نگهداری دیده شد. این افراد بیان کردند که این امر می‌تواند به اختلاف بین pH نمونه نسبت داده شود که ممکن است برهم‌کنش‌های بین پروتئین- پروتئین را تغییر دهد و در نتیجه سبب بازسازی پروتئین با نرخ پایین در دوره نگهداری سرد شود.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ٤ میانگین ویسکوزیته (پاسکال ثانیه) نمونه‌های تیمار شده در دمای 5^0C در طی زمان نگهداری (میانگین ± خطای استاندارد)

تیمار	روز ۱	روز ۱۰	روز ۲۰	میانگین
۱(شاهد)	۱٦/۳٥ ± ۰/٦۹^{d}	۱٦/٦٥ ± ۰/۲٥^{f}	۱۸/۷٥ ± ۰/۳۱^{h}	۱۷/۲٥ ± ۰/٥٤^{fg}
۲	۱٤/۰۳ ± ۰/٦٤^{f}	۱۸/۰۳ ± ۰/۰۸^{d}	۱۹/٥۰ ± ۰/۲۳^{g}	۱۷/۱۸ ± ۰/٦۷^{g}
۳	۱٥/٤۳ ±۰/۷٦^{e}	۱٦/۹۳ ± ۰/۰۳^{f}	۲۰/۰۰ ± ۰/۳۳^{f}	۱۷/٤٥ ± ۰/٦۱^{f}
٤	۱٦/۳۳ ± ۰/۷۰^{d}	۱۷/٤۳ ± ۰/۱٤^{e}	۲۰/٤۰ ± ۰/۱۱^{f}	۱۸/۰٥ ± ۰/۸۲^{e}
٥	۱٦/۷۳ ± ۰/٦٤^{cd}	۱۷/۸۳ ± ۰/۱٤^{d}	۱۹/٤۳ ± ۰/۱۱^{g}	۱۸/۰۰ ± ۰/۳۹^{e}
٦	۱۷/۸۰ ± ۰/٦۱^{b}	۱۹/۰۳ ± ۲/۱۷^{e}	۲۲/۳۰ ± ۰/۰٥^{d}	۱۹/۷۱ ± ۰/٦۷^{c}
۷	۱۷/۰۰ ± ۰/٦۰^{c}	۱۸/۸۰ ± ۰/۱۱^{c}	۲۳/۳۳ ± ۰/۲۰^{c}	۱۹/۷۱ ± ۰/۹٤^{c}
۸	۱۷/٦۰ ± ۰/٥٥^{b}	۱۸/۱۰ ± ۰/۱۷^{d}	۲۱/۷۳ ± ۰/۱٤^{e}	۱۹/۱٤ ± ۰/٦٥^{d}
۹	۲۰/٥۳ ± ۰/٦٤^{a}	۲٤/۸۰ ± ۰/۱۱^{b}	۲۷/٦۳ ± ۰/۱٤^{a}	۲٤/۳۲ ± ۱/۰۳^{a}
۱۰	۲۰/٤۰ ± ۰/۲۳^{a}	۲۳/٦۳ ± ۰/۲۰^{a}	۲٥/۱۰ ± ۰/۰٥^{b}	۲۳/۰٤ ± ۰/۷^{b}
میانگین روز	۱۷/۲۲ ± ۰/۳٥^{C}	۱۹/۱۲ ± ۰/٤۹^{B}	۲۱/۸۱ ± ۰/٥۰^{A}	–

در هر ستون بین میانگین‌هایی که حروف کوچک غیر مشابه دارند، اختلاف معنی‌دار ($p < ۰/۰٥$) وجود دارد.

٤- نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که اتصالات عرضی پروتئین‌های شیر بوسیله آنزیم TG در دمای ٥ درجه سانتی‌گراد سبب بهبود ویژگی‌های بافتی، افزایش ویسکوزیته و همچنین کاهش سینرسیس شد. بر اساس پارامترهای مورد آزمون می‌توان نتیجه گرفت افزایش در سفتی، قوام و ویسکوزیته نمونه‌های ماست به میزان آنزیم اضافه شده به شیر، مدت زمان فعالیت آنزیم و همچنین مدت زمان نگهداری ماست بستگی دارد. با این حال به منظور رسیدن به خواص بافتی و کیفیت حسی مطلوب در ماست، غلظت آنزیم اضافه شده باید به دقت کنترل شود. بهترین نمونه ماست تازه از نظر خواص بافتی، ویسکوزیته و ظرفیت جذب آب از افزودن غلظت ۰/۰۳ درصد آنزیم به مدت ٤۸ ساعت حاصل شد. در هر حال نتایج اثر متقابل غلظت آنزیم و زمان فعالیت آنزیم نشان داد که در غالب پارامترهای مورد بررسی بویژه سفتی و قوام اختلاف معنی داری میان تیمار شماره ۷ (غلظت ۰/۰۲ درصد و زمان فعالیت ٤۸ ساعت) و تیمار شماره ۱۰ (غلظت ۰/۰۳ درصد آنزیم و زمان فعالیت ٤۸ ساعت) وجود نداشت و به علاوه نتایج حسی (نتایج نشان داده نشده است) دلالت بر سفتی بیش از حد همراه با ایجاد حالت گلوله‌ای شدن نمونه‌های تیمار شده در سطوح بالای آنزیم (در مدت زمان ٤۸ ساعت) در پایان نگهداری بود. به همین دلیل از میان غلظت‌های مورد بررسی غلظت ۰/۰۲ درصد را می توان به عنوان غلظت بهینه در نظر گرفت. در یک نتیجه‌گیری کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار سرد آنزیمی شیر از طریق اتصالات عرضی پروتئین‌ها می‌تواند به عنوان روش مناسبی جهت بهبود ویژگی های بافتی ماست معرفی گردد.

٥- منابع

[1] Færgemand, M., Otte, J. and Qvist, K. B. 1998. Emulsifyingproperties of milk proteins cross-linked with microbialtransglutaminase. International Dairy Journal, 8: 715-723.

[2] Schorsch, C., Carrie, H., Clark, A.H. and Norton, I.T. 2000a. Cross-linking casein micelles by microbial transglutaminase conditions for formation of transglutaminase-induced gels. International Dairy Journal, 10 (8): 519-528.

[3] Færgemand, M., Sorensen, M. V., Jorgensen, U., Budolfsen, G. and Qvist, K. B. 1999. Transglutaminase: Effect on instrumental and sensory texture of set style yoghurt. Milchwissenschaft, 54: 563-566.

[4] Motoki, M. and Seguro, K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. Trends in Food Science and Technology, 9: 204-210.

[5] Dickinson, E. 1997. Enzymic crosslinking as a tool forfood colloid rheology control and interfacial stabilization.Trends in Food Science and Technology, 10: 333-339.

[6] Zhu, Y., Rinzema, A., Tramper, J. and Bol, J. 1995. Microbial transglutaminase: a review of its production and application in food processing. Appl. Microbial Biotechnology, 44: 277-282.

Archive of SID

www.SID.ir

[7] Farnsworth, J.P., Lia, J., Hendricks, G.M. and Guo, M.R. 2006. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. Small Ruminant Research, 65: 113-121.

[8] Han, X. Q. and Damodaran, S. 1996. Thermodynamic compatibility of substrate proteins affects their cross-linking by transglutaminase. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2: 389-487.

[9] Sharma, R., Lorenzen, P. C. and Qvist, K. B. 2001. Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of epsilon-(gamma-glutamyl) lysine and the susceptibility of individual proteins towards crosslinking. International Dairy Journal, 11: 785-793.

[10] Oner, Z., Karahan, A. G., Aydemir, S. and Aloglu, H. S. 2008. Effect of Transglutaminase on Physicochemical Properties of Set-style Yogurt. International Journal of Food Properties, 11: 196-205.

[11] Sanli, T., Sezgin, E., Deveci, O., Senel, E. and Benli, M. 2011. Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt. Food Hydrocolloids, 25: 1477-1481.

[12] AOAC, 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

[13] Kesenkaş, H. 2010. Effect of using different probiotic cultures on properties of Torba (strained) yoghurt. Mljekarstvo, 60 (1): 19-29.

[14] Lauber, S., Henle, T. and Klostermeyer, H. 2000. Relationship between the crosslinking of caseins by transglutaminase and the gel strength of yoghurt. European Food Research and Technology, 210: 305-309.

[15] Lorenzen, p. c., Neve, H., Mautner. A. and Schlimme, E. 2002. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. International Journal of Dairy Technology, 55(3): 152-157.

[16] Mahmood, W.A. and Sebo, N. H. 2012. Improvement of Yogurt Properties by Microbial Transglutaminase. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 8(3): 333-342.

[17] Domagata, J., Wszoteka, M., Tamime, A. Y. and Kupiec-Teahan, B. 2013. The effect of transglutaminase concentration on the texture, syneresis and microstructure of set-type goat's milk yoghurt during the storage period. Small Ruminant Research, 112: 154-161.

[18] Tsevdou, M.S., Eleftheriou, E.G. and Taoukis, P.S. 2013. Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties and storage stability of set yoghurt. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 17: 144-152.

[19] Schorsch, C., Carrie, H., and Norton, I.T. 2000b. Cross-linking casein micelles by microbial transglutaminase: influence of cross-links in acid-induced gelation. International Dairy Journal, 10 (8): 529-539.

[20] Ozer, B., Kirmaci, H.A., Oztekin, S., Hayaloglu, A. and Atamer, M. 2007. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. International Dairy Journal, 17: 199–207.

[21] Gauche, C., Tomazi, T., Barreto, P.L.M., Ogliari, P.J. and Bordignon-Luiz, M.T. 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. Food Science and Technology, 42: 239-243.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of cold enzymatic treatment of milk by transglutaminase on textural properties of yogurt

Jooyandeh, H.[1*], Mahmoodi, R.[2], Samavati, V.[3], Hojjati, M.[3]

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. MSc. of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural University of Khuzestan, Mollasani, Iran
3.Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural University of Khuzestan, Mollasani, Iran

(Received: 94/6/17 Accepted: 94/9/12)

Protein gel is mainly established by weak noncovalent interactions. The introduction of new covalent bonds leads to gel formation with different structure and properties. It has been supposed that heightening the new protein cross linking by transglutaminase (TG) increases the degree of protein polymerization and thereby improves the physical and sensory properties of the yogurt. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of cold enzymatic treatment of the milk by transglutaminase on the yogurt textural properties. The transglutaminase enzyme at 4 concentration levels (0, 0.01, 0.02, and 0.03 %) and 3 different incubation time (12, 24 and 48 h) was applied at 5°C. The results showed that milk treatment by TG at different periods of incubation can improve the textural characteristics, increase viscosity and decrease syneresis of the yogurt. All treated samples with different TG levels had better texture and consistency than control sample (without enzyme). For instance, by utilizing 0.01 per cent TG, the hardness and consistency significantly increased from 0.096 to 0.131 g and 0.872 to 1.049 g/s, respectively. Among yogurts, sample containing 0.03 per cent TG incubated for 48 h had the highest hardness and consistency and its mean values during 20 days of storage were recorded as 0.204 g and 1.645 g/s, respectively. However, results indicated that sample containing 0.03 per cent TG incubated for 24 h had significantly higher viscosity (24.32 Pa.s) than other yogurts.

Key words: Transglutaminase, Cold enzymatic treatment, Yogurt, Textural properties

Archive of SID

*Corresponding Author E-Mail Address : hosjooy@yahoo.com

www.SID.ir