Archive of SID

مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۰ شماره ۱/ سال ۱۳۹۹/ صفحات ۱ تا ۱۴

بهینه‌سازی تولید دوغ حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز با استفاده از کازئینات سدیم

ویدا برین[۱] و لیلا روفه گری نژاد[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۵

[۱]دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
[۲]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
* مسئول مکاتبه: Email: l.roufegari@iaut.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: افزودن پروتئین‌های لبنی به دوغ علاوه بر افزایش ارزش تغذیه‌ای و سلامتی‌بخشی محصول می‌تواند منجر به تولید دوغ پایدار با خواص رئولوژیکی بهتر گردد. **هدف:** این پژوهش با هدف تأثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر بهبود ویژگی‌های کیفی و پایداری دوغ انجام گرفت. **روش کار:** به این منظور با بکارگیری روش آماری سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی، تأثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز در محدوده صفر تا ۵ واحد به ازاء هر گرم پروتئین و کازئینات سدیم در محدوده صفر تا ۱ درصد بر روی اسیدیته، دو فازه شدن، ویسکوزیته و ویژگی‌های حسی دوغ بررسی شد. **نتایج:** نتایج نشان داد که استفاده از ترانس گلوتامیناز افزایش معنی‌داری بر روی اسیدیته داشته در صورتی که اثر کازئینات سدیم معنی‌دار نبود. ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر ویژگی‌های حسی و ویسکوزیته افزایش معنی‌دار و بر میزان دوفازه شدن کاهش معنی‌داری داشتند. با انجام بهینه‌سازی برای تولید محصول با پایداری بالا همراه با بیشترین مقبولیت حسی، مقادیر بهینه ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم به ترتیب ۴/۳۰ واحد به ازاء هر گرم پروتئین و ۰/۷۱ درصد محاسبه شد. مقایسه نمونه بهینه و شاهد نشان داد که نمونه بهینه ویسکوزیته و مقبولیت حسی بالاتر با حداقل دو فازه شدن را داشت. هم‌چنین تیمار با ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم باعث کاهش اندازه ذرات و منفی شدن پتانسیل زتا شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** در مجموع نتایج حاصل نشان داد با بکارگیری کازئینات سدیم و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی می‌توان دوغ پایدار با ویژگی‌های مطلوب از نظر خواص فیزیکی‌شیمیایی و حسی با قابلیت نگهداری طولانی مدت تولید نمود.

واژگان کلیدی: ترانس گلوتامیناز، دوغ، روش سطح پاسخ، کازئینات سدیم

مقدمه

دوغ به عنوان محصول لبنی اسیدی و بومی ایران، سهم بزرگی از صنعت نوشیدنی را در این کشور به خود اختصاص داده است (زمردی و کیانفر ۱۳۹۸). این محصول به صورت سنتی با افزودن آب به ماست کامل و هم زدن در کیسه‌های سنتی به نام مشک و گرفتن چربی آن به دست می‌آید که در نهایت با اضافه کردن نمک و گیاهان معطر آماده‌ی مصرف می‌شود. به صورت صنعتی نیز از شیر چربی گرفته شده ماست تهیه می‌کنند، سپس با افزودن آب، نمک و اسانس یا

www.SID.ir

Archive of SID

عرقیات گیاهی، ماست به دوغ تبدیل می‌شود (کیانی و همکاران ۲۰۱۰). محصول‌های مشابه دوغ در کشورهای دیگر با نام‌های مختلف مانند آیران[۱]در ترکیه و لبن‌ڈر کشورهای عربی موجود هستند (نیلسون و همکاران ۲۰۰۶). فرایند تخمیر سبب تولید انواع مختلف ترکیب‌های تغذیه‌ای مفید مانند اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای مختلف، آنتی بیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها توسط باکتری‌های لاکتیکی می‌شود. این مواد موجب کاهش و یا نابودی میکروب‌های مسمومیت‌زا و عفونت‌زا در دستگاه گوارش می‌شوند. هم‌چنین تبدیل بخشی از لاکتوز به اسید لاکتیک در دوغ موجب کاهش عوارض ناشی از عدم تحمل لاکتوز می‌گردد (جمالی فر و همکاران ۱۳۸۸).

آنزیم ترانس گلوتامیناز یک آسیل ترانسفراز است که در محیط پروتئینی انتقال آسیل را بین گروه‌های گاماکربوکسی آمید گلوتامین (به عنوان دهنده‌ی آسیل) و گروه‌های اپسیلون آمینو لیزین (به عنوان گیرنده‌ی آسیل) کاتالیز می‌کند. این واکنش منجر به ایجاد پیوندهای عرضی میان مولکول‌های پروتئینی، از جمله پروتئین‌های شیر می‌شود. این آنزیم به‌طور گسترده در بافت‌های حیوانی و مایعات بدن، گیاهان، ماهی‌ها و میکروارگانیسم‌ها توزیع شده‌اند. امروزه آنزیم ترانس گلوتامیناز از یک گونه مهم باکتریایی به نام *استرپتوورتیسیلیوم*[۳] استخراج و خالص‌سازی می‌شود. آنزیم ترانس گلوتامیناز حاصل از میکروارگانیسم، برخلاف آنزیم ترانس گلوتامیناز حاصل از کبد خوک وابسته به یون کلسیم نمی‌باشد (کورایشی و همکاران ۲۰۰۱). استفاده از این آنزیم در فراورده‌های تخمیری شیر سبب افزایش قدرت ژل‌های اسیدی، افزایش ویسکوزیته، کاهش آب‌اندازی و ایجاد بافتی صاف‌تر در ماست‌های قالبی و همزده شده است (جاروس و همکاران ۲۰۰۷؛ سانلی و همکاران ۲۰۱۱). اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز در شیر بدون چربی برای بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی (میوا و همکاران ۲۰۱۰)، ویژگی‌های بافتی ژل اسیدی تهیه شده با شیر بز (آردلن و همکاران ۲۰۱۲)، ویژگی‌های عملکردی و بافتی بستنی در جهت افزایش ویسکوزیته، استحکام، برش‌پذیری، مقاومت در برابر ذوب بالا (پریسکیلا و همکاران۲۰۱۲)، ماست کم چرب و بدون چربی برای کاهش سینرزیس و افزایش ویسکوزیته (تسودو و همکاران ۲۰۱۳)، خصوصیات بافتی و حسی پنیر فرا پالایشی (حسینی اقدم و همکاران ۱۳۹۱) مورد بررسی قرار گرفته است.

استفاده از کازئینات سدیم در صنعت لبنیات و تولید محصول‌های شیری اصلاح شده در تمام دنیا افزایش یافته است. افزودن کازئینات سدیم به محصول‌های لبنی تلقیحی موجب افزایش ارزش غذایی و بهبود ویژگی تکنولوژیکی محصول می‌شود که به دلیل باند کردن آب اضافی، ممانعت از آب‌اندازی و بهبود قوام محصول می‌باشد.در بین پروتئین‌های شیر، کازئین سوبسترای فوق‌العاده‌ای برای ترانس گلوتامیناز می‌باشد (لورنزن و همکاران ۲۰۰۲). گزارش‌های زیادی در خصوص افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم به فرآورده‌های لبنی همانند ماست، پنیر و... وجود دارد. ویژگی‌های بافتی و حسی ماست پروبیوتیک غنی شده با کازئینات سدیم برای افزایش ویسکوزیته و کاهش آب-اندازی (مؤیدزاده و همکاران ۱۳۹۱) وخصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی ماست اسفناج (فدایی نوغانی و همکاران ۱۳۹۳) نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

تفکیک فازی در طول نگهداری، مهم‌ترین عیب در نوشیدنی‌های تخمیری شیر به ویژه دوغ می‌باشد. دلیل این امر گرانروی پایین، pH پایین و تاثیر آن‌ها بر رسوب کردن پروتئین است (گرجیان و رفتنی امیری ۱۳۹۸). تفکیک فازی که به صورت علمی جدایش سرم خوانده می‌شود به معنای تفکیک محصول به دو قسمت، شامل لایه‌ای ته‌نشین شده از مولکول کازئین و لایه بالایی شفاف سرم می‌باشد (جوداکی و همکاران ۲۰۱۳). در هم تنیدن آنزیمی پروتئین‌های شیر با ترانس گلوتامیناز

---

۱ Ayran

۲ Laben

www.SID.ir

Archive of SID

اتصال‌های کوالانسی جدیدی را وارد ساختار ژل می‌کند و در نتیجه باعث افزایش یکپارچگی مولکول‌های پروتئینی کازئین را در برابر اسید و کاهش تفکیک فازی در طی نگهداری می‌شود (کیانی و همکاران ۲۰۱۰). با توجه به مطالب ذکر شده، هدف اصلی از این پژوهش بررسی امکان افزایش پیوندهای عرضی در ساختار پروتئین‌های شیر با استفاده از کازئینات سدیم و آنزیم ترانس گلوتامیناز به منظور افزایش پایداری دوغ در طی نگهداری بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه مورد استفاده

شیر گاو مورد استفاده از کارخانه دامنه سهند تبریز تهیه شد (جدول ۱). کشت باکتریایی ماست EXPRESS01 حاوی *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* از نوع DVS و به صورت خشک شده انجمادی از شرکت دانمارکی کریستین هانسن، آنزیم ترانس گلوتامیناز از شرکت Gelima آمریکا با فعالیت ۱۰۰۰-۱۱۰۰واحد/گرم پروتئین و کازئینات سدیم از شرکت کازئینات ایران خریداری شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایش‌ها نیز از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

جدول ۱- ویژگی‌های شیرخام مورد استفاده برای تهیه تیمارها

Table 1- Characteristics of raw milk used to prepare treatments

Characteristics	Contents
Acidity (Dornic degree)	14.5±0.005
Solid Non Fat (%)	8.5±0.003
Fat (%)	1.5±0.03
Total Count (cfu/ml)	10^6

روش تولید نمونه‌های دوغ

شیر خام مورد استفاده از نظر چربی به ۰/٦ درصد استاندارد شده و در دمای ۷۲°C به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه و در دمای ٦۰°C با فشار ۱۸۰ بار هموژنیزه شد. سپس در دمای ٤٥°C کازئینات سدیم افزوده شده و در دمای ٥۰°C آنزیم ترانس گلوتامیناز به شیر افزوده و به مدت ۲ ساعت در این دما گرمخانه‌گذاری شد. جهت غیر فعال کردن آنزیم ۱۵ ثانیه در دمای۷۲°C حرارت داده شد. سپس استارتر در دمای ٤۲°C اضافه و به مدت ۱۲ ساعت نگهداری و پس از آن به نسبت ٥۰ به ٥۰ آب و نمک (۰/٦٥ درصد) اضافه شد و در دمای ۷۰°C به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه گردید. دوغ‌های تولید شده در دمای ٤°C نگهداری شد.

آزمون‌های فیزیکی، شیمیایی و حسی

اسیدیته بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸٥۲ (۱۳۸٥) و ماده خشک بدون چربی بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ٦۳۷ (۱۳۹۳) اندازه‌گیری شد. برای بررسی میزان دو فاز شدن، نمونه‌های دوغ، داخل بطری‌های ۲٥۰ میلی‌لیتری در دمای٥°C به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند. سپس میزان فاز سرمی (فاز بالایی) توسط خط‌کش، اندازه‌گیری و بر مقدار دوغ محتوی بطری تقسیم و در عدد ۱۰۰ ضرب شد (فروغی نیا و همکاران ۱۳۸۷). ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها توسط دستگاه ویسکومتر و اسپیندل شماره ٦۰ (Thermo Haake، مدل 7L، آلمان) در دمای محیط اندازه‌گیری شد (آذری‌کیا و همکاران ۱۳۸۷).

جهت بررسی اندازه ذرات نمونه بهینه از روش پراکنش نور استاتیک استفاده شد و قطر متوسط ذرات کلوئیدی در تیمارهای مختلف توسط دستگاه اندازه‌گیری ذرات (Malvern، مدل 2000s، انگلستان) تعیین گردید (کیانی و همکاران ۲۰۱۰). برای تعیین پتانسیل زتای نمونه بهینه از دستگاه اندازه‌گیری پتانسیل زتا (Malvern، مدل MAL 1032660، انگلستان) استفاده شد. برای این منظور، هر یک از نمونه‌ها نخست با استفاده از آب مقطر ٥۰ برابر رقیق شده، سپس توسط سرنگی داخل لوله موئین منتقل و لوله موئین در محل مخصوص داخل دستگاه قرار

www.SID.ir

Archive of SID

گرفت. اندازه گیری پتانسیل زتا در دمای۲۵°C و توان ۱۴۹ وات انجام شد (آذری کیا و همکاران ۱۳۸۷).

ویژگی‌های حسی نمونه‌های دوغ و نمونه بهینه، شامل رنگ، طعم و بافت توسط ۳۰ پانلیست (ارزیاب) غیر حرفه‌ای و بر اساس آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای و با استفاده از پرسش‌نامه مورد ارزیابی قرار گرفتند و میانگین امتیازت به صورت پذیرش کلی مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفتند (کارآموز و همکاران ۱۳۹۵).

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی $Y = b_0 + \sum b_i x_i + \sum b_{ii} x_i^2 + \sum b_{ij} x_i x_j$ اثر دو متغیر مستقل آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر خصوصیات مختلف دوغ از روش سطح پاسخ (RSM) در نرم افزارDesign Expert نسخه 8.0.2.0 استفاده شد. طبق آزمایش‌های مقدماتی دامنه هر یک از متغیرهای مستقل تعیین (جدول ۲) و پس از آن، ۳ سطح از هریک از متغیرهای مستقل با ۱۳ تیمار و ۵ تکرار در نقطه مرکزی طرح انتخاب و سپس تاثیر مستقل فاکتورها و اثرات متقابل آن‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) مورد بررسی قرار گرفت. بر داده‌های حاصل از آزمایش‌ها مدل چند جمله ای درجه دوم طبق رابطه زیر برازش داده شد. در این رابطه Y پاسخ پیش بینی شده، b_0 ضریب ثابت، b_i اثرات خطی، b_{ii} اثر مربعات وb_{ij} اثرات متقابل و x_i، x_j متغیرهای مستقل کدبندی شده هستند. معنی‌داری ضرایب مدل با استفاده از آنالیز واریانس برای هر پاسخ تعیین شد. کفایت مدل با استفاده از R_2، R_2 اصلاح شده و آزمون عدم برازش مدل مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۲- سطح متغیرهای طرح مرکب مرکزی مورد استفاده جهت بهینه‌سازی فرمولاسیون دوغ، به صورت کد دار و بدون کد

Table 2- Variables level of central composite design (CCD) for optimizing of Doogh formulation, as coded and uncoded level

Independent variables	Symbol	Levels		
		-1	0	+1
Sodium caseinate (%)	X1	0	0.5	1
Microbial transglutaminase (unit/g protein)	X2	0	5	10

به منظور تعیین مقدار بهینه متغیرهای مستقل در دوغ و دستیابی به بهترین فرمولاسیون، حد بالا و پایین و مطلوب هر یک از ویژگی‌های اندازه گیری شده (پاسخ‌ها) و اهمیت آن‌ها تعیین وسپس با روش بهینه‌سازی عددی نرم افزار Design Expert مقادیر بهینه متغیرهای مستقل تعیین گردید. به منظور اعتبارسنجی مدل ارائه شده، نمونه بهینه تهیه و پس از انجام آزمایش‌ها نتایج به‌دست آمده با مقادیر برآورده شده توسط نرم افزار SAS و آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر مقایسه شد.

نتایج و بحث

بررسی اسیدیته دوغ‌های تهیه شده

با توجه به معنی‌دار بودن مدل و بالا بودن ضریب تبیین ۰/۹۱۳۸ می‌توان اعتبار و صحت مدل دو فاکتوری برازش شده را پیشگویی کرد (جدول ۳). رابطه۱ نتایج مدل‌سازی و فاکتورهای برازش مدل را بر اسیدیته در نمونه‌های تولید شده نشان می‌دهد. تاثیر غلظت‌های مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر تغییر اسیدیته دوغ نیز در شکل ۱ نشان داده شده است. نمودار سه بعدی نشان‌دهنده این است که با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز تا ۲/۵ واحد بر گرم، اسیدیته روند افزایشی و پس از آن کاهش می‌یابد. یکی از دلایل محکم برای رشد کند استارتر، این است که پپتیدهای

www.SID.ir

Archive of SID

با وزن مولکولی کم و یـا اسیدآمینه‌هایی که برای رشد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* مورد نیاز هستند، توسط آنـزیم ترانس گلوتامیناز دچـار اتصـالات عرضـی شده و تا حدودی برای این میکروارگانیسم غیـر قابـل دسترس می‌شوند (اوزرنک ۲۰۰۶). این نتایج با یافته‌های فدایی نوغانی و همکاران (۱۳۹۳) درماست اسفناج و باربا‌روس و همکاران (۲۰۱۲) در شیر تخمیر شده با رنت هم‌خوانی داشت، ولی سانلی و همکاران (۲۰۱۱) نیز بیان کردند افزودن ترانس گلوتامیناز در فراورده‌های لبنی تفاوت معنی‌داری بر اسیدیته ندارد. کازئینات سدیم تا ۰/۶ درصد باعث افزایش معنی‌دار شد اما در مقادیر بالاتر اسیدیته کاهش غیرمعنی‌داری داشت. آکالین و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی بر روی ماست پروبیوتیک غنی شده با کازئینات سدیم به علت خاصیت بافری کم کازئین تاثیر معنی‌داری بر اسیدیته مشاهده نکردند که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

رابطه(۱) اسیدیته =۴۹/۸۲۵- ۰/۰۵۴X_1-۰/۱۲۴X_1^2

بررسی دوفازه شدن دوغ‌های تهیه شده

آب‌اندازی، انقباض ژل است به طوری که منجر به جدا شدن آب پنیر می‌شود. افزایش ماده خشک و یا افزایش محتوای پروتئینی، روش‌های متداول در جلوگیری از آب‌اندازی است (فدایی نوغانی و همکاران ۱۳۹۳). مشکل اصلی دوغ هنگام نگهداری دوفاز شدن آن به علت پایین بودن pH و توده‌ای شدن انواع کازئین‌ها است (باقری و همکاران ۱۳۹۳). همان‌طور که از نتایج آماری مشاهده می‌شود مقادیر F و P پارامتر عدم معنی‌داری آزمون فقدان برازش برای معادله پیش‌بینی دوفازه شدن تأییدی بر مناسب بودن مدل می‌باشد (جدول ۳). با توجه به نزدیک بودن R^2 به یک (برابر ۰/۹۹۱۰) می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که معادله ریاضی ساخته شده بین متغیر وابسته دو فاز شدن و متغیر مستقل در دوغ به خوبی توانسته است ارتباط بین متغیرهای مورد آزمون را نشان دهد. بررسی نتایج، حکایت از این داشت که متغیر X1 و X2 اثر معنی‌داری (P<۰/۰۵) بر دوفازه شدن دوغ دارد و اثر متقابل دومتغیر (X1.X2) غیر معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). هم‌چنین ضریب منفی متغیر آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم در مدل رگرسیونی اجزای فرمولاسیون پارامتر دوفازه شدن نشان‌دهنده کاهش دو فازه شدن دوغ با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم در فرمولاسیون می‌باشد که در این میان تأثیر آنزیم با افزایش غلظت بیش‌تر است. با توجه به آنالیز داده‌ها، مدل نهایی دو فازه شدن در دوغ به صورت رابطه ۲ تعیین شد. اثر متقابل متغیرهای مستقل بر پاسخ (دوفازه شدن)، در شکل ۱ نشان می‌دهد که با افزایش میزان آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم میزان دوفازه شدن کاهش می‌یابد. این امر ممکن است ناشی از تاثیر کازئینات سدیم بر ویژگی‌های رفتار جریانی و کاهش منافذ محتوی آب در شبکه‌های پروتئینی باشد. هم‌چنین ثابت شده است که تیمار آنزیمی منجر به ایجاد اتصالات عرضی به‌خصوص کازئین‌ها و افزایش ظرفیت نگهداری آب در شبکه‌های ژلی می‌شود (اوزرنک ۲۰۰۶) که مجموع این عوامل منجر به کاهش دوفاز شدن دوغ می‌گردد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان دوفازه شدن به ترتیب مربوط به نمونه شاهد و نمونه حاوی ۵ گرم بر واحد ترانس گلوتامیناز و ۱درصد کازئینات سدیم بود (جدول ٤).

رابطه (۲) دو فازه شدن =۲/۹۶۷ −۰/۱۵۰X_1 -۰/۸۸۲X_2 + ۰/۰۱۰X_1^2+۰/٤٥٧ X_2^2

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی ویسکوزیته ظاهری دوغ‌های تهیه شده

از فاکتورهای بسیار مهم و تاثیرگذار بر کیفیت محصول، ویسکوزیته و ساختار ژل می‌باشد (رودریگز-نوگالز ۲۰۰۶). نتایج تجزیه واریانس بر ویسکوزیته دوغ در سرعت برشی $50s^{-1}$ (جدول ۳) نشان از قابلیت اطمینان بالای مدل رگرسیون در پیش‌بینی ویسکوزیته ظاهری دوغ تولید شده با غلظت‌های مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم دارد. در واقع بالا بودن مقادیر ضریب تبیین مبین این است که تغییرات ویسکوزیته ظاهری دوغ تا حد بسیار بالایی به وسیله تغییر اجزای فرمولاسیون قابل توضیح است. از سوی دیگر، معنی‌دار نبودن آماری فاکتور فقدان برازش نشان-دهنده این است که مدل موجود مدل مناسبی است و نیاز به تغییر مدل برای توضیح تغییرات پارامترهای یاد شده نمی‌باشد (گودرزی و همکاران ۲۰۱۲). همان‌طور که مشاهده می‌شود اثرات خطی غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر ویسکوزیته معنی‌دار بود و افزایش غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم در فرمولاسیون دوغ به صورت معنی‌داری منجر به افزایش ویسکوزیته دوغ حاصله می‌شود ($P<0/01$). در واقع، توانایی آنزیم در تشکیل پلی‌مرهایی با وزن مولکولی بالا از مونومرهای پروتئین، موجب افزایش میزان ویسکوزیته شده است (گوچی و همکاران ۲۰۰۹). هم‌چنین اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم و اثر متقابل آن‌ها و هم‌چنین اثر درجه دوم آنزیم ترانس گلوتامیناز افزایش معنی‌دار داشت ($P<0/01$)، ولی اثر درجه دوم کازئینات سدیم غیر معنی‌دار گزارش شد. در این میان تاثیر متغیر X_1 بیشتر بود. مدل نهایی برای ویسکوزیته در رابطه ۳ آورده شده است. بررسی نتایج (جدول ٤) نشان داد بیشترین و کمترین ویسکوزیته ظاهری به ترتیب ۳۰ و ٦ سانتی پواز بود که این مقادیر به ترتیب مربوط به تیمارهای دوغ حاوی ۵ واحد بر گرم آنزیم ترانس گلوتامیناز و ۱ درصد کازئینات سدیم و دوغ شاهد بودند. همان‌طور که پیش‌تر نیز بیان شد افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز وکازئینات سدیم باعث افزایش قابلیت جذب آب شده که موجب کاهش قابل ملاحظه دوفازه شدن و افزایش ویسکوزیته ظاهری شده است.

رابطه (۳) $\text{ویسکوزیته ظاهری} = 5/7 + 0/46 X_1 + 18/78 X_2 - 3/20 X_1.X_2 - 0/61 X_1.X_1$

طبق منابع موجود، غنی‌سازی پروتئین شیر ماست‌سازی در فعالیت ترانس گلوتامیناز میکروبی نقش بسیار مهمی دارد. شایان ذکر است که کازئینات سدیم بهترین سوبسترا برای ترانس گلوتامیناز شناخته شده است که احتمالا به دلیل ساختار باز و دسترس‌پذیری بهتر لیزین در آن می‌باشد (پورمحمدی و همکاران، ۱۳۸۸). افزودن آنزیم موجب تشکیل سریع‌تر ژل در مقایسه با نمونه بدون تیمار آنزیمی می‌شود به معنای دیگر، در نتیجه تشکیل اتصالات عرضی بین گلوتامین و لیزین در نمونه‌های تیمار شده با آنزیم، پلی‌مرهایی با وزن مولکولی بالا تشکیل می‌شود. نتایج به‌دست آمده با یافته-های مویدزاده و همکاران (۱۳۹۱) و لورنزن و همکاران (۲۰۰۲) مبنی بر افزایش ویسکوزیته با افزایش آنزیم و کازئینات سدیم هم‌خوانی داشت. سودینی و همکاران (۲۰۰۵) و آکالین و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند افزودن ترکیبات طبیعی شیر مانند کازئین، باعث افزایش ویسکوزیته محصول به علت افزایش پروتئین نسبت به ماده خشک می‌شود. از طرفی عبد-رابوو همکاران (۲۰۱۰) و سانلی و همکاران (۲۰۱۱) نیز اظهار داشتند که آنزیم توانایی تشکیل پیوندهای کوالانسی بین مولکول‌های پروتئین را دارد و با افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز به عنوان جایگزین چربی می‌توان به افزایش ویسکوزیته دست یافت (شکل ۱) که تاییدی بر یافته‌های تحقیق حاضر بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳-تجزیه واریانس (ANOVA) تاثیر سطوح مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر ویژگی‌های دوغ

Table 3- Analysis of variance (ANOVA) effect of different levels of transglutaminase enzyme and sodium caseinate on Doogh properties

Source	Acidity		Phase separation		Apparent viscosity		Overall acceptability	
	Regression coefficient	F value	Regression coefficient	F value	Regression coefficient	F value	Regression coefficient	F value
Model	+49.824	14.84**	+2.967	153.79***	+5.045	42.46***	+1.379	15.44**
X1	+0.054	59.03***	-0.149	392.06***	+7.356	99.27***	+0.742	9.42**
X2	-1.729	1.20 ns	-0.881	288.04 ***	+18.781	71.72 ***	+5.826	17.91 **
X1.X1	-0.124	12.02*	+0.010	13.64**	-0.617	23.82**	-0.051	2.63 ns
X2.X2	+0.896	1.00 ns	+0.456	43.18 ***	-0.551	15.33 ns	-3.086	15.11**
X1.X2	+0.200	1.81 ns	+0.010	0.75 ns	-3.200	0.020 **	-0.640	23.52 **
Linear	_	1.75 ns	_	27.06 **	_	26.36 **	_	27.86 **
Quadratic	_	1.85 ns	_	32.21 **	_	15.64 **	_	19.27 **
Lack of fit	_	0.28ns	_	2.72ns	_	6.50ns	_	5.69ns

X1 and X2 represent sodium caseinate and Microbial transglutaminase, respectively.

***Significant at 0.001, ** Significant at 0.01, ns non-significant

بررسی ویژگی‌های حسی دوغ‌های تهیه شده

خواص حسی از عوامل اساسی پذیرش بسیاری از فراورده‌ها و کسب رضایت از مصرف آن‌ها است. با توجه به اهمیت این خواص، بررسی و شناخت عوامل موثر بر آن‌ها به منظور دست‌یابی به خواص حسی بهینه و جلوگیری از ایجاد خواص حسی نامطلوب ضروری است (عزیزنیا و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج تحلیل آماری داده‌های حاصل از ارزیابی حسی (پذیرش کلی) نمونه‌های دوغ نشان‌دهنده بالا بودن ضریب تبیین و معنی‌دار نبودن فاکتور فقدان برازش در مورد مدل حسی بود که نشان از صحت پیش‌گویی مدل‌ها داشت. بر اساس یافته‌ها، تغییر غلظت کازئینات سدیم و آنزیم ترانس گلوتامیناز و اثر متقابل آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم در فرمولاسیون دوغ و اثر درجه دوم کازئینات سدیم تأثیر معنی‌داری بر ویژگی حسی آن‌ها داشت ($p<۰/۰۵$)، که بیش‌ترین اثر مربوط به اثر درجه دوم متغیر کازئینات سدیم (X_2^2) بود. هم‌چنین اثر درجه دوم آنزیم ترانس گلوتامیناز (X_1^2) در فرمولاسیون دوغ با تاثیر اندک بر رشد استارتر ماست، باعث اختلاف کم در ویژگی‌های حسی نمونه‌های تیمار شده با آنزیم و نمونه شاهد شد که این اختلاف غیر معنی‌داربود ($p>۰/۰۵$). مدل یا رابطه ٤ برای ویژگی‌های حسی (پذیرش کلی) به دست آمد. بررسی نمودار سه بعدی (شکل ۱) نشان داد افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز تا غلظت ٤ واحد بر گرم باعث افزایش پذیرش کلی شده، اما در مقادیر بالاتر، مقبولیت کاهش می‌یابد که دلیل آن افزایش ویسکوزیته نمونه می‌باشد. چنین نتیجه‌ای توسط حسینی اقدم (۱۳۹۱) بر روی پنیر فراپالایشی نیز بیان شد که نتیجه گرفت با افزایش مقدار آنزیم به علت افزایش ویسکوزیته امتیاز ارزیابی حسی کاهش می‌یابد. بنابراین برای تاثیر بیشتر بسته به محصول باید زمان انکوباسیون و مقدار آنزیم تغییر یابد. نتایج دوریس و همکاران (۲۰۱۰)، آکالین و همکاران (۲۰۱۱) وفدایی نوغانی و همکاران (۱۳۹۳) نیز تاییدکننده کاهش پذیرش و مقبولیت حسی محصول با افزایش میزان آنزیم و کازئینات سدیم بود، ولی در یافته‌های سانلی و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر معنی‌داری در ارزیابی حسی نمونه‌ها مشاهده نشد.

رابطه (٤) $\text{پذیرش کلی} = ۱/۳۷۹ + ۰/۷٤۳X_1 + ۵/۸۲۷X_2 - ۰/٦٤۰X_1.X_2 - ۳/۰۸۷X_2^2$

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- میانگین نتایج ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و حسی دوغ‌های تهیه شده با استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم

Table 4- Average result of physicochemical and sensorial properties of prepared Doogh using transglutaminase enzyme and sodium caseinate

Treatment	Microbial transglutaminase (unit/g protein)	Sodium caseinate (%)	Acidity (Dornic degree)	Phase separation (%)	Apparent viscosity (cP)	Overall acceptability
1	2.5	0.5	49	2.30	25	4.61
2	2.5	0	49	2.70	19	2.55
3	2.5	0.5	49	2.35	25	4.16
4	0	0	50	2.95	6	1.55
5	5	1	47	2.10	30	3.5
6	0	1	49	2.55	26	4.25
7	2.5	0.5	49	2.33	25	4.44
8	2.5	0.5	48	2.35	26	4.22
9	2.5	1	49	2.25	29	3.77
10	5	0.5	47	2.20	28	4.25
11	5	0	47	2.45	26	4
12	2.5	0.5	49	2.35	27	4.5
13	0	0.5	49	2.65	12	3.22

بهینه‌سازی و تأئید آماری مدل‌های رگرسیونی

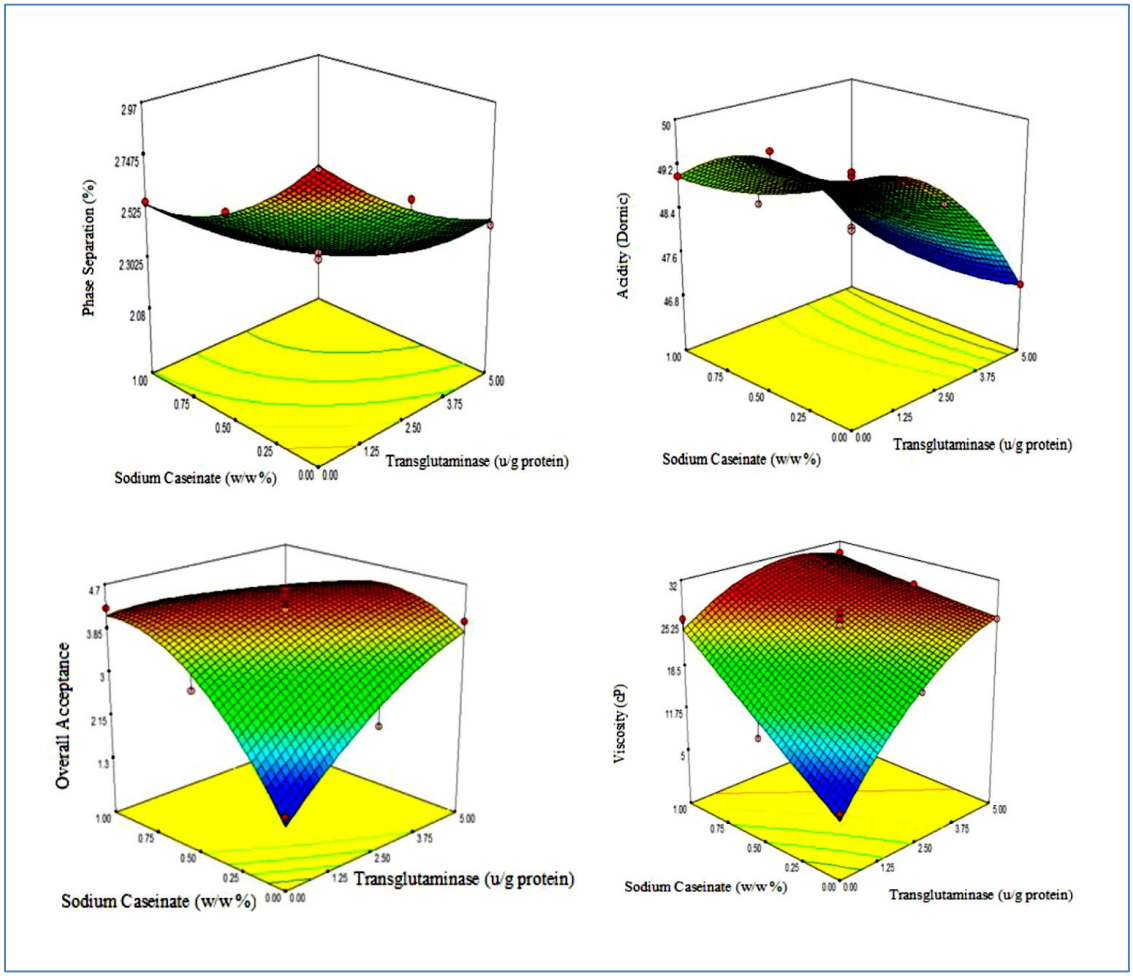
به منظور بهینه‌سازی فرمولاسیون دوغ، حد بالا، پایین و مطلوب هر یک از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده (پاسخ‌ها) و اهمیت آن‌ها تعیین شد. حدود تعیین برای پاسخ‌های مختلف و ویژگی‌های نمونه بهینه انتخاب شده دارای بالاترین مطلوبیت در جدول ۵ ارائه شده است. تیمار پیشنهادی با شرایط یکسان همانند سایر تیمارها تولید و نتایج پیش‌گویی شده توسط مدل مقایسه گردید. نتایج حاصل از بهینه‌سازی نشان داد که با به کارگیری مقدار مناسب آنزیم ترانس گلوتامیناز (٤/٣٠ واحد به ازاء هر گرم پروتئین) و کازئینات سدیم (۰/۷۱ درصد) می‌توان دوغ با ویژگی‌های مطلوب از نظر پذیرش کلی (٤/٦١)، دوفازه شدن (۲/۱۰درصد)، ویسکوزیته (۳۰ سانتی پوآز) و اسیدیته (٤٧ درجه دورنیک) تولید نمود. نتایج حاصل از ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی نمونه‌های دوغ (نمونه شاهد، نمونه بهینه) در جدول ٦ نشان داده شده است.

در یک سیستم کلوئیدی، اختلاف پتانسیل بین لایه‌ی یونی غیر متحرک (لایه استرن) و لایه متحرک (لایه انتشار) در اتمسفر یونی اطراف ذرات باردار، پتانسیل زتا نامیده می‌شود. پتانسیل زتا بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطح ذرات است چون نشان‌دهنده‌ی میزان تجمع بار در لایه‌ی غیرمتحرک و شدت جذب یون‌های مخالف بر روی سطح ذره است بنابراین بار ذرات، اغلب بر حسب پتانسیل زتا گزارش می‌شوند. بالا بودن پتانسیل زتای ذرات کلوئیدی موجب بالا رفتن نیروی دافعه الکترواستاتیک و در نتیجه افزایش پایداری فیزیکی سیستم می‌شود. عوامل مختلفی از جمله pH، قدرت یونی، نوع و غلظت ماکرومولکول‌های پلی-ساکاریدی و پروتئینی مورد استفاده، نسبت بین آن‌ها و... بر روی میزان بار سطحی، تحرک الکتروفورتیک و پتانسیل زتای کمپلکس حاضر موثر است (خوش منظر و همکاران ۱۳۹۱). مقادیر پتانسیل زتای نمونه‌های دوغ پایدار شده با آنزیم ترانس گلوتامینار و کازئینات سدیم (جدول ٦) نشان داد نمونه شاهد (فاقد ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم) دارای پتانسیل زتای مثبت بوده است. هم‌چنین، مشاهده شد که برخلاف نمونه شاهد، نمونه حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم پتانسیل زتای منفی داشت. اندازه ذرات بر بسیاری از خواص امولسیون مانند جدایی فاز، پایداری در طی نگهداری، مقاومت به رویه بستن، خصوصیات ظاهری، گرانروی، ویژگی‌های حسی و غیره تأثیر بسیاری دارد. با افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

نسبت پروتئین، اندازه ذرات کاهش می‌یابد (جورادو و همکاران ۲۰۰۷). دلیل این امر حضور نسبت بیشتر پروتئین است که به دلیل برخورداری از فعالیت سطحی بیشتر و نیز شکل کروی و کوچکتر باعث کاهش اندازه ذرات می‌گردد. برای اهداف کاربردی در صنایع غذایی- دارویی، هر چقدر اندازه ذرات، کمپلکس تشکیل شده کوچکتر باشد و در محدوده‌ی مقیاس نانو قرار گیرد، بهتر است چون با کاهش اندازه ذرات، نسبت سطح به حجم، دسترسی زیستی، پایداری کلوئیدی و شفافیت محلول‌های حاوی ذرات افزایش می‌یابد (خوش منظر و همکاران ۱۳۹۱). همان‌طور که در نتایج به‌دست آمده مشاهده می‌شود نمونه بهینه تولید شده با آنزیم و کازئینات سدیم اندازه ذرات کوچکتر نسبت به نمونه شاهد (بدون آنزیم و کازئینات سدیم) دارد. دلیل این امر حضور بیشتر پروتئین (کازئینات سدیم) است که به علت برخورداری از فعالیت سطحی بیشتر و نیز شکل کروی و کوچکتر باعث کاهش اندازه ذرات می‌گردد (علی پور و همکاران ۱۳۹٤). کوچکتر بودن اندازه ذرات نیز باعث افزایش جذب آب و کاهش دو فازه شدن می‌شود. هم-چنین با توجه به پتانسیل زتا در نمونه بهینه احتمال تجمع ذرات پروتئین به هم کاهش می‌یابد و اندازه ذرات کوچکتر می‌شود.



شکل ۱- نمودارهای رویه سه بعدی برهم‌کنش سطوح مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر میزان اسیدیته، دوفازه شدن، ویسکوزیته ظاهری و پذیرش کلی دوغ

Figure 1- Response surface plots for interaction effects of different levels of transglutaminase enzyme and sodium caseinate on acidity, phase separation, apparent viscosity and overall acceptability of Doogh

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- داده‌های مورد استفاده برای بهینه‌سازی مقدار آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر مبنای پاسخ‌های بدست آمده

Table 5- Data used to optimization of transglutaminase enzyme and sodium caseinate content based on obtained response

Factors	Goal	Lower limit	Upper limit	Importance	Optimized value
transglutaminase (unit/g protein)	In range	0	5	3	4.30
Sodium caseinate (%)	In range	0	1	3	0.71
Phase separation (%)	Minimize	2.1	2.95	3	2.15
Apparent viscosity (cP)	Maximise	6	30	3	29.10
Acidity (Dornic degree)	In range	47	50	3	47.60
Overall acceptability	Maximise	1.55	4.61	3	4.25
Desirability					0.928

جدول ۶- مقایسه خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی و حسی نمونه تهیه شده با مقدار بهینه آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و کازئینات سدیم با نمونه شاهد

Table 6- Comparison of physicochemical and sensorial properties of sample made by optimized content of transglutaminase enzyme and sodium caseinate with control ones

Factors	Control sample	Optimized sample
Phase separation (%)	2.95^{b}	2.15^{a}
Apparent viscosity (cP)	6.0139^{b}	29.10^{a}
Acidity (Dornic degree)	50^{a}	47.6^{a}
Overall acceptability	1.55^{b}	4.25^{a}
Particle size (nm)	10.05^{b}	3.557^{a}
Zeta potential (mV)	11.4^{b}	-21.2^{a}

Values are means of three replications

Different letters in the same raw indicate significant differences ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه برای بهبود ویژگی‌های کیفی و پایداری دوغ طی مدت نگهداری از کازئینات سدیم و آنزیم ترانس گلوتامیناز استفاده شد. نتایج نشان داد افزودن غلظت‌های مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر میزان pH، اسیدیته، ویسکوزیته، دوفازه شدن و ویژگی‌های حسی نمونه‌های دوغ موثر بود و با افزودن ۰/۷۱ درصد کازئینات سدیم و۴/۳۰ واحد بر گرم پروتئین آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی امکان تولید دوغ صنعتی با ویسکوزیته مطلوب، دوفازه شدن حداقل و مقبولیت حسی بالا وجود دارد. افزودن ترانس گلوتامیناز وکازئینات سدیم با کاهش اندازه ذرات و پتانسیل زتا باعث افزایش پایداری دوغ فرموله شده طی مدت نگهداری گردید.

منابع مورد استفاده

بی نام، ۱۳۸۵. استاندارد ملی ایران شماره۲۸۵۲، شیر و فراورده های آن- تعیین اسیدیته و pH، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی.

بی نام، ۱۳۹۳. استاندارد ملی ایران شماره ٦٣٧، تعیین ماده خشک شیر،موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی.

آذری کیا ف، عباسی س و عزیزی م، ۱۳۸۷. بررسی کارایی و سازوکار برخی ترکیبات هیدروکلوئیدی در جلوگیری از دو فاز شدن دوغ، مجله علوم تغذیه و تکنولوژی مواد غذایی، ٤، ۲۲-۱۱.

www.SID.ir

Archive of SID

باقری ص و دستغیب بهشتی م، ۱۳۹۳. بررسی تاثیر افزودن تکی و ترکیبی صمغ ثعلب و پکتین در پایدارسازی دوغ، بیست و دومین کنگره ملی علوم وصنایع غذایی گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۵-۱.

پورمحمدی ک، اعلمی م و عقدایی س، ۱۳۸۸. آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی و کاربرد آن در صنایع غذایی، همایش منطقه‌ای غذا و بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، ٤-۱.

جمالی فر ح، شاهوردی ا، صمدی ن و فاضلی م، ۱۳۸۸. بقا اشرشیاکلی در دوغ های صنعتی، سنتی و دوغ پروبیوتیکی حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، مجله علمی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی، ۲، ۲۹-۲۵.

حسینی اقدم س، دزیانی م، عزتی ر، اردکانی ع، دانشیم، لاری پور هرات ر و بهادری منفرد الف، ۱۳۹۱. تاثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی بر خصوصیات بافتی و حسی پنیر فرا پالایش، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۵، ٤٨١-٤٨٧.

خوش منظر م، قنبرزاده ب، همیشه کار ح، صوتی خیابانی م و رضایی مکرم ر، ۱۳۹۱. بررسی عوامل موثر بر اندازه ذرات، پتانسیل زتا و ویژگی‌های رئولوژیک پایا در سامانه‌ی کلوئیدی حاوی نانو ذرات کاپا کاراگینان- کازئینات سدیم، نشریه‌ی پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی،٤(۱)، ۲۷۲-۲۵۵.

زمردی ش و کیانفر ل، ۱۳۹۸. تاثیر شربت کامبوجا بر زنده مانی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و خواص کیفی دوغ، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹(۳)، ۹۷-۸۵.

فدایی نوغانی و، مفیدی الف و زارعی م، ۱۳۹۳. اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی به عنوان بخشی از کنسانتره پروتئین شیر بر ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی و حسی ماست اسفناج، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۳، ۱۰۰-۹۳.

فروغی نیا س، عباسی س و حمیدی ز، ۱۳۸۷. بررسی تأثیر هم زدن و همگن سازی روی میزان دو فازه شدن دوغ، نشریه علمی فراوری و نگهداری مواد غذایی، ۳ (۱)، ۱۰۰-۸۳.

کارآموز ن، محمدی ثانی ع و رشیدی ح، ۱۳۹۵. تاثیر افزودن هیدروکلوئیدهای ژلان، کتیرا و پکتین با متوکسیل بالا در پایدارسازی دوغ، فصلنامه علوم و صنایع غذایی،۵۲ (۱۳)، ۹۹-۹۱.

گرجیان ه و رفتنی امیری ز، ۱۳۹۸. تاثیر موسیلاژ دانه شاهی بر پایداری و خواص رئولوژیکی دوغ بدون چربی، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹(۳)، ۱۵٦-۱٤٥.

مویدزاده س، خسروشاهی اصل الف و زمردی ش، ۱۳۹۱. تاثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی در خواص کیفی ماست پروبیوتیک غنی شده با کازئینات سدیم، نشریه نوع آوری در علوم و فن آوری غذایی، ۳، ۹٦-۸۹.

علی پور آ، کوچکی آ، کدخدایی ر و وریدی م، ۱۳۹٤. بررسی اثر مخلوط صمغ قدومه شیرازی- پروتئین آب پنیر تغلیظ شده بر پایداری امولسیون روغن ذرت در آب، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ٤٨(۱۲)، ۱۷٤-۱٦۳.

Abd-Rabo F, El-Dieb S, Abd-El-Fattah AM and Sakr SS, 2010. Natural state changes of cows and buffaloes milk proteins induced by microbial transglutaminase. Journal of American Science 6: 612-620.

Akalin AS, Unal G, Dinkci N and Hayaloglut AA, 2012.Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yoghurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. American Dairy Science Association 95: 3617-3628.

Ardelean AL, Otto C, Jaros D and Rohm H, 2012.Transglutaminase treatment to improve physical properties of acid gels from enriched goat milk. Innovative Food Science and Emerging Technologies 106: 47-53.

Aziznia S, Khosrowshahi A, Madadlou A and Rahimi J, 2008. Whey protein concentrates and gum tragacanth as fat replacers in non-fat yoghurt: chemical, physical, and microstructural properties. Journal of Dairy Science 91: 2545-2552.

www.SID.ir

Archive of SID

Barbaros O, Christopher G and Ulrich K, 2012. Simultaneous use of transglutaminase and rennet in milk coagulation: Effect of initial milk pH and renneting temperature. International Dairy Journal 24(1): 1-7.

Doris J, Mandy J, Clemens O and Harald M, 2010. Excessive cross- linking of caseins by microbial transglutaminase and its impact on physical properties of acidified milk gels. International Dairy Journal 20: 321-327.

Gauchi C, Tomazi T and Ogliari PG, 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. Food Science and Technology 42:239–243.

Goudarzi MA, Madadlou ME, Mousavi A and Emam-Djomeh Z, 2012. Optimized preparation of ACE-inhibitory and antioxidative whey protein hydrolysate using response surface method. Dairy Science and Technology 92: 641-653.

Jaros D, HeidingC and Rohm H, 2007. Enzymatic modification through microbial transglutaminase enhances the viscosity of stirred yogurt. Journal of Texture Studies 37:179-189.

Joudaki H, Mousavi M, Safari M, Razavi H, Emam-Djomeh Z and Gharibzahedi MT, 2013. Scrutinizing the different pectin types on stability of an Iranian traditional drink “Doogh”. International Journal of Biological

Macromolecules 60: 375-382.

Jurado E, Bravo V, Camacho F, Vicaria J-M and Fernandez- Arteaga A, 2007. Estimation of the distribution of droplet size, international area and volume in emulsions. Journal of Colloids and Surfaces 295: 91-98.

Kiani H, Mousavi ME, Razavi H and Morris ER, 2010. Effect of gellan, alone and in combination with high- methoxy pectin, on the structure and stability of Doogh, a yoghurt-based Iranian drink. Food Hydrocolloids 24: 744-754.

KuraishiC, Yamazaki K and Susa Y, 2001. Transglutaminase: its utilization in the food industry. Food Review International 17: 221-246.

Lorenzen P Chr, Neve H, Mautnerland 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.

Miwa N, Ykoyama K, Wakabashi H and Nio N, 2010. Effect of deamidation by protein-glutaminase on physicochemical and functional properties of skim milk. International Dairy Journal 20(6): 393-399.

Nilsson L, Lyck S and Tamime AY, 2006. Production of drinking products, in fermented milks. Blackwell Publishing, Oxford. Chapter 5.

Ozrnek E, 2006. The use of transglutaminase in dairy products, International Journal of Dairy Technology 59(1).1-7.

Priscilla NR, Burin VM and Bordignon-Luiz M, 2012. Effect of microbial transglutaminase on functional and rheological properties of ice cream with different fat contents. Food Science and Technology 48: 224-230.

Rodriguez-Nogales JM, 2006. Effect of preheat treatment on the transglutaminase-catalyzed cross-linking of goat milk proteins. Process Biochemistry 41:430-437.

Sanli T, SezginE, 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.

Sodini I, Montella J and Tong PS, 2005. Physical properties of yoghurt fortified with various commercial whey protein concentrates. Journal of the Science of Food and Agriculture 85: 853- 859.

Tsevdou M, Eleftheriou E and Taoukis P, 2013. Ttransglutaminase 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.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Food Researches/vol.30 No.1/ 2020/pp 1-14
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

Optimization of doogh production contains transglutaminase and sodium caseinate

V Barin[1] and L Roufegarinejad[2]*

Received: May 13, 2017 Accepted: December 26, 2017
[1]Graduated MSc Student, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran
[2]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran
*Corresponding Author: l.roufegari@iaut.ac.ir

Introduction: "Doogh" is a native beverage in Iran and has in important share in beverage industry (Zomorodi and Kianfar 2018). It can be made by yoghurt dilution or direct acidification of milk. Traditionally, doogh is made by mixing yogurt, water, and a little salt as well as some aqueous extracts of local herbs. However, Doogh, like other acidic dairy beverages has a serious problem because of its low pH, which causes phase separation, and leads to casein accumulation and gives a product with an undesirable, non-uniform appearance (Sanli et al., 2011). On the other hand, heat treatments such as pasteurization have a key importance in the production of dairy products because this is a common step in the processing of milk products. The heat treatment exposes reactive groups on the protein, which were previously inaccessible, and this, in turn, affects the rheological properties of the products (Joudaki et al., 2013). It has been reported that polysaccharide hydrocolloids addition could be prevent phase separation in doogh during storage. But creation undesirable taste in the higher concentration is a seriouse problem (Tsevdou et al., 2013). The enhancement of food texture with enzymes has gained increasing importance as an alternative to conventional processing strategies for protein containing foods. Microbial transglutaminase or glutaminyl-peptide-amine γ-glutamyl transferase (mTGase, EC 2.3.2.13) is a calcium independent enzyme. It forms covalent crosslinks of inter- or intra-molecular ε-(γ-glutamine)-lysine isopeptidic bonds by catalyzing an acyl transfer reaction between a γ-carboxyamide group in protein-bound glutamine residues (acyl donor) and an ε-amino group in a protein-bound lysine residue (acyl acceptor) (Lorenzen et al., 2002). Microbial transglutaminase represents an interesting tool for texture modification of protein-containing foods. Since 1998, this enzyme with "No. GRN 000095" was approved by the FDA as "Generally Recognized as Safe (GRAS)" and there are confirmed documents for MTGase in the US, Japan and Europe as a safe ingredient in different types of processed foods (Ardelean et al., 2012). Acid gels, such as yogurt, made from enzyme-treated milk are characterized by reduced syneresis and improved viscosity. In this study, effect of sodium caseinate on functionality of transglutaminase was assayed too. Concerning milk proteins, casein monomers can be easily cross-linked by mTGase, whereas whey proteins only polymerize after heat treatment or in the presence of reducing agents. The literature on mTGase-induced cross-linking on casein micelles, caseins or caseinates, whey proteins or milk, has been reviewed recently (Barbaros et al., 2012). The aim of this study was to investigate the effect of transglutaminase enzyme and sodium caseinate to improve quality and stability characteristics of Doogh.

Material and methods: This study was carried out to improve the quality and stability properties of Doogh using sodium caseinate (at 0, 0.5 and 1%) and microbial transglutaminase (at 0, 5, 10 u/g protein). For this purpose, after pasteurization and homogenization of raw milk (0.6 % fat), sodium caseinate and microbial transglutaminase added at 45 and 50°C, respectively. Heating of treated

www.SID.ir

Archive of SID

milk was performed after 2 h (72^{o}C- 15 s) to inactive enzyme. Fermentation was carried out by adding starter culture (yogurt starter culture consist of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophiles*) and incubation was performed at 42^{o}C until 12 h. Finally, prepared yogurt mixed with potable water at 1:1 ratio and 0.65% salt added to mixture. The pasteurized treated samples were assayed for physicochemical and sensory properties. Acidity was measured through titration with sodium hydroxide as Dornic degree and viscosity was assayed at ambient temperature by a rotational Brokfield viscometer. Phase separation of the different formulations was carried out in 250 mL glass tubes for 30 days at 5 ^{o}C storage. Evaluation of the sensory attributes of the produced Dooghs with various formulations in terms of taste, consistency, appearance, smell and color was carried out by 30 untrained panelists and the average of scores as overall acceptability were used for statistical analyses. In the second phase, based on the obtained results, optimized sample was selected using response surface methodology in central composite design and particle size distribution (determined by dynamic light scattering) and zeta potential tests were measured.

Results and discussion: The results showed that the use of transglutaminase increased significantly effect on acidity, while the effect of sodium caseinate was not significant. Transglutaminase and sodium caseinate had a significantly increase effect on sensory properties and viscosity, while phase separation decreased significantly. Optimization of formula was performed based on tranglutaminase, sodium caseinate and acidity in range, phase separation in minimize, apparent viscosity and overall acceptability in maximize. The importance of all of factors was selected the same. And optimum content of transglutaminase and sodium caseinate to have high stability product were calculated 4.30U/g Protein and 0.71% respectively through optimization with desirability 0.928. In optimum situation phase separation and apparent viscosity were obtained 2.15% and 29.10 cP, respectively. Optimum overall acceptability was acquired 4.25. Comparison of optimum and control samples showed that the optimum sample had higher viscosity (6.01 cP in control and 29.10 cP in optimized sample) and overall acceptability (1.55 in control and 4.25 in optimized sample) with at least phase separation (2.95% in control and 2.15% in optimized sample). Applying transglutaminase and sodium caseinate also reduced particle size (10.05 nm in control and 3.55 nm in optimized sample) and zeta potential (11.4 mV in control and -21.2 mV nm in optimized sample).

Conclusion: Generally, according to the obtained results, it can be said that applying MTG and sodium caseinate, is possible to produce the stable Doogh with desired properties in terms of physicochemical and sensory properties and long storage duration.

Key words: Doogh, Response Surface Methodology, Sodium Caseinate, Transglutaminase

www.SID.ir