

بررسی تأثیر تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز در شیر بر خواص فیزیکی پودر شیر کم چرب

حسین جوینده^{۱*}، حمیده نامور^۲، مهرداد نیا کوثری^۳، محمد حجتی^۴

۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شیراز

۴- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۸/۱۸)

چکیده

تبدیل شیر از حالت مایع به پودر قابلیت نگهداری آن را افزایش می‌دهد بطوری‌که می‌توان پودر شیر را حتی در دمای محیط برای مدت حدود یک سال بدون کاهش قابل توجه کیفیت فراورده نگهداری نمود. انواع پودرهای شیر با توجه به کیفیتشان، کاربردهای خاصی در تولید مواد غذایی دارند. با ارتقاء ویژگی‌های کیفی پودرهای شیر، تولیدکنندگان قادر به تولید مواد غذایی با خواص عملگرایی و کیفیت بالاتر می‌باشند. آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی (MTGase) از طریق اتصالات درون و برون مولکولی میان پروتئین‌ها، پپتیدها و انواع آمین‌های اولیه قادر به اصلاح ویژگی‌های ساختاری مواد غذایی حاوی پروتئین می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تیمار آنزیمی MTGase شیر کم چرب (۱/۵ درصد چربی) بر میزان جریان‌پذیری پودر حاصل بود. در این پژوهش ۵ سطح غلظت آنزیم (۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲ درصد) در سه شرایط دمایی مختلف (۳۵°C به مدت ۸ ساعت، ۴۰°C به مدت ۴ ساعت و ۴۵°C به مدت ۲ ساعت) به کار گرفته شد. نتایج نشان داد تیمار شیر با آنزیم سبب کاهش دانسیته توده و دانسیته ضربه‌ای گردید و مقدار پیوستگی و تراکم‌پذیری پودر کاهش یافت. این شرایط سبب شد تا قابلیت جریان پودر بهبود یابد و کیفیت پودر تولید شده با کمک آنزیم افزایش یابد. براساس نتایج آنالیز داده‌ها، بهترین قابلیت جریان پودر با توجه به پایینترین مقادیر پیوستگی و تراکم‌پذیری محصول هنگام تیمار آنزیمی شیر در غلظت ۰/۰۲٪ آنزیم و دمای ۴۵°C به دست آمد.

کلید واژگان: آنزیم ترانس گلوتامیناز، پودر شیر، ویژگی‌های فیزیکی، جریان‌پذیری

* مسئول مکاتبات: hosjooy@yahoo.com

۱- مقدمه

محصولات شیر خشک، شاخه مهمی از فراورده‌های تولیدی در صنعت لبنیات می‌باشد. شیر جهت نگهداری، کنترل و انتقال راحتتر خشک می‌شود. تعیین خصوصیات فیزیکی پودرهای شیر بسیار حائز اهمیت است زیرا این ویژگی‌ها رفتار پودرها را در طول نگهداری، انتقال و فرآوری تعیین می‌کند [۱]. فرایند خشک کردن پاششی شامل پاشیدن شیر به شکل قطرات بسیار ریز در یک جریان هوای داغ می‌باشد که به تدریج آب از این ذرات تبخیر می‌شود [۲]. پودرهای لبنی خشک شده به روش پاششی، جزء متداول ترکیبات تشکیل‌دهنده بسیاری از مواد غذایی بویژه محصولات لبنی می‌باشند [۳]. پودرهای شیر با توجه به کیفیت آن‌ها، کاربردهای خاصی در تولید مواد غذایی گوناگون دارند. در هر حال، غذاهای تهیه شده از اجزاء ترکیبی پودر شده معمولاً کیفیت پایین‌تری نسبت به شکل تازه یا منجمد شده آن دارند [۴ و ۵]. بنابراین با ارتقاء ویژگی‌های کیفی پودرهای شیر، تولیدکنندگان قادر به تولید مواد غذایی با ارزش تغذیه‌ای و عملکردی بالاتر می‌باشند.

مهمترین ویژگی‌های کیفی پودرها شامل ساختار و شکل پودر، توزیع اندازه، دانسیته توده، سیالیت، قابلیت جذب آب (میزان خیس شدن، پراکندگی و شاخص انحلال‌ناپذیری)، پایداری گرمایی، ویژگی امولسیفایری، دمای انتقال شیشه‌ای (T_g^1)، فعالیت آبی، پیوستگی، چسبندگی، تراکم‌پذیری، کلوخه‌ای شدن و نسبت پودر سوخته شده می‌باشد. چسبندگی و تشکیل یک پودرهای لبنی از جمله مشکلات مهم شناخته شده در این محصولاتند [۶]. پودرهای شیر کلوخه شده به زمان و همزدن بیشتری برای حل شدن نیاز دارند [۷]. در حین فرایند تولید و بسته‌بندی، رفتار و ویژگی پودر بستگی به میزان جریان‌پذیری و قابلیت فشرده‌گی ذرات دارد [۴]. همچنین، کیفیت محصول بسته‌بندی شده در مدت نگهداری بسیار حائز اهمیت است. به همین دلیل، دانسیته ضربه‌ای پودر جهت شرح دادن رفتار آن در طول فشرده شدن تعیین می‌شود [۸]. با تولید پودر دارای ذرات بزرگتر یا آگلومره شده و کاهش دانسیته توده و ضربه‌ای، قابلیت جریان پودر بهبود می‌یابد که علت آن کاهش سطح مساحت ذرات به ازاء واحد جرم آن‌هاست [۹]. دانسیته پودرهای تشکیل شده از ذرات درشتتر در حین نگهداری یا حمل و نقل کمتر دچار تغییر شده و کمتر به

یکدیگر می‌چسبند. بنابراین در این حالت حجم پودر بسته‌بندی شده درون بسته کمتر دستخوش تغییر می‌شود و کیفیت ظاهری محصول بهتر حفظ می‌شود [۱۰]. به عبارت دیگر، قابلیت پخش‌پذیری پودر با کاهش نسبت ذرات ریز ($90 \mu m <$) یا کاهش دانسیته توده افزایش می‌یابد [۱۱]. به کارگیری آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی ($MTGase^2$) و توانایی آن در اصلاح ویژگی‌های ساختاری غذاهای حاوی پروتئین، یکی از فرایندهای پراهمیت تکنولوژی آنزیم در صنعت غذا در دهه اخیر بوده است. در این میان، استفاده از آنزیم در صنایع لبنی جهت اتصال پروتئین‌ها به منظور اصلاح ویژگی‌های عملکردی محصول همانند افزایش حلالیت، توانایی جذب آب، بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی و امولسیفایری و همچنین پایداری گرمایی مورد توجه بیشتری قرار گرفته است [۱۲]. امروزه تولیدکننده‌ها می‌توانند پودر شیر را به عنوان یک جز عملگر با طیف وسیعی از غذاها مثل شکلات، محصولات نانوائی، نوشیدنی‌ها، شیرینی‌ها و فراورده‌های لبنی اضافه کنند [۴].

آنزیم ترانس گلوتامیناز ($EC 2,3,2,13$)، یک آسیل ترانسفراز است که می‌تواند واکنش‌هایی مانند ایجاد اتصالات عرضی، انتقال آسیل و دامیداسیون را کاتالیز کند. هنگامی که اسید آمینه لیزین پذیرنده آسیل باشد، واکنش انتقال آسیل بین گروه γ - کربوکسی آمید اسید آمینه گلوتامین و گروه آمین نوع اول در اسید آمینه لیزین منجر به تشکیل پیوند عرضی گلوتامین-لیزین می‌شود [۱۳]. $MTGase$ در محدوده نسبتاً وسیعی از pH (۵-۸) پایدار بوده و pH بهینه برای فعالیت آن غالباً ۵/۵ گزارش شده است [۱۴ و ۱۵]. دمای بهینه برای فعالیت آنزیم در اکثر موارد ۴۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد، هرچند دمای مطلوب جهت فعالیت آنزیم استخراج شده از گونه‌های *Streptomyces* غالباً بیش از ۴۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد [۱۵]. این آنزیم در دمای صفر درجه سانتی‌گراد فعالیت خود را بخوبی حفظ می‌کند [۱۶]. به علاوه، آنزیم در مدت دو دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد غیر فعال می‌شود [۱۷]. ترانس-گلوتامیناز حاصل از کبد خوک وابسته به یون کلسیم می‌باشد، در حالی که ترانس گلوتامیناز میکروبی غیر وابسته به کلسیم می‌باشد. این ویژگی برای اصلاح پروتئین‌های غذایی مانند کازئین‌های شیر، گلوبولین دانه سویا، و میوزین که به کلسیم حساس هستند و به آسانی رسوب می‌کنند، مفید است [۱۶].

2. Microbial transglutaminase

1. Glass transition temperature

پذیرفته است، هدف این مطالعه تعیین مناسبترین شرایط دما- زمان تیمار آنزیمی و میزان غلظت آنزیم است به نحوی که بتوان پودر شیر خشک کم چرب با بهترین قابلیت جریان پذیری تولید نمود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

جهت تولید نمونه های پودر شیر از شیر پاستوریزه و هموژنیزه کم چرب (۱/۵٪ چربی) تولید شده در شرکت پگاه فارس استفاده گردید. از آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی (۱۳،۲۳،۲) EC) به دست آمده از استرپتوتورسیلیوم موبارینس^۱ با نام تجاری ACTIVA (شرکت آجینوموتو^۲، ژاپن) با میانگین فعالیت ۱۰۰ واحد به ازاء هر گرم آنزیم استفاده شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- روش تهیه پودر شیر

نمونه های پودر در آزمایشگاه خشکبار بخش علوم و صنایع غذایی دانشگاه شیراز تولید شدند. در ابتدا جهت غیرفعال کردن بازدارنده های آنزیم و دناتور کردن پروتئین‌ها، شیر پاستوریزه کم چرب در دمای ۸۵°C به مدت ۲ دقیقه حرارت داده شد [۱۷]. سپس شیر تا دمای مورد نظر جهت فعالیت آنزیم سرد شد. تیمار آنزیمی در سه شرایط دما و زمان متفاوت، با توجه به بررسی منابع مختلف و شرایط فعالیت بهینه پیشنهاد شده برای فعالیت آنزیم MTGase مطابق ذیل انجام پذیرفت:

۱- دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت [۳۶]؛

۲- دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت [۱۲] و

۳- دمای ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت [۳۷].

تیمار آنزیمی در ۵ سطح غلظت ۰/۰۰۵ ، ۰/۰۱ ، ۰/۰۱۵ ، ۰/۰۲ و ۰ درصد (نمونه شاهد) در شرایط دمایی فوق الذکر صورت پذیرفت. در نهایت فعالیت آنزیم توسط فرایند حرارتی ۸۵°C به مدت ۵ دقیقه متوقف گردید [۳۳]. سپس محصول توسط دستگاه خشک کن پاششی در مقیاس پابلوت (شرکت مهم صنعت، نیشابور، ایران) خشک گردید. این خشک کن با محفظه استوانه ای شکل به قطر ۱ متر و ارتفاع کل محفظه ۲

ترانس گلوتامیناز از طریق اتصالات عرضی برون و درون مولکولی قادر به بهبود ویژگی‌ها و افزایش قدرت زل‌های پروتئینی همانند پروتئین‌های سویا [۱۸]، شیر [۱۹ و ۲۰]، گوشت گاو [۲۱ و ۲۲]، گوشت مرغ [۲۳]، ژلاتین [۲۴] و ماهی [۲۵] می‌باشد.

کازئین، بخش اصلی پروتئین شیر، به علت ساختمان غیر کروی و باز خود، یک سوپسترای مناسب برای واکنش آنزیم MTGase می‌باشد [۲۶ و ۲۷]. در صورتی که پروتئین آب پنیر به علت ساختار کروی، تمایل کمتری به تشکیل اتصالات عرضی دارد [۲۸-۳۰]. هرچند با پیش تیمار حرارتی قبل از تیمار آنزیمی می‌توان اتصالات مابین پروتئین‌های سرمی بویژه بتالاکتوگلوبین را توسط آنزیم MTGase افزایش داد [۳۱]، اما اتصالات ایجاد شده قابل قیاس با اتصالات میان اجزاء کازئین نمی‌باشد [۳۲]. بنابراین آنزیم ترانس گلوتامیناز غالباً برای محصولات لبنی بر پایه کازئین کاربرد دارد [۱۷].

پژوهش‌های زیادی به استفاده از آنزیم MTGase در صنعت لبنیات پرداخته‌اند. Imm و همکاران [۳۳] در پژوهشی نشان دادند که ایجاد اتصالات عرضی در پروتئین‌های پودر شیر خشک به وسیله آنزیم MTGase، جذب آب و قدرت زل شیر خشک را بهتر می‌کند. Mizuno و همکاران [۳۴] دمای انتقال شیشه‌ای آلفا کازئین شیر تیمار شده با آنزیم ترانس- گلوتامیناز را مورد بررسی قرار دادند. این محققین نشان دادند که پلیمریزه کردن آلفاکازئین به واسطه اتصالات بین مولکولی ایجاد شده به وسیله آنزیم ترانس گلوتامیناز دمای انتقال شیشه‌ای کازئین را بالا برده و از تشکیل کیک/کلوخه‌ای شدن در پودر شیر جلوگیری می‌کند. بدین ترتیب استفاده از آنزیم می‌تواند خصوصیات فیزیکی پودرهای شیر را بهبود دهد. Modler و همکاران [۳۵] گزارش دادند که با به کارگیری آنزیم ترانس- گلوتامیناز در تولید پودر شیر کم چرب می‌توان کیفیت طعم و بافت ماست حاصل از آن را افزایش و مقدار سینریزس را کاهش داد.

تیمار آنزیمی شیر با MTGase احتمالاً می‌تواند از طریق افزایش اتصالات درون و برون مولکولی سبب افزایش اندازه ذرات پودر گردد و به این ترتیب می‌تواند ویژگی‌های کیفی پودر شیر خشک را بهبود بخشد. بنابراین، با توجه به این که تا کنون تحقیقی راجع به بررسی تأثیر تیمار آنزیمی MTGase شیر بر ویژگی‌های فیزیکی شیر خشک کم چرب صورت

1. *Streptovorticillium mobaraense*
2. Ajinomoto

طبقه‌بندی پیوستگی پودر براساس نسبت هاسنر بدین صورت است که اگر نسبت هاسنر پودر کمتر از ۱/۲ باشد، پیوستگی پودر پایین می‌باشد و در صورتی که بین ۱/۴-۱/۲ باشد، پیوستگی متوسط و بالاتر از ۱/۴، پیوستگی پودر بالاست و از قابلیت جریان‌پذیری پایینی برخوردار است [۴۱]. هرچه نسبت ذرات ریز به درشتتر افزایش یابد، پیوستگی پودر بیشتر می‌گردد. دانسیته پودری که پیوستگی کمی دارد یا از ذرات درشتتری^۵ تشکیل شده است پایین است و به سختی به وسیله فشرده شدن، افزایش می‌یابد.

۲-۲-۲-۲-۲-۲ شاخص تراکم‌پذیری

قابلیت جریان پودر از طریق اندازه‌گیری شاخص کار (CI^۶) ارزیابی شد. شاخص کار یا شاخص تراکم‌پذیری^۷ مطابق رابطه ذیل به دست آمد [۴۱].

$$CI = \frac{TD - BD}{TD} \times 100$$

شاخص کار نشان‌دهنده‌ی میزان جریان‌پذیری پودر است و هرچه مقدار آن مطابق جدول ۱ کمتر باشد میزان جریان‌پذیری پودر بیشتر است. هرچه اختلاف میان دانسیته توده و دانسیته ضربه‌ای بیشتر باشد، شاخص تراکم‌پذیری بالاتر و قابلیت جریان پودر کمتر خواهد بود.

Table 1 Classification of powder flowability base on Carr index [41]

Carr index (%)	Flowability
≤15	Excellent
15-20	Good
20-35	Acceptable
35-45	Fair
≥45	Poor

۲-۲-۲-۲-۲-۲ توزیع اندازه ذرات

برای تعیین توزیع اندازه ذرات از سیستم الک تایلور استفاده شد. این سیستم دارای ۶ الک با اندازه‌های متفاوت مش ۴۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۲۵ و ۵۰۰ (به ترتیب معادل ۴۲۰، ۱۵۰، ۱۰۶، ۷۵، ۴۵ و ۲۵ میکرومتر) می‌باشد. این الک‌ها روی دستگاه ارتعاش دهنده که سرعت آن قابل تنظیم می‌باشد، قرار می‌گیرند. ابتدا الک‌ها را وزن کرده و به میزان ۱۰۰ گرم پودر روی الک بالایی ریخته شد و سپس در اثر ارتعاش سیستم به مدت ۵ دقیقه، پودرها بر اساس اندازه جداسازی شدند. پس از

متر دارای اتمایزر چرخشی با قطر ۵cm و قابلیت چرخش توسط کمپرسور هوا است. در حین خشک کردن، دمای ورودی و خروجی هوا بنابر پیشنهاد Kulozik و Guyot [۱۷] به ترتیب در ۱۸۰ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. قبل از شروع خشک کردن و رسیدن دمای خشک کن به میزان ثابت مورد نظر، از آب مقطر به عنوان جریان خوراک ورودی به مدت ۱۰ دقیقه استفاده گردید. در تولید تمامی نمونه‌ها، دور اتمایزر، میزان جریان و دمای ورودی خوراک و فشار اتمایزر به ترتیب در ۱۸۰۰۰ rpm، ۱۰ ml/min، ۳۰°C و ۴ bar تنظیم گردید [۳۸]. در ادامه پودر شیر تولید شده بلافاصله در ظروف شیشه‌ای مات بسته بندی و تا زمان انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شد.

۲-۲-۲-۲-۲-۲ تعیین خصوصیات فیزیکی پودر

۲-۲-۲-۲-۲-۲ اندازه‌گیری رطوبت پودر

رطوبت پودر توسط آن مطابق روش پیشنهادی AOAC [۳۹] اندازه‌گیری گردید. حدود یک گرم نمونه پودر در پتری دیش (کاملأ خشک) وزن گردید و به مدت ۲-۳ ساعت در آن با دمای ۱۰۵±۲°C قرار داده شد. پس از رسیدن به وزنی ثابت، مقدار درصد رطوبت اندازه‌گیری شد.

۲-۲-۲-۲-۲-۲ تعیین دانسیته توده و ضربه‌ای

یک استوانه خالی مدرج ۱۰۰ml وزن گردید و با پودر شیر خشک تا نشانه ۱۰۰ml به آرامی پر و توزین گردید. سپس جرم پودر قرائت شده از ترازو بر حجم استوانه تقسیم شد تا دانسیته توده (BD^۱) به دست آید. پس از به دست آوردن دانسیته توده، به استوانه جهت فشرده شدن پودر به اندازه‌ای ضربه زده شد تا ارتفاع پودر داخل استوانه در نتیجه‌ی ضربه زدن ثابت باقی بماند [۴۰]. سپس حجم پودر خوانده شد و از تقسیم جرم بر حجم، دانسیته ضربه‌ای (TD^۲) محاسبه گردید.

۲-۲-۲-۲-۲-۲ اندازه‌گیری پیوستگی^۳ پودر

پیوستگی پودر با توجه به نسبت هاسنر (HR^۴) اندازه‌گیری شد. نسبت هاسنر از طریق دانسیته توده و دانسیته حاصل از ضربه مطابق رابطه ذیل محاسبه شد [۴۱].

$$HR = \frac{TD}{BD}$$

1. Bulk density
2. Tapped density
3. Cohesiveness
4. Hausner ratio

5. Coarse particles
6. Carr index
7. Compressibility index

۲). نمونه حاوی ۰/۱۵ درصد آنزیم و نمونه شاهد (فاقد آنزیم) به ترتیب با ۲/۶۵۶٪ و ۲/۱۰۸٪ دارای بیشترین و کمترین مقدار رطوبت بودند. علت تأثیر متفاوت آنزیم در غلظتهای مختلف آن بر میزان رطوبت نمونههای شیر خشک را می توان با توجه به اثر دوگانه آنزیم توضیح داد. در غلظتهای پایین آنزیم، با افزایش اتصالات کواوالانسی میان پروتئینهای سرمی بویژه بتالاکتوگلوبین با میسل کازئین توسط آنزیم، ظرفیت نگهداری آب (WHC^۱) مولکولهای کازئین افزایش می یابد و شبکه یکنواختی هنگام تشکیل ژل ایجاد می گردد [۱۲ و ۵۰]. بنابراین میسلها پس از فرایند خشک شدن دارای رطوبت بیشتری می باشند. اما با افزایش بیشتر غلظت آنزیم، به دلیل تشدید اتصالات درون و برون مولکولی و بویژه ایجاد اتصالات عرضی بیش از حد میان میسل های کازئین، پلیمرهای کازئین شکل می گیرند و به این ترتیب آب بیشتری از میسلها بویژه هنگام حرارت دهی جدا می گردد [۳۰، ۳۳، ۴۲ و ۵۱]. در نتیجه پودر نهایی حاوی مقدار رطوبت پایتتری در مقایسه با به کارگیری سطوح پایتتر غلظت آنزیم خواهد بود. در این شرایط، شبکه پروتئینی غیرمنظم تری در هنگام تشکیل ژل از چنین پودرهایی شکل می گیرد [۲۶]. کاهش رطوبت و WHC هنگام استفاده بیش از حد آنزیم در سایر محصولات پروتئینی همانند پنیر سفید فراپالوده ایرانی [۵۲]، فیلمهای پروتئینی [۵۳] و فراوردههای حاوی گلوتن [۵۴] نیز مشاهده شده است. البته باید به این نکته توجه نمود که افزایش مقدار رطوبت به دلیل تیمار آنزیمی MTGase را می توان به شکل گیری پلیمرهای کازئین و افزایش اندازه ذرات پودر نیز نسبت داد چراکه در این حالت خروج آب از این ذرات در مرحله نهایی خشک کردن سختتر می گردد. بطور کلی، رطوبت طی دو مرحله از روی قطرات تبخیر می گردد. در مرحله اول، رطوبت کافی روی قطره برای جایگزینی مایع تبخیر شده از سطح وجود دارد و تبخیر با یک سرعت نسبتاً ثابتی صورت می گیرد. مرحله دوم زمانی آغاز می شود که دیگر رطوبت به اندازه کافی در سطح قطره برای حفظ شرایط اشباع وجود ندارد و باعث تشکیل پوسته خشک در سطح می گردد. در این مرحله، تبخیر بستگی به انتشار رطوبت از طریق پوسته، که ضخامت آن رو به افزایش است، دارد [۱۰].

جداسازی، هر یک از الکها به همراه پودر وزن شدند. سرانجام وزن پودر باقیمانده روی هر الک ثبت و به صورت درصد بیان شد [۴۲].

۲-۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

باتوجه به دو متغیر میزان آنزیم (۵ سطح) و تلفیق دما-زمان (۳ سطح) جهت تیمار آنزیمی، در مجموع تعداد ۱۵ تیمار (در ۳ تکرار) تولید گردید. تجزیه و تحلیل نتایج در قالب طرح فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹ انجام شد. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت. نمودارها نیز با بهره گیری از نرم افزار Exel ترسیم و گزارش شدند.

۳- نتایج و بحث

جداول ۲ و ۳ نتایج تجزیه واریانس تأثیر مقدار آنزیم و شرایط تلفیق دما-زمان تیمار آنزیمی MTGase بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونههای شیرخشک را نشان می دهد. همانطور که می توان مشاهده نمود، متغیرهای مورد آزمایش سبب تغییر معنی داری در اکثر پارامترهای فیزیکوشیمیایی نمونههای شیرخشک شده است که در ادامه تأثیر متغیرهای مذکور بر ویژگیهای پودر بررسی می گردد.

۳-۱- رطوبت

رطوبت بر میزان سیالیت، دانسیته توده، آگلومره شدن و بسته بندی ذرات پودر اثرگذار است [۴۳]. محتوای رطوبتی، کیفیت نگهداری پودر را تحت تأثیر قرار می دهد.

نتایج نشان داد تیمار آنزیمی MTGase سبب افزایش معنی دار رطوبت پودر می گردد (جدول ۲). تأثیر تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز بر افزایش مقدار رطوبت و WHC محصول علاوه بر فراورده های لبنی نظیر ماست [۴۴] و پنیر [۴۵]، در سایر مواد غذایی همانند فراورده های گوشتی از قبیل کباب [۴۶] و سوسیس [۴۷] و محصولات پخت نظیر نان [۴۸] و کیک [۴۹] نیز گزارش شده است. در هر حال همانگونه که در جدول ۲ می توان مشاهده نمود، با افزایش مقدار آنزیم تا غلظت ۰/۱۵ درصد، مقدار رطوبت پودر ابتدا بطور معنی داری ($P < 0/01$) افزایش می یافت اما با افزایش بیشتر مقدار آنزیم تا غلظت ۰/۰۲ درصد رطوبت نمونهها کاهش می یافت (جدول

1. Water holding capacity

نتایج نشان داد که تیمار آنزیم در شرایط گوناگون تلفیق دما- زمان تأثیر معنی داری بر مقدار رطوبت نمونه های پودر ندارد (جدول ۳). هرچند اثر متقابل معنی داری میان دو متغیر غلظت و دمای فعالیت آنزیم در این زمینه مشاهده شد که نشان دهنده ی تأثیر دمای فعالیت آنزیم ترانس گلوتامیناز در غلظت های متفاوت آن بر رطوبت پودر بود.

Table 2 Effect of transglutaminase enzyme concentration on physicochemical characteristics of low-fat milk powder

Characteristics	Enzyme concentration (%)				
	Control	0.005	0.01	0.015	0.02
Moisture (%)	2.108 ±0.405 ^b	2.180 ±0.406 ^b	2.617 ±0.336 ^a	2.656 ±0.215 ^a	2.191 ±0.346 ^b
Bulk density (g/cm ³)	0.321 ±0.021 ^{ab}	0.333 ±0.023 ^a	0.337 ±0.028 ^a	0.308 ±0.013 ^{bc}	0.297 ±0.022 ^c
Tapped density (g/cm ³)	0.398 ±0.051 ^{ab}	0.407 ±0.033 ^a	0.411 ±0.037 ^a	0.372 ±0.019 ^b	0.352 ±0.018 ^c
Hausner ratio	1.237 ±0.027 ^a	1.223 ±0.015 ^{ab}	1.217 ±0.019 ^b	1.207 ±0.029 ^{bc}	1.189 ±0.030 ^c
Carr index (%)	19.33 ±1.84 ^a	18.25 ±2.37 ^{ab}	17.70 ±2.39 ^{abc}	17.14 ±2.01 ^{bc}	15.88 ±2.33 ^c
Mesh 40	40.82 ±4.67 ^c	50.30 ±9.80 ^b	56.06 ±8.79 ^{ab}	59.14 ±6.33 ^{ab}	61.07 ±4.53 ^a
Mesh 100	46.85 ±6.34 ^a	41.18 ±3.61 ^{ab}	39.60 ±7.58 ^{bc}	37.24 ±6.71 ^c	37.01 ±5.37 ^c
Mesh 150	3.23 ±1.12 ^a	1.55 ±0.84 ^b	1.82 ±0.54 ^b	2.44 ±0.89 ^{ab}	1.55 ±0.91 ^b

Values with different letters within a row denote statistically significant differences (P<0.05).

Table 2 Effect of enzymatic treatment temperature on physicochemical characteristics of low-fat milk powder

Characteristics	Enzymatic treatment temperature		
	35°C	40°C	45°C
Moisture (%)	2.345 ±0.46 ^a	2.351 ±0.38 ^a	2.340 ±0.41 ^a
Bulk density (g/cm ³)	0.331 ±0.20 ^a	0.317 ±0.41 ^{ab}	0.309 ±0.21 ^b
Tapped density (g/cm ³)	0.405 ±0.030 ^a	0.388 ±0.067 ^{ab}	0.371 ±0.029 ^b
Hausner ratio	1.222 ±0.22 ^b	1.223 ±0.17 ^b	1.199 ±0.20 ^a
Carr index (%)	18.07 ±2.19 ^a	18.35 ±1.72 ^a	16.57 ±1.46 ^b
Mesh 40	45.05 ±9.34 ^b	51.80 ±8.74 ^{ab}	62.01 ±9.87 ^a
Mesh 100	51.31 ±9.19 ^a	45.68 ±13.48 ^{ab}	36.53 ±10.83 ^b
Mesh 150	2.95 ±1.38 ^a	1.45 ±0.79 ^b	1.10 ±0.82 ^b

Values with different letters within a row denote statistically significant differences (P<0.05).

ابتدا سبب افزایش رطوبت پنیر^۱ می گردد اما در غلظت های بالاتر آنزیم (۰/۰۲ درصد)، میزان رطوبت محصول کاهش می یابد. همچنین Imm و همکاران [۳۳] در پژوهشی ظرفیت نگهداری آب ژل حاصل از پودر تیمار شده با آنزیم را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که حداکثر ظرفیت نگهداری آب در ژل مربوط به پودر تیمار شده با آنزیم MTGase در غلظت های ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ آنزیم به دست می آید.

همانطور که در شکل ۱ می توان مشاهده نمود، پودرهای حاصل از تیمار شیر با ۰/۰۱٪ آنزیم در دمای ۳۵ و ۴۵°C، و ۰/۰۱۵٪ آنزیم در دمای ۴۰°C، بالاترین مقدار رطوبت را داشتند که این امر می تواند با بالا بودن توانایی پودر به نگهداری آب در این غلظت ها و همچنین درشت تر بودن ذرات پودر توجیه شود. Prakasan و همکاران [۴۵] در نتایجی مشابه گزارش نمودند که در شرایط متفاوت استفاده از دما- زمان (۴°C به مدت ۱۸h و ۵۰°C به مدت ۱h) جهت تیمار آنزیمی، به کارگیری آنزیم MTGase تا غلظت ۰/۰۱ درصد

مقایسه با نمونه‌های مذکور می‌تواند به دلیل بالاتر بودن نسبت ذرات ریز در نمونه شاهد باشد [۱۰]. علاوه بر غلظت آنزیم، شرایط دما-زمان تیمار آنزیمی نیز سبب تغییر معنی‌دار TD نمونه‌های پودر گردید و با افزایش دمای فعالیت آنزیم، مقدار TD بطور قابل توجهی افزایش یافت. به‌علاوه، اثر متقابل معنی‌داری میان غلظت و دمای تیمار آنزیمی بر پارامتر مذکور مشاهده گردید. با توجه به شکل ۳، نمونه تهیه شده در شرایط تیمار آنزیمی دمای 45°C و غلظت 0.02% آنزیم دارای کمترین دانسیته ضربه‌ای (0.286 g/cm^3) بود.

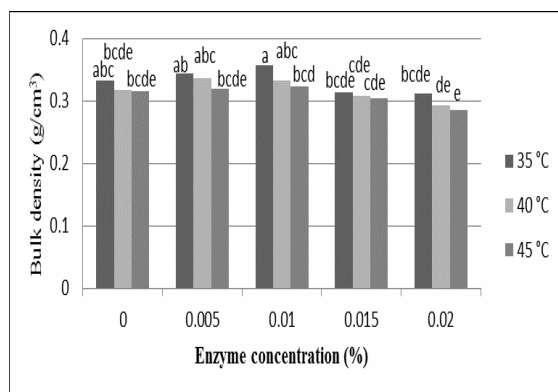


Figure 2 Effect of concentration and temperature of enzymatic treatment on bulk density of low fat milk powder

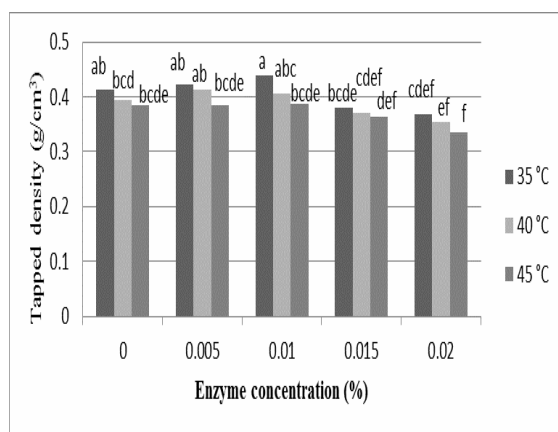


Figure 3 Effect of concentration and temperature of enzymatic treatment on tapped density of low fat milk powder

۳-۳- پیوستگی

ارزیابی پیوستگی یا نسبت هاسنر (HR) جهت درک تأثیر رطوبت نسبی فرایند بر فشردگی پودرها طی زمان حائز اهمیت است [۳۸]. HR نیرویی است که سبب چسبندگی ذرات پودر به یکدیگر می‌شود و به عنوان معیاری برای سنجش انتقال حالت، از جریان‌پذیری آزاد به سمت چسبندگی پودرها به‌کار

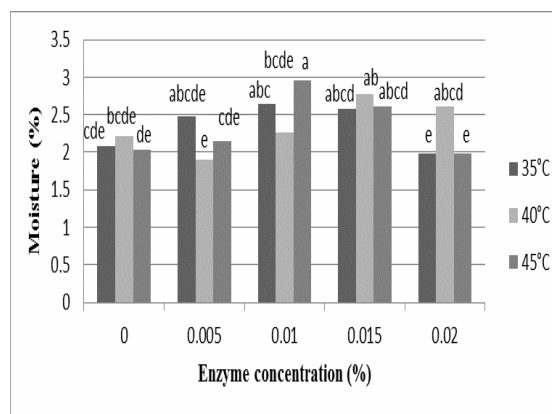


Figure 1 Effect of concentration and temperature of enzymatic treatment on moisture of low fat milk powder

۳-۲- دانسیته توده و ضربه‌ای

نتایج نشان داد که تیمار آنزیمی MTGase تا سطح غلظت 0.01% درصد آنزیم سبب افزایش جزیی مقدار دانسیته توده (BD) می‌گردد که دلیل آن احتمالاً کاهش هوای محبوس شده داخل ذرات پودر به دلیل پلیمره شدن پروتئین‌ها می‌باشد [۴۱]. درهرحال، سطوح بالاتر غلظت آنزیم باعث کاهش معنی‌دار مقدار BD گردید (جدول ۲). همچنین با افزایش دمای فعالیت آنزیم (جدول ۳)، دانسیته توده بطور معنی‌داری کاهش یافت. علت کاهش قابل توجه دانسیته در سطوح بالای غلظت آنزیم و در دمای بالا می‌تواند به علت تشدید اتصالات درون و برون مولکولی میان پروتئین‌های کازئین [۵۱] و در نتیجه درشت تر شدن ذرات پودر باشد. Ganesan و همکاران [۵۵] گزارش دادند که با افزایش اندازه ذره، فضای بین ذرات افزایش یافته و مقدار کمتری از پودر حجم معینی از فضا را اشغال می‌کند و در نتیجه دانسیته توده پودرهای غذایی کاهش می‌یابد.

همچنین اثر متقابل معنی‌داری میان غلظت آنزیم و شرایط مختلف تیمار دمایی آنزیم مشاهده گردید ($P < 0.05$). همان طور که در شکل ۲ مشخص است، کمترین دانسیته توده، مربوط به نمونه‌های تیمار شده با غلظت 0.015% و 0.02% آنزیم در هر سه شرایط دمایی مورد آزمایش بود. نمونه تیمار شده با غلظت 0.02% آنزیم در دمای 45°C دارای کمترین دانسیته توده (0.286 g/cm^3) بود.

همانند دانسیته توده، نتایج نشان داد که دانسیته ضربه‌ای (TD) نمونه شاهد بطور معنی‌داری ($P < 0.01$) بیشتر از نمونه‌های تیمار شده با MTGase در سطوح بالای غلظت آنزیم است (جدول ۲). بالاتر بودن تغییر حجم در اثر ضربه نمونه شاهد در

۴-۳- شاخص تراکم پذیری

شاخص کار (CI) یا تراکم پذیری به نوعی بیانگر قابلیت نگهداری پودر است و با افزایش CI، میزان چسبندگی و پیوستگی پودر افزایش می‌یابد. در نتیجه جریان پذیری پودر کاهش یافته و حجم پودر داخل بسته طی نگهداری بیشتر دستخوش تغییر می‌شود و کیفیت ظاهری محصول بشدت کاهش می‌یابد.

نتایج نشان داد که هر دو متغیر مقدار آنزیم و دمای فعالیت آنزیم تأثیر معنی‌داری بر CI نمونه‌های پودر داشتند ($P < 0.01$). در سطوح بالای غلظت آنزیم، مقدار CI به علت تشدید اتصالات عرضی گلوتامین-لیزین توسط آنزیم MTGase بطور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین مقدار CI در نمونه‌های پودر تیمار شده در دمای 45°C بطور قابل توجهی پایینتر از دو دمای دیگر مورد بررسی بود که نشان‌دهنده تأثیر قابل توجه آنزیم در این دما بود. مقدار CI در دماهای تیمار آنزیمی 40 ، 35 و 45°C به ترتیب $18/35$ ، $18/07$ و $16/57$ تعیین گردید.

همانطور که در شکل ۵ می‌توان مشاهده نمود، اثر متقابل معنی‌داری میان دو متغیر مورد آزمایش از نظر CI وجود داشت. هرچند نمونه پودر تیمار شده با غلظت $0/02$ درصد آنزیم در دمای 45°C دارای کمترین شاخص تراکم‌پذیری نسبت به سایر نمونه‌ها بود، اما اختلاف معنی‌داری میان آن با نمونه‌های حاوی $0/01$ و $0/015$ درصد آنزیم در همان دما و نیز نمونه تیمار شده با غلظت $0/02$ درصد آنزیم در دمای 35°C مشخص نگردید.

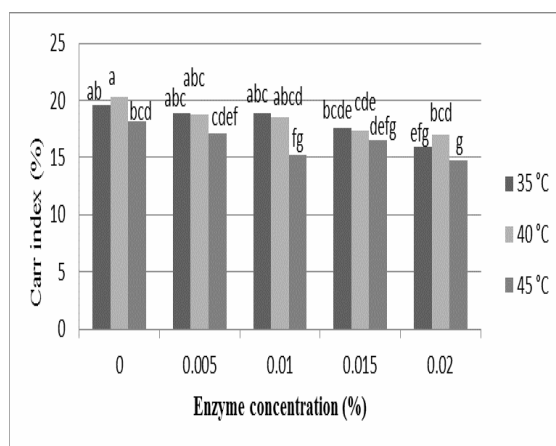


Figure 5 Effect of concentration and temperature of enzymatic treatment on compressibility index of low fat milk powder

می‌رود [۵۶]. به عبارت دیگر، این شاخص می‌تواند به همراه شاخص تراکم‌پذیری جهت مشخص نمودن قابلیت جریان‌پذیری پودرها به کار گرفته شود. نیروهای پیوستگی که پل‌های مایع نامیده می‌شود شامل نیروهای واندروالس، الکترواستاتیک، و نیروهای مغناطیسی می‌باشند. جذب رطوبت با HR در ارتباط است زیرا در این صورت، پل‌های مایع تشکیل شده بین ذرات سبب بزرگ شدن ذرات پودر و کاهش پیوستگی می‌گردد [۵۵].

همانطور که در جدول ۲ می‌توان مشاهده نمود، غلظت آنزیم تأثیر معنی‌داری بر HR پودر داشت و با افزایش غلظت آنزیم تا مقدار $0/02$ درصد، پیوستگی پودر بطور معنی‌داری کاهش یافت که علت آن همانطور که قبلاً گفته شد به دلیل افزایش نسبت ذرات درشت پودر می‌باشد. همانند غلظت آنزیم، شرایط دما-زمان تیمار آنزیمی تأثیر معنی‌داری بر HR نمونه‌های پودر داشت. هرچند با افزایش دمای فعالیت آنزیم MTGase از 35 به 40°C تغییر معنی‌داری در مقدار HR مشاهده نگردید، اما تیمار آنزیمی در دمای 45°C سبب کاهش معنی‌دار پیوستگی پودر گردید (جدول ۳).

نتایج تجزیه آماری داده‌ها همچنین بیانگر وجود اثر متقابل معنی‌دار میان متغیرهای آزمون بر HR نمونه‌های پودر بود. تأثیر غلظت و دمای فعالیت آنزیم بر پیوستگی پودر را می‌توان در شکل ۴ مشاهده نمود. نمونه تهیه شده در شرایط تیمار آنزیمی دمای 45°C و غلظت $0/01$ آنزیم با مقدار $1/173$ g/cm^3 دارای کمترین HR بود.

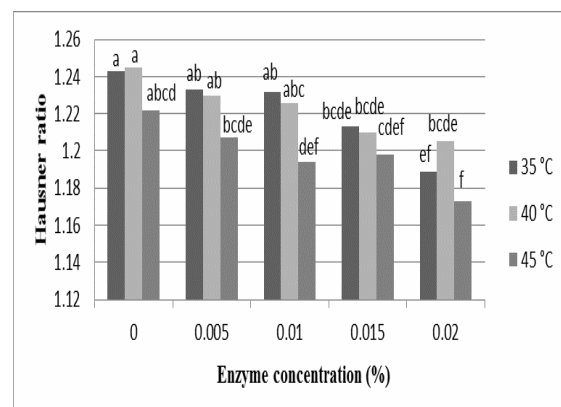


Figure 4 Effect of concentration and temperature of enzymatic treatment on cohesiveness of low fat milk powder

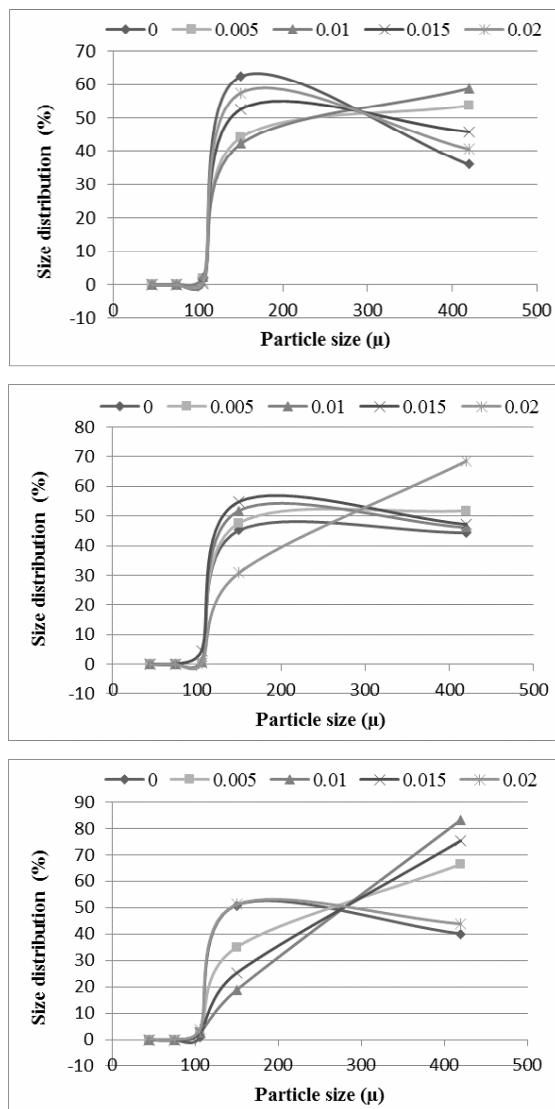


Figure 6 Effect of MTGase concentration on particle size distribution of low fat milk powder at different enzymatic treatment temperature (a: 35°C, b: 40°C and c: 45°C).

۴- نتیجه گیری

پودرهای لبنی به دلیل حمل و نقل آسان و کاربرد فراوان در فرمولاسیون محصولات غذایی گوناگون، به طور روزافزونی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در هر حال، معمولاً مشکلاتی از قبیل کلوخه‌ای شدن، انحلال‌ناپذیری بالا و جریان‌پذیری نامناسب در چنین پودرهایی مشاهده می‌گردد. برای مثال، استفاده از شیر خشک معمولی در محصولاتی از قبیل ماست، عیوبی از قبیل آب اندازی و کاهش ویسکوزیته و سفتی را دربردارد. یکی از مهمترین ویژگی‌های پودرها جریان‌پذیری آن می‌باشد که مقدار آن بستگی به میزان پیوستگی، شاخص تراکم‌پذیری و اندازه ذرات پودر دارد. مقدار جریان‌پذیری پودر با کاهش پیوستگی

۳-۵- توزیع اندازه‌ی ذرات

استفاده از الک تایلور ساده‌ترین و سریع‌ترین روش برای تعیین سایز ذرات می‌باشد. تأثیر تیمار آنزیمی شیر در مقادیر مختلف آنزیم و شرایط دمایی گوناگون بر توزیع اندازه ذرات در جداول ۲ و ۳ و نمودارهای شکل ۶ نشان داده شده است. نتایج به‌دست آمده در این قسمت با نتایج مربوط به سایر پارامترهای مورد بررسی همخوانی داشت و نمونه‌های تیمار شده در سطوح بالای غلظت آنزیم دارای نسبت ذرات درشتتری بودند (جدول ۲). به‌علاوه، با افزایش دمای فعالیت آنزیم MTGase، درصد ذرات درشت باقیمانده بر روی الک با مش ۴۰ افزایش و درصد ذرات در الک‌های با اندازه مش بالاتر (منافذ کوچکتر) کاهش یافت (جدول ۳). در هر حال بیشترین ذرات درشت با اندازه بیش از ۴۲۰ میکرومتر در نمونه پودر تیمار شده با ۰/۰۱٪ آنزیم در دمای فعالیت ۳۵ و ۴۵°C و با غلظت ۰/۰۲٪ آنزیم در دمای ۴۰°C تعیین گردید (شکل ۶). توزیع اندازه نمونه‌های مختلف پودر نشان داد که غالب ذرات پودر (۸۷/۷۶ درصد در نمونه کنترل و ۹۸/۰۸ درصد در نمونه تیمار شده با غلظت ۰/۰۲ درصد آنزیم) دارای اندازه بیش از ۱۵۰ میکرومتر هستند. اگرچه Sharma و همکاران [۴] و Tuohy [۵۷] اندازه ذرات پودر شیر معمولی و پرچرب تهیه شده به روش خشک‌کن پاششی را به ترتیب ۸۵ و ۲۵۰-۲۳۰ میکرومتر گزارش نمودند، و Woo و همکاران [۵۸] در نتایج مشابه با نتایج این تحقیق اندازه ذرات درشت پودر اندازه‌گیری شده به روش SEM¹ را ۵۰۰ میکرومتر اعلام نمودند. هرچند برخلاف نتایج این تحقیق، Masters [۵۹] عنوان نمود که ذرات پودر به‌دست آمده توسط خشک‌کن‌های پاششی در مقیاس کوچک غالباً دارای قطری کمتر از ۵۰ میکرومتر می‌باشند، اما احتمالاً شرایط متفاوت خشک‌کردن (طرح و شکل دستگاه، شرایط فرایند از قبیل دما و سرعت ورودی و خروجی هوای خشک‌کن، غلظت ماده ورودی و غیره) و نحوه اندازه‌گیری اندازه ذرات پودر می‌تواند علت اختلاف در نتایج گزارش شده باشد.

1. Scanning electron microscopy

- A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(5): 518-528.
- [5] Straatsma, J., Van Houwelingen, G., Steenbergen, A.E., and De Jong, P. 1999. Spray drying of food products: 1. Simulation model. *Journal of Food Engineering*, 42: 67-72.
- [6] Henning, D.R., Baer, R.J., Hassan A.N., and Dave, R. 2006. Major advances in concentrated and dry milk products, cheese and milk fat-based spreads. *Journal of Dairy Science*, 89: 1179-1188.
- [7] Farkye, N., Smith, K., and Schonrock F. 2001. An overview of changes in the characteristics, functionality and nutritional value of skim milk powder during storage. U.S. Dairy Export Council (available at www.usdec.org).
- [8] Moreyra, R. and Peleg, M. 1980. Physical properties of food powders. *Revista de Agroquimica Y Tecnologia de Alimentos*, 21: 322-329.
- [9] Fitzpatrick, J.J., Iqbal, T., Delaney, C., Twomey, T., and Keogh, M.K. 2004. Effect of powder properties and storage conditions on the flowability of milk powders with different fat contents. *Journal of Food Engineering*, 64(4): 435-444.
- [10] Bodhmag, A. 2006. Correlation between physical properties and flowability indicators for fine powders. M.Sc. Thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- [11] Singh, H., and Newstead, D.F. 1992. Aspects of proteins in milk powder manufacture. In: Fox PF, editor. *Advanced dairy chemistry*, vol. 1. Proteins. 2nd ed. New York, Elsevier Applied, Science Pub., p 735-765.
- [12] 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): 152-159.
- [13] Sayadi, A., Khosroshahi asl, A., and Madadlou, A. 2012. The effect of transglutaminase on the chemical and textural characteristics and microstructure of low-fat white brined cheese. *Food Industry Research Journal*, 22: 19-28 (In Persian).
- [14] Ho, M.L., Leu, S.Z., Hsieh, J.F., and Jiang, S.T. 2000. Technical approach to simplify the purification method and characterization of microbial transglutaminase produced from *Streptovorticillium ladakanum*. *Journal of Food Science*, 65: 76-80.
- [15] Kieliszek, M. and Misiewicz A. 2014. Microbial transglutaminase and its application و تراکم‌پذیری و افزایش اندازه ذرات افزایش می‌یابد. در این تحقیق از ترانس گلوتامیناز به عنوان روشی مقرون به صرفه جهت بهبود خصوصیات فیزیکی پودر استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که با تیمار شیر با آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی (MTGase)، مقدار پیوستگی و شاخص تراکم‌پذیری شیر کاهش یافت. به علاوه، با اضافه کردن آنزیم و ایجاد اتصالات درون و برون مولکولی بین پروتئین‌ها، درصد ذرات درشت در نمونه‌های پودر افزایش و در نتیجه قابلیت جریان پودر افزایش یافت. در یک نتیجه‌گیری کلی، با افزایش غلظت و دمای فعالیت آنزیم MTGase، قابلیت جریان پودر بهبود یافت و بهترین پودر با استفاده از مقدار ۰/۰۲ درصد آنزیم و تیمار آنزیمی در دمای ۴۵°C به مدت ۲ ساعت به دست آمد. با توجه به تأثیر تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز بر بهبود ویژگی‌های بافتی فراورده‌های مختلف پروتئینی، احتمالاً استفاده از چنین پودری در فراورده‌های لبنی (نظیر ماست، بستنی، پنیر و دسرهای لبنی) و محصولات غیرلبنی (همانند فراورده‌های گوشتی نظیر سوسیس و کالباس، فراورده‌های پخت، رشته‌ها و غیره) می‌تواند سبب ارتقاء خصوصیات کیفی محصول گردد.
- ## ۵- سپاسگزاری
- بدینوسیله نویسندگان مقاله مراتب سپاس خود را از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان بابت پشتیبانی مالی از این تحقیق اعلام می‌دارند.
- ## ۶- منابع
- [1] Ozkan, N., Walisinghe, N., and DongChen, X. 2002. Characterization of stickiness and cake formation in whole and skim milk powders. *Journal of Food Engineering*, 55(4): 293-303.
- [2] Nijdam, J.J., and Langrish, T.A.G. 2006. The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. *Journal of Food Engineering*, 77(4): 919-925.
- [3] Kim, E.H.J., Chen, X.D., and Pearce, D. 2009. Surface composition of industrial spray-dried milk powders. 1. Development of surface composition during manufacture. *Journal of Food Engineering*, 94(2): 163-168.
- [4] Sharma, A., Jana, A.H., and Chavan, R.S. 2012. Functionality of milk powders and milk-based powders for end use applications –

- Localization of potential transglutaminase cross-linking sites in bovine caseins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7): 1943-1947.
- [28] Han, X.Q., and Damodaran, S. 1996. Thermodynamic compatibility of substrate proteins affects their cross-linking by transglutaminase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 1211-1217.
- [29] Ikura, K., Yoshikawa, M., Sasaki, R., and Chiba, H. 1981. Incorporation of amino acids into food proteins by transglutaminase. *Agricultural and Biochemical Chemistry*. 45: 2587-2592.
- [30] Nonaka, M., Matsuura, Y., and Motoki, M. 1996. Incorporation of lysine- and lysine dipeptides into s1-casein by Ca²⁺ - independent microbial transglutaminase. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60: 131-133.
- [31] Rodriguez-Nogales, J.M. 2006. Enhancement of transglutaminase-induced protein cross-linking by preheat treatment of cows' milk: a statistical approach. *International Dairy Journal*, 16(1): 26-32
- [32] Dickinson, E., and Yamamoto, Y. 1996. Rheology of milk protein gels and protein-stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1371-1377.
- [33] Imm, J.Y., Lian, P., and Lee, C.M. 2000. Gelation and water binding properties of transglutaminase-treated skim milk powder. *Journal of Food Science*, 65(2): 200-205.
- [34] Mizuno, A., Mitsuiki, M., and Motoki, M. 1999. Glass transition temperature of casein as affected by transglutaminase. *Journal of food science*, 64(5): 796-799.
- [35] Modler, H.W., Larmond, M.E., Lin, C.S., Froehlich, D., and Emmons, D.B. 1983. Physical and sensory properties of yoghurt stabilized with milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 66: 422-429.
- [36] Domorackyi, S.S., Kycackova, V.E., and Ishevskyi, A.L. 2000. The influence of different temperature of fermentation on restructured semi-finished "economy class" products with transglutaminase application production. Saint-Petersburg state University of Refrigeration and Food Engineering, 664-669 (available at processes.open-mechanics.com/articles/355.pdf).
- [37] Aprodu, I., Gurau, G., Ionescu, A., and Banu, I. 2011. The effect of trasglutaminase on the reological properties of yoghurt. *Scientific Study and Research*, 12(2): 185-196.
- [38] Sarabandi, K.H., and Peighambardoust, H. 2015. Effect of some production parameters in the food industry. A review. *Folia Microbiology*, 59: 241-250.
- [16] Yokoyama, K., Nio, N., and Kikuchi, Y. 2004. Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applied Microbial Biotechnology*, 64: 447-454.
- [17] Guyot, C., and Kulozik, U. 2011. Effect of transglutaminase treated milk powders on the properties of skim milk yoghurt. *International Dairy Journal*, 21: 628-635.
- [18] Babiker, E.F.E., Matsudomi, N., and Kato, A. 1998. Masking of antigen structure of soybean protein by conjugation with polysaccharide and crosslinkage with microbial transglutaminase. *Nahrung*, 42: 158-159.
- [19] 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 Technology*, 210: 305-309.
- [20] Şanlı, T., Lezgin, E., Deveci, O., Şenel, E., and Benli, M. 2011. Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt. *Food Hydrocolloid*, 25: 1477-1481.
- [21] Motoki, M., and Seguro, K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. *Trends Food Science and Technology*, 9: 204-210.
- [22] Trespalacios, P., and Pla, R. 2007. Simultaneous application of transglutaminase and high pressure to improve functional properties of chicken meat gels. *Food Chemistry*, 100: 264-272.
- [23] Arciszewska, A., Cegiełka, A., and Mroczek, J. 2004. Effect of transglutaminase and sodium chloride addition on properties of batters of chilled and frozen chicken meat. *Acta Scientiarum polonorum Technologia Alimentaria*, 3:19-25.
- [24] Giosafatto, C.V.L., Rigby, N.M., Wellner, N., Ridout, M., Husband, F., and Mackie, A.R. 2012. Microbial transglutaminase-mediated modification of ovalbumin. *Food Hydrocolloid*, 26: 261-267.
- [25] Téllez-Luis, S.J., Uresti, R.M., Ramírez, J.A., and Vázquez, M. 2002. Low-salt restructured fish products using microbial transglutaminase. *Journal of Science Food Agriculture*, 82: 953-959.
- [26] Sakamoto, H., Kumazawa Y., and Motoki, M. 1994. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions. *Journal of Food Science*, 59: 866-871.
- [27] Christensen, B.M., Sorensen, E.S, Hojrup, P., Petersen, T.E., and Ramussen, L.K. 1996.

- Science and Technology Research, 13(1): 28–34.
- [49] Alp, H., and Bilgili N. 2008. Effect of transglutaminase on some properties of cake enriched with various protein sources. *Journal of Food Science*, 73(5): 209-214.
- [50] Faergemand, 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.
- [51] Truong, V.D., Clare, D.A., Catignani, G.L., and Swaisgood, H.E. 2004. Cross-linking and Rheological changes of whey proteins Treated with microbial transglutaminase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1170-1176.
- [52] Hoseyni Aghdam, S., Dezyani, M., Ezzaati, R., Yasini Ardakani, A., Daneshi, M., Laripour Harat, R. et. al. 2013. The Effect of Microbial Transglutaminase Enzyme on Textural and Sensory Properties of UF cheese. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 7(5): 481-487 (In Persian).
- [53] Qiao, L., Jiazhen, P., Zhiying, H., Jianqiang, B., and Qiannan, X. 2013. Characterization of WPI-NaCas composite films modified by transglutaminase. *Scientific Research and Essays*, 9 (9): 391-399.
- [54] Yamazaki, K., Naruto, Y., and Ueda, Y. 2005. Effects of microbial transglutaminase on mechanical properties of sponge cake. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 52(5): 219–225.
- [55] Ganesan, V., Rosentrater, K.A., and Muthukumarappan, K. 2008. Flowability and handling characteristics of bulk solids and powders-a review with implication for DDGS. *Biosystems Engineering*, IOI: 425-435.
- [56] Lumay, G., Boschini, F., Traina, K., Bontempi, S., Remy, J.C., Cloots, R., and Vandewalle, N. 2012. Measuring the flowing properties of powders and grains. *Powder Technology*, 224: 19–27.
- [57] Tuohy, J.J. 1989. Some physical properties of milk powders. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 13: 141–52.
- [58] Woo, M.W., Daud, W.R.W., Tasirin, S.M., and Talib, M.Z.M. 2008. Amorphous particle deposition and product quality under different conditions in a spray dryer. *Particuology*, 6: 265–270.
- [59] Masters, K. 1991. *Spray drying handbook* (5th ed.), John Wiley & Sons, New York, p 725.
- and storage time on the flowability characteristics of spray-dried malt extract powder. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 10(1): 51-60. (In Persian)
- [39] AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, USA.
- [40] ISO, No. 787-11. 1981. General methods of test for pigments and extenders – Part 11, Determination of tamped volume and apparent density after tamping (available at www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=5087).
- [41] Jinapong, N., Suphantharika, M., and Jamnong, P. 2008. Production of instant soy milk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2): 194-205.
- [42] Kwan, S.W., and Easa, A.M. 2003. Comparing physical properties of retort-resistant glucono-delta-lactone tofu treated with commercial transglutaminase enzyme or low levels of glucose. *Food Science and Technology-Leb.*, 36: 643-646.
- [43] Chegini, G.R., and Taheri, M. 2013. Whey powder, process technology and physical properties. *Middle-East journal of scientific Research*, 13(10): 1377-1387.
- [44] Jooyandeh, H., Mortazavi S.A., Farhang P., and Samavati, V. 2015. Physicochemical properties of set-style yoghurt as effected by microbial transglutaminase and milk solids contents. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 4(11S): 59-67.
- [45] Prakasan, V., Chawla, S.P., and Sharma, A. 2015. Effect of transglutaminase treatment on Functional Properties of Paneer. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(5): 227-238.
- [46] Onur, O.A., and Kilic, B. 2009. Effect of microbial transglutaminase, sodium caseinate and non-fat dry milk on quality of salt-free, low fat turkey döner kebab. *Food Science and Technology*, 42: 1590–1596.
- [47] Ahhmed, M.A., Satoshi, K., Kazuyoshi, O., Koji, N., Takahiko, S., and Michio, M. 2007. Differentiation in improvements of gel strength in chicken and beef sausages induced by transglutaminase. *Meat Science*, 76: 455–462.
- [48] Yamazaki, K., Naruto, Y., Nakamura, H., and Takahashi, K. 2007. Improving the breaking properties and oil absorption of bread crumbs by microbial transglutaminase. *Food*

Effect of enzymatic treatment of milk by transglutaminase on physical properties of low fat milk powder

Jooyandeh, H.^{1*}, Namvar, H.², Niakosari, M.³, Hojjati, M.⁴

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
2. M.Sc., Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Shiraz University, Iran
4. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran

(Received: 2016/07/04 Accepted: 2016/11/08)

Converting milk from liquid state into its powder form increases its shelf life. Milk powder can be stored even at ambient temperatures for about one year without considerable loss of its quality. Different kinds of milk powders have specific applications in food production. By improving quality parameters of milk powder, manufacturers are able to produce foods with more functional properties and higher quality. Microbial transglutaminase (MTGases) by intra- and intermolecular cross-linking of molecules between various primary amines, peptides and proteins is capable to modify food structure contain proteins. The aim of this study was to assay the effect of MTGases treatment of low fat milk (1.5 per cent fat) on flowability of milk powder. For this purpose, five levels of enzyme concentration (0, 0.005, 0.01, 0.015 and 0.02 per cent) at three time-temperature conditions (35°C for 8 h, 40°C for 4 h and 45°C for 2 h) were applied. Results showed that enzymatic treatment of the milk led to a decrease in bulk and tapped density of the milk powder. Furthermore, as enzyme concentration increased, amounts of cohesiveness and compressibility of the milk powder were decreased. These condition resulted in a product with higher flowability and quality. Based on results obtained from statistical analysis, the best flowability with respect to the lower adhesiveness and compressibility of the product was achieved by enzymatic treatment of the milk at 45°C along with 0.02% enzyme concentration.

Keywords: Transglutaminase enzyme, Milk powder, Physical properties, Flowability

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