علمی پژوهشی

بررسی پروفایل اسیدهای چرب آزاد و پایداری دوغ فرا سودمند تولید شده با استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی و لیپاز

شادی جوکار[1]، صدیقه یزدان پناه[1*]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۰۸ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۳۰)

چکیده

دوغ یک نوشیدنی لبنی است که در بین نوشیدنی های موجود در بازار جایگاه ویژه ای دارد. دو فاز شدن این فراورده در طول زمان نگهداری، مشکل عمده ای است که از پایین بودن pH و تجمع کازیین ها ناشی می شود. بنابراین در پژوهش حاضر کارایی آنزیم های ترانس گلوتامیناز میکروبی در دوزهای ppm ۱۰، ۱۵ و ۲۰ و لیپاز در دوزهای ppm ۳۰، ٤٥ و ٦٠ در پایدار سازی دوغ و تاثیر آنها بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی، حسی و اسید های چرب آزاد دوغ مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه ی میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده گردید . تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت . نتایج، نشان داد که تیمار دهی با آنزیم های مذکور سبب بهبود پایداری شد.میزان اسید های چرب غیر اشباع در نمونه شاهد بیشتر از نمونه تیماردهی شده می باشد. نتایج حاصل از ارزیابی حسی، هیچگونه اختلاف معنی داری بین نمونه های تیماردهی شده و شاهد نشان نداد ($P < ۰/۰۵$) اما پذیرش کلی توسط ارزیابان، با افزایش دوز آنزیم ها در دوغ افزایش یافت.

کلید واژگان: دوغ، آنزیم ترانس گلوتامیناز، لیپاز، پایداری

* مسئول مکاتبات: yazdanpanah2004@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

۱- مقدمه

دوغ یکی از محبوب ترین نوشیدنی های لبنی تخمیری است که در ایران و برخی از کشورهای اروپای شرقی و خاورمیانه، مصرف فراوانی دارد. این فراورده به طریقه سنتی از اختلاط ماست، آب، نمک و برخی گیاهان معطر نظیر نعناع و پونه یا اسانس‌های طبیعی حاصل می‌شود. امروزه با توجه به افزایش سطح آگاهی مردم ، اهمیت مسائل تغذیه‌ای ، رژیم غذایی و متعاقب آن مشخص شدن اثرات زیان بخش نوشابه‌های گازدار ، پرکالری و تاثیر غیرمستقیم آن بر شیوع بیماری‌های مزمن نظیر چاقی و دیابت، مردم گرایش به مصرف نوشیدنی‌های لبنی از جمله دوغ پیدا کرده‌اند [۱]. فرایند تخمیر سبب تولید انواع مختلف ترکیب های تغذیه‌ای مفید مانند اسیدهای آمینه ضروری، اسید های آلی، آنتی بیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها توسط باکتری‌های لاکتیک می شود. این مواد موجب کاهش و یا نابودی میکروب‌های مسمومیت‌زا و عفونت‌زا در دستگاه گوارش می شوند. دوغ محصول تخمیری بی ثباتی است که یکی از مشکلات معمول این نوشیدنی تخمیری دو فاز شدن در طول دوره نگهداری است که دلیل آن تاثیر pH پایین و شرایط اسیدی بر پروتئین‌های کازئین است، که در نقطه ایزوالکتریک باعث رسوب آنها شده و موجب دو فاز شدن دوغ و ظاهری نامطلوب در فرآورده می‌شود [۲، ۳ و ٤].

شیر خام منبعی از ٦٠ نوع آنزیم است. آنزیم لیپاز درون شیر در طی فرآیند پاستوریزاسیون، غیر فعال می شود که به منظور حفظ فعالیت آنزیمی در تولید دوغ، این آنزیم به شیر پاستوریزه اضافه می شود. لیپاز EC 3.1.1.3 جز آنزیم‌های هیدرولیز کننده می باشد که به روشی خاص در بخش مشترک آب و روغن عمل می کند [٥]. این آنزیم پتانسیل فوق العاده‌ای در بیوتکنولوژی دارد. منابع استخراج لیپاز به طور کلی به سه دسته میکروبی، گیاهی، حیوانی تقسیم می‌شود. که لیپاز میکروبی کاربرد گسترده‌تری دارد. در صنعت لبنی از این آنزیم به منظور ایجاد طعم خاص در فراورده‌های لبنی از طریق تجزیه چربی شیر استفاده می شود، پس از انجام فعالیت خود و ایجاد آرومای مطلوب، در پاستوریزاسیون دوم، غیر فعال می شود تا از فعالیت زیاد و ایجاد پس مزه و تلخی جلوگیری شود. مشارکت لیپاز در لیپولیز فرآورده‌های لبنی به دما و زمان حرارت‌دهی شیر بستگی دارد. در اثر پاستوریزاسیون (۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ ثانیه) فعالیت لیپاز به میزان ۸۳ درصد کاهش می‌یابد و پس از حرارت دهی به مدت ۱۵ ثانیه در ۷۸ درجه سانتی‌گراد، ۱۰۰ درصد غیرفعال می‌شود [٦]. لیپازها آنزیم‌هایی هستند که هیدرولیز تری آسیل گلیسرول‌ها را کاتالیز می کنند و این نوع هیدرولیز، لیپولیز نامیده می‌شود. محصولات حاصل از این واکنش اسیدهای چرب آزاد یا استر نشده، منو و دی گلیسیریدها و مقداری گلیسرول می باشند [۷]. اهمیت لیپولیز در شیر به دو دلیل است: ایجاد عطر و طعم در محصولات و تغییر خواص آن ها. اسیدهای چرب آزاد، مخصوصاً اسیدهای چرب آزاد با زنجیره‌ی کوتاه و متوسط، دارای عطر و طعم بسیار قوی بوده و در بسیاری از موارد نامطلوب تلقی می‌شوند [۸ و ۹]. آنزیم ترانس گلوتامیناز که به نام EC 2.3.3.13 نیز شناخته می شود، جز آنزیم‌های ترانسفراز بوده که به طور گسترده‌ای در طبیعت وجود دارد. آنزیم ترانس گلوتامیناز پروتئینی است، با وزن مولکولی ۳۷۳٦۸ دالتون که حاوی ۳۳۱ اسید آمینه است. این آنزیم می‌تواند بین اسیدآمینه گلوتامین از یک پروتئین و لایزین از پروتئین دیگر ایجاد اتصال کند. جالب توجه است که این آنزیم هیچ گونه اثر نامطلوبی بر دسترسی زیستی لایزین نداشته و ارزش تغذیه‌ای پروتئین حاصل را نیز تغییر نمی دهد [۱۰]. زمانی که یک گروه آمینی از آمینواسید لایزین موجود در یک رشته پروتئینی با آمینواسید گلوتامین از رشته دیگر، یک پیوند آسیلی برقرار می‌کند باعث استحکام دو رشته می‌شود که نتیجه این عمل بالا بردن ویسکوزیته محصول می‌باشد [۱۱]. از آنجائیکه این آنزیم منشا میکروبی دارد برای کاربرد در صنعت بسیار مناسب است [۱۲].

پژوهش‌های متعددی مبنی بر تاثیر این دو آنزیم در صنعت لبنیات انجام شده است. سانلی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که اتصال عرضی پروتئین‌های شیر توسط ترانس گلوتامیناز میکروبی، ویژگی‌های کارکردی مثل توانایی هیدراسیون، ویژگی‌های رئولوژیکی و امولسیفیکاسیون را بهبود بخشید [۱۳]. پیرو و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که ترانس گلوتامیناز قادر است راندمان پنیر سازی را از راه حفظ رطوبت دلمه افزایش دهد [١٤]. استیل (۱۹۹۵) در تحقیق خود به این نتیجه رسید که در طول رسیدن پنیر جمعیت باکتری‌های لاکتیکی افزایش یافته

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

پتانسیل اکسیداسیون- احیا با آزاد شدن آنزیم‌های لیپاز و پروتئاز کاهش می‌یابد که جمعیت میکروبی و طعم را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱۵]. آستون و همکاران (۱۹۸۶) در تحقیق خود بر روی پنیر چدار به این نتیجه رسیدند که ترکیبات طعمی عمده که طی لیپولیز ایجاد می‌شود، اسیدهای چرب آزاد هستند و مستقیما بر طعم پنیر اثر دارد [۱۶].

هدف از این پژوهش این است که بتوان با استفاده از ایجاد پیوندهای عرضی جدید در پروتئین‌های شیر توسط آنزیم های گلوتامیناز میکروبی و لیپاز، پایداری دوغ را که محصولی با ویسکوزیته‌ی پایین می‌باشد، افزایش داد و در نهایت دوغی با طعم بواسطه استفاده از آنزیم لیپاز و پایداری مناسب تولید کرد. پس از تولید دوغ به همراه آنزیم های ترانس گلوتامیناز میکروبی و لیپاز، تأثیر اضافه کردن این دو آنزیم بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی، پروفایل اسید چرب آزاد و حسی دوغ گرمادیده بدون گاز مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

شیر تازه‌ی گاو (بهار ۱۳۹۶، تهیه شده از گاوداری معتبر و تحت نظارت دامپزشکی استان فارس- ایران)، استارتر تجاری ماست حاوی *Streptococcus Thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* (Mediterranea Biotecnologie، ایتالیا)، آنزیم ترانس گلوتامیناز با قدرت آنزیمی ۱۰۰ واحد به ازای هرگرم پروتئین از (C&P، آلمان) و آنزیم لیپاز گوساله ای با قدرت آنزیمی ۱۰ میلی‌لیتر از(Clerici، ایتالیا) تهیه شد. کرومات پتاسیم، نیترات نقره، اسیدسولفوریک، ایزوآمیل الکل همه ازمرک، آلمان تهیه و استفاده شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تولید دوغ

مقدار آنزیم‌های اضافه شده به دوغ‌های تولیدی بر اساس پژوهش‌های کرمی و همکاران (۲۰۰۹) بر روی آنزیم لیپاز و کریم و همکاران (۲۰۱۸) بر روی آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی، در بالاترین مقدار مجاز که تاثیر نامطلوب بر ویژگی های تکنولوژیکی فراورده نداشته باشد و از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشد، انتخاب شده است [۱۷ و ۱۸]. جهت تهیه دوغ شاهد (بدون آنزیم)، ابتدا پس از توزین، شیر استانداردسازی شد. نمونه شیر مورد نیاز با میزان اسیدیته‌ی حداکثر ۱۵ درجه‌ی دورنیک، ماده خشک بدون چربی حداقل ۸ ٪ ، پروتئین بین ۳ تا ۳/۳ ٪ و چربی در دو سطح ۱/۵ و ۳ ٪ آماده‌سازی گردید. سپس به منظور پاستوریزاسیون در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه حرارت دهی داده شد، پس از کاهش دما تا حدود ۴۳ درجه سانتی‌گراد، به منظور تولید ماست دوغ، استارتر اضافه گردید. همچنین آنزیم‌های مورد نظر در دوزهای مشخص همراه با استارتر به تیمارها اضافه شد. نمونه‌های ماست دوغ در حین تولید تا رسیدن به pH مطلوب (بین ٤-٤/٢) در دمای ٤٢ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. ماست تولید شده همراه با آب آشامیدنی به نسبت ۵۰:۵۰ و ۰/۵ درصد وزنی نمک طعام با درجه خلوص ۹۹/۵ درصد را با یکدیگر مخلوط شد. سپس پاستوریزاسیون دوم در بن ماری با دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ دقیقه به منظور جلوگیری از حرارت دهی مستقیم به دوغ انجام شد. در نهایت مرحله سرد کردن به گونه ای که در کوتاه ترین زمان ممکن دوغ به دمای مورد نظر برسد در دمای چهار درجه سانتی‌گراد یخچال، و بسته بندی در شرایط استریل در بطری‌های پلاستیکی به حجم نیم لیتری انجام گردید [۱۹]. مشخصات تیمارها در جدول ۱ نشان داده شده است.

Table 1 Treatments formulation

Code	Fat (%)	The amount of Transglutaminase enzyme	The amount of Lipase enzyme
A (Control)	-	-	-
B	1.5	10 ppm	30 ppm
C	1.5	15 ppm	45 ppm
D	1.5	20 ppm	60 ppm
E	3	10 ppm	30 ppm
F	3	15 ppm	45 ppm
G	3	20 ppm	60 ppm

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

۲-۲-۲- اندازه‌گیری خواص فیزیکوشیمیایی

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی شامل اسیدیته و pH، نمک، چربی، ماده جامد بدون چربی شیر و دانسیته به ترتیب به روش‌های استاندارد ملی ایران به شماره های ۲۸۵۲، ٦٩٤، ٣٨٤، ١١٣٢٨ و ٦٣٨ انجام گرفت [۲۰ ،۲۱،۲۲ ، ۲۳ و ٢٤].

۲-۲-۳- اندازه‌گیری خواص میکروبی

شمارش کپک و مخمر: از روش کشت آمیخته (پور پلیت) و محیط کشت عصاره‌ی مخمر دکستروز کلرامفنیکل آگار[2] استفاده شد و در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵ روز گرمخانه‌گذاری شد [۲۵ و ٢٦].

شمارش کلی فرم: از روش کشت سطحی و محیط کشت ویولت رد بایل آگار[3] استفاده شد و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ تا ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری شد [۲۷ و۲۸].

۲-۲-٤- بررسی میزان پایداری

برای تعیین میزان پایداری تیمارها، مقدار۵۰ میلی‌لیتر از نمونه درون فالکون مدرج استریل ریخته شد و درب‌بندی گردید. در دمای محیط به مدت ۳۰ روز نگه‌داری شدند. در نهایت میزان پایداری آن‌ها بر حسب درصد با استفاده از(فرمول۱) محاسبه شد [۲۹].

$$S(\%) = \frac{Vd - Vs}{Vd} \times 100$$ (فرمول۱)

S درصد پایداری ، Vd حجم اولیه دوغ، Vs حجم سرم

۲-۲-۵- بررسی پروفایل اسیدهای چرب

به منظور بررسی پروفایل اسیدهای چرب C_4 تاC_{18} (اسید های چرب اشباع در محصولات لبنی) از کروماتوگرافی گازی-GC MASS [4] (Agilent ،آلمان) استفاده شد. برای انتخاب نمونه‌ها، نمونه‌ی شاهد و نمونه‌ی G که دارای بیشترین مقدار (٦٠ppm آنزیم لیپاز، ۲۰ppm آنزیم ترانس گلوتامیناز) آنزیم‌ها می‌باشد، انتخاب شد. برای آماده‌سازی نمونه‌ها و جداسازی چربی موجود از نرمال هگزان[5] استفاده شد. تعیین ترکیب ساختار اسید چرب تیمارها بر اساس روش استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۳۲٦ و ۲-۱۳۱۲٦ توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی مجهز به آشکار ساز یونی شعله ای، مدل (Hewlett Packard ، Agilent 6890) و ستون (SGE BPXV، با مشخصات ۱۲۰ متر طول، ۲۵۰ میکرومتر قطر داخلی، ۰/۲۰ میکرومتر اندازه ذرات) انجام گرفت. درجه حرارت تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت آشکار ساز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت آون ۱۹۸ درجه سانتی‌گراد (ایزوترمال)، گاز حامل مورد استفاده نیتروژن و سرعت جریان ۰/٦ میلی‌لیتر بر دقیقه و سرعت جریان گاز هیدروژن در آشکار ساز ۳۰ میلی‌لیتر بر دقیقه می باشد [۳۰ و ۳۱].

۲-۲-٦- ارزیابی حسی

به منظور ارزیابی حسی تیمارها، با استفاده از روش هدونیک (۵ نقطه ای)، نمونه‌های دوغ تهیه شده، به لحاظ بو (بو متناسب عطرو خوشایند قابل قبول دوغ، مزه بدون تلخی، بافت (یکنواختی- یکدست بدون رسوب روی زبان)، قوام، احساس دهانی و پذیرش کلی مورد ارزیابی (۲۱ زن و ۲۵ مرد در گروه سنی ۲۰-۵۰ سال) ارزیاب از قبل آموزش دیده قرار گرفت. نمونه‌ها یک روز پس از آماده سازی در دمای ۱± ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در اختیار ارزیاب‌ها قرار گرفتند به این ترتیب که حداکثر نمره‌ی ۵ به منزله‌ی خوب بودن نمونه و ۱ کمترین نمره که نشان دهنده خیلی بد بودن نمونه است [۳۲ و ۳۳].

۲-۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

طرح آزمایش این بررسی در قالب طرح بلوک‌های تصادفی در سه تکرار است که برای تجزیه و تحلیل اطلاعات حاصل از نرم افزار SPSS استفاده شد. برای این منظور آنالیز واریانس با ANOVA و برای به دست آوردن تفاوت بین تیمار ها از آزمون DUNCAN استفاده شد ($P \leq ۰/۰۵$). کلیه‌ی آزمون‌ها با تیمار شاهد که دوغ خالص و بدون آنزیم است، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ارزیابی میکروبی

به منظور اطمینان از سلامت نمونه‌های آماده‌سازی شده، کلیه‌ی نمونه‌ها مورد ارزیابی میکروبی از لحاظ وجود کپک و مخمر و کلی‌فرم قرار گرفتند. تمام نمونه‌ها در محدوده‌ی استاندارد کلی‌فرم (حداکثر مجاز ۱۰ cfu/g)، کپک و مخمر(حداکثر مجاز

2. Yeast glucose chloramphenicol agar
3. Violet red bile agar
4. GC-MASS
5. n-Hexane

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

۱۰۰cfu/g) قرار داشتند. که نشان دهنده‌ی سلامت محصول در ارزیابی حسی توسط پانلیست‌ها و همچنین عدم وجود عوامل میکروبی در نتایج می‌باشد.

۳-۲- ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی

نمونه‌های تهیه شده در این پژوهش به لحاظ میزان ترکیبات حاوی ۰/۵۲۰ تا ۱/۵۰ ٪ چربی، ۳/۹۵ تا ٦/٦٤ ٪ ماده خشک، ۰/۲۸ تا ۰/٤۲ نمک، دانسیته ۱/۰۱۷۲ تا ۱/۰۲۵٦ گرم بر سانتی متر مکعب، اسیدیته ٤۹/۳۰ تا ۵۲/۹۰ درجه دورنیک و pH ٤/۲۰ تا ٤/۳۰ می باشد. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های دوغ تولیدی در این بررسی با استاندارد ایران مطابقت دارد. با توجه به اهمیت میزان ترکیبات نظیر ماده خشک (مطابق استاندارد ملی(۱۷۵۳)، چربی، نمک، دانسیته، اسیدیته و pH مطابق استاندارد ملی (۲۸۵۲) بررسی شد [۳٤]. در بررسی ماده خشک بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌دار است ولی بین تیمارها با هم به غیر از تیمار D اختلاف معنی‌دار نیست. بیشترین میزان در تیمارD (٪ ۰/٦۰ ± ٦/٤٤) و کمترین میزان در تیمار شاهد (٪ ۰/٤۰ ± ۳/۹۵) تعیین گردید. کاهش قابل توجه اسیدیته و بدنبال آن افزایش ماده خشک نتیجه تحریک فعالیت متابولیک باکتریهای استارتر می‌باشد [۳۵]. در بررسی نمک بین تیمار شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P <۰/۰۵). بیشترین میزان در تیمارF (٪ ۰/۰۳ ± ۰/٤۲) و کمترین میزان در تیمارB (٪ ۰/۰۳ ± ۰/۲۸) تعیین گردید. در بررسی چربی بین تیمارهای B، C و D با تیمارهای E، F و G اختلاف معنی‌دار است ولی بین تیمارهای B، C و D با شاهد اختلاف معنی دار نیست. بیشترین میزان در تیمارE (٪ ۰/۱۰ ± ۱/۵۰) و کمترین میزان در تیمارD (٪ ۰/۲۰ ± ۰/۵۰) تعیین گردید. در بررسی pH بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین میزان در تیمار E (٪ ۰/۰۵ ± ٤/۳۰) وجود داشت. در بررسی اسیدیته قابل تیتر بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌دار است. بیشترین میزان در تیمار شاهد (٪ ۰/۲۰ ± ۵۲/۹۰) و کمترین میزان در تیمار G (٪ ۰/۳۰ ± ٤۹/۳۰) تعیین گردید. در بررسی دانسیته بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین میزان در تیمار D (۰/۰۰۳۰ ± ۱/۰۲۵٦ گرم بر سانتی متر مکعب) و کمترین میزان در تیمار E (۰/۰۲۰۰ ± ۱/۰۱۷۲ گرم بر سانتی متر مکعب) تعیین گردید. با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز ماده خشک و در نتیجه آن دانسیته نمونه‌ها نیز افزایش یافت. از آنجا که عملکرد اصلی آنزیم ترانس گلوتامیناز، اتصال عرضی پروتئین‌های شیر به صورت کوالانسی و در نتیجه، تشکیل یک ژل قوی‌تر است که در ساختار متفاوت می‌باشد [۲۲]. به طور کلی نتایج حاصله نشان داد که خواص فیزیکوشیمیایی نمونه‌های تیمار شده نسبت به نمونه شاهد بهبود یافته است. آنزیم‌ها نه تنها تاثیر نامطلوب بر خواص فیزیکوشیمیایی نداشتند بلکه موجب بهبود خواص فیزیکوشیمیایی دوغ گردیدند. pH و اسیدیته فاکتورهایی هستند که تاثیر زیادی بر پایداری، رشد میگروارگانیسم‌ها، فعالیت آنزیمی و سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی در صنعت لبنیات دارند. افزایش اسیدیته مربوط به تولید اسید لاکتیک حاصل از تخمیر می‌باشد [۱۷]. در pH پایین کلسیم فسفات کلوئیدی از میسل‌های کازئینی جدا شده و در pH کمتر از ۵/۵ ساب میسل‌ها به تجمعات کوچک کازئینی تجزیه می شوند. وقتی pH به نقطه ایزوالکترولیک می‌رسد، ماتریکس پروتئینی فشرده و کوتاه می شود. همچنین در pH کمتر از ٤/۸ تجمعات کازئینی کمتری به رشته های غیرخطی تبدیل می شوند [۱۷].یوکسل و اردم (۲۰۱۰) نیز کاهش قابل توجه اسیدیته را برای ماست¬های بدون چربی و با چربی کامل تیمار شده، با آنزیم ترانس گلوتامیناز در مقایسه با نمونه¬های تیمار نشده گزارش کردند [۳٦]. سانلی و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیق مشابهی که بر روی ماست انجام دادند گزارش کردند که حضور آنزیم ترانس گلوتامیناز در ماست قالبی، اثر قابل توجهی بر pH ندارد [۱۳]. نتایج مشابهی در پژوهش حاضر گزارش شده است. با افزایش غلظت آنزیم اسیدیته قابل تیتر و میزان نزول pH کاهش یافته است. یکی از دلایل این امر، رشد کند استارترها است. پپتیدهایی با وزن مولکولی کم و یا اسید آمینهای در شیر وجود دارند که برای رشد استرپتوکوکوس ترموفیلوس حیاتی هستند، این پپتیدها توسط آنزیم ترانس گلوتامیناز دچار اتصالات عرضی شده تا حدودی برای استرپتوکوکوس غیر قابل دسترس میشوند [۳۷]. آیدمیر و همکاران (۲۰۰۱) و آکین و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کرده‌اند که افزودن لیپاز اثر معنی‌داری در کل مواد جامد، نمک، چربی، ازت کل، pH و اسیدیته پنیر نداشت[۵ و ۳۸]. نتایج گزارش شده با نتایج نمک ، pH و دانسیته در این پژوهش مشابه است. نتایج

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

بدل و همکاران (۲۰۰۰) با نتایج ماده خشک، چربی و اسیدیته در این پژوهش مشابه است[۳۹]. معمولا آنـزیم هـای منشاء لیپولیز در شـیر لیپـاز بـا منشاء داخلی و لیپاز لیپوپروتئینی‌شیر (عامل انعقاد) رنین، و باکتری های آغـازگر و غیـر آغـازگر و میکروارگانیسـم‌هـای تلفیق شده است [۸ و ۱۷]. وقتی از آنزیم استفاده شود مقدار تغییرات pH نسبت به حالتی که آنزیم وجود ندارد، ۰/۰۴ تا ۰/۰۵ واحد بالاتر است [۴۰]. لاکتوز موجود در محصول مصرف شده و تبدیل به اسید گردیده است و اسیدیته افزایش می یابد. نتایج گزارش شده با نتایج آکین و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت داشت [۳۸].

Table 2 Results of physico-chemical properties

Treatment	Dry matter (%)	Fat (%)	Salt (%)	pH	Acidity(°D)	Density (gr/cm^3)
A	3.95 ± 0.40^c	0.70 ± 0.20^b	0.35 ± 0.02^a	4.20 ± 0.05^a	52.90 ± 0.20^a	1.0183 ± 0.0020^a
B	4.94 ± 0.50^b	0.60 ± 0.30^b	0.28 ± 0.03^a	4.20 ± 0.02^a	52.50 ± 0.40^b	1.0212 ± 0.0030^a
C	5.25 ± 0.80^b	0.60 ± 0.40^b	0.31 ± 0.02^a	4.30 ± 0.03^a	50.20 ± 0.10^c	1.0221 ± 0.0040^a
D	6.64 ± 0.60^a	0.50 ± 0.20^b	0.30 ± 0.03^a	4.20 ± 0.04^a	52.50 ± 0.30^b	1.0256 ± 0.0030^a
E	4.17 ± 0.70^b	1.50 ± 0.10^a	0.33 ± 0.02^a	4.30 ± 0.05^a	50.10 ± 0.10^e	1.0172 ± 0.0200^a
F	4.18 ± 0.50^b	1.40 ± 0.20^a	0.42 ± 0.03^a	4.30 ± 0.04^a	51.20 ± 0.40^d	1.0184 ± 0.0300^a
G	4.41 ± 0.20^b	1.20 ± 0.30^a	0.39 ± 0.04^a	4.20 ± 0.02^a	49.30 ± 0.30^f	1.0186 ± 0.0200^a

A (Control), B (1.5% fat, 10 ppm transglutaminase enzyme, 30 ppm lipase enzyme), C (1.5% fat, 15 ppm transglutaminase enzyme, 45 ppm lipase enzyme), D (1.5% fat, 20 ppm transglutaminase enzyme, 60 ppm lipase enzyme), E (3% fat, 10 ppm transglutaminase enzyme, 30 ppm lipase enzyme), F (3% fat, 15 ppm transglutaminase enzyme, 45 ppm lipase enzyme), G (3% fat, 20 ppm transglutaminase enzyme, 60 ppm lipase enzyme). The numbers in the table reported to form of mean + standard deviation. The same letters indicate no significant difference($p<0/05$).

۳-۳- بررسی پایداری نمونه‌های دوغ

در ویژگی پایداری دوغ باید عنوان کرد که افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز و لیپاز موجب ایجاد نتایجی در محدوده استاندارد شد. تأثیر آنزیم‌های افزوده شده بر پایدارسازی دوغ در مقادیر مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان آب‌اندازی نمونه‌ها با افزایش میزان آنزیم کاهش و پایداری آنها افزایش یافت. این افزایش پایداری به لحاظ آماری تنها بین نمونه‌ی شاهد و تیمار D (۱/۵ درصد چربی، ۲۰ppm آنزیم ترانس گلوتامیناز، ۶۰ppm آنزیم لیپاز) وجود داشت ($P\leq ۰/۰۵$). در محـصولات تخمیـری به دلیل تجمع و رسوب ذرات کازئین در طول دوره ذخیره‌سازی در pH پایین، آب‌اندازی رخ می دهد [۲۹]. اسـتفاده از پایدارکننده ها یکی از راه های جلوگیری از این مـشکل اسـت [۳۹]. در pH طبیعی قرار گرفتن کاپاکازئین‌ها در سطح، میسل کازئین باعث پایداری آنها در شیر می‌شود که با ایجاد دافعه فضایی و الکترواستاتیک و تشکیل لایه‌های نازک در سطح آن‌ها، باعث جلوگیری از نزدیک شدن میسل‌ها به یکدیگر می شود. اگر این لایه‌ها توسط آنزیم‌های دلمه کننده شیر شکسته و جدا شوند، با کاهش pH فسفات کلسیم به تدریج از میسل خارج شده با افزایش قدرت یونی و کاهش قابلیت انحلال بار الکتریکی منفی میسل کاهش می‌یابد و در نهایت میسل‌های کازئین را ناپایدار می کند [۵ و ۴۱]. نتایج مشابهی توسط دیگر محققین در خصوص کاهش میزان آب اندازی ماست بدون چربی و دو فاز شدن دوغ که حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز طی دوره نگهداری در دمای یخچال نیز گزارش شده است [۴۲]. در برسی ماست حاوی ترانس‌گلوتامیناز، مشاهده شد که آب اندازی کاهش، ظرفیت نگهداری آب و ویسکوزیته افزایش یافته است [۴۳]. شیرخانی و همکاران (۲۰۱۵) اثر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی نوشیدنی تخمیری شیر را بررسی و مشاهده کردند که دوغ تهیه شده از طریق تخمیر شیر، محصولات پایدارتری (جدایی فاز کمتری) تولید کرده اند [۴۴].

با حضورآنزیم ترانس‌گلوتامیناز، ویسکوزیته تخمیری کاهش می یابد و در نتیجه ظرفیت نگهداری آب افزایش می یابد و با اتصال به پروتئین‌های شیر، ایجاد پیوندهای عرضی و پلیمرهای با وزن مولکولی بالا، باعث ایجاد یک ژل محکم و قوی و کاهش آب‌اندازی می‌شود [۱۳و ۴۳]. نتیجه مشابهی توسط سلیمان پوری و همکاران (۲۰۱۴)، در مطالعه ای در ایجاد اتصالات

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

عرضی بین پروتئین های شیر و سویا در ماست بدون چربی توسط آنزیم ترانس گلوتامیناز گزارش شده است [٤٥].

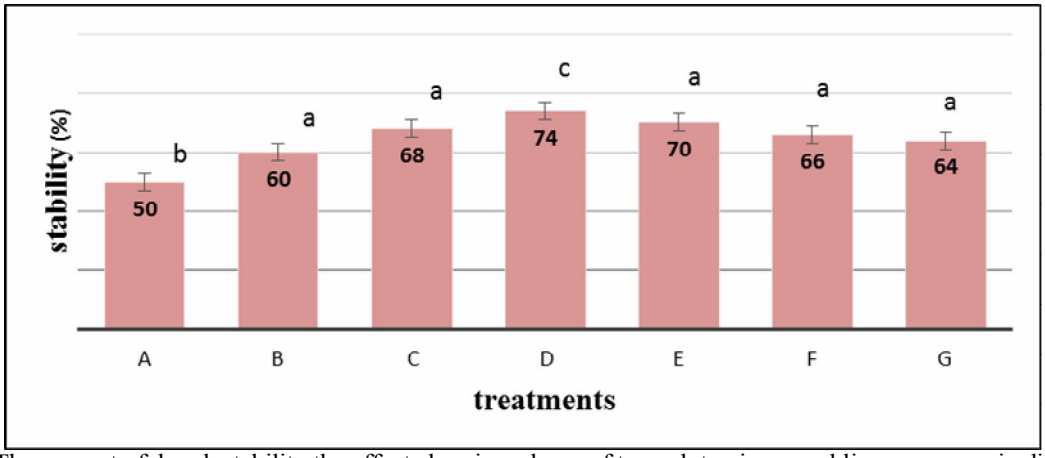

Fig 1 The amount of dough stability the affected various doses of transglutaminase and lipase enzyme in different fats.

A (Control), B (1.5% fat, 10 ppm transglutaminase enzyme, 30 ppm lipase enzyme), C (1.5% fat, 15 ppm transglutaminase enzyme, 45 ppm lipase enzyme), D (1.5% fat, 20 ppm transglutaminase enzyme, 60 ppm lipase enzyme), E (3% fat, 10 ppm transglutaminase enzyme, 30 ppm lipase enzyme), F (3% fat, 15 ppm transglutaminase enzyme, 45 ppm lipase enzyme), G (3% fat, 20 ppm transglutaminase enzyme, 60 ppm lipase enzyme). The same letters indicate no significant difference($p<0/05$).

۳-٤- بررسی پروفایل اسیدهای چرب

با استفاده از کروماتوگرام به دست آمده از ترکیبات چربی نمونه‌های انتخابی دوغ‌ها، نمونه A (شاهد) و نمونه G به وسیله‌ی دستگاه کروماتوگرافی گازی، میزان و نوع اسیدهای چرب شناسایی شده و در شکل ۲ نشان داده شده است. لیپاز طبیعی شیر در فرایند پاستوریزاسیون غیرفعال می شود. تجزیه چربی درفراورده‌های لبنی بدلیل حضور لیپازهای باکتری‌های سرماگرا مانند سودوموناس‌ها و یا باکتریهای اسید لاکتیک آغازگر و غیر آغازگر (باعث تولید اسید چرب کوتاه زنجیر می شوند) است که با اتولیز آنها استرازهای درون سلولی آزاد می شود [٤٦ و٤٧]. اسید استیک و اسید پروپیونیک، حاصل فعالیت لیپولیز نمی‌باشند. حضور آنها ممکن است به دلیل تخمیر باکتریایی لاکتوز از طریق مسیر گلیکولیتیک و دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو و دآمیناسیون از اسیدهای آمینه حاصل شود [٤٨]. نتایج حاصل حاکی از آن است که افزودن آنزیم لیپاز موجب تغییر در میزان اسیدهای چرب موجود می‌شود. تمام اسیدهای چرب مد نظر به جز بوتیریک اسید، در دو نمونه با مقدار متفاوت وجود داشتند. افزودن آنزیم لیپاز سبب افزایش میزان اسیدهای چرب کاپریلیک اسید ($C_{8:0}$) ، کاپریک اسید ($C_{10:0}$)، آندسیلیک اسید ($C_{11:0}$)، لوریک اسید ($C_{12:0}$)، میریستیک اسید ($C_{14:0}$)، میریستولئیک اسید ($C_{14:1}$)، پنتادسیلیک اسید ($C_{15:0}$)، پالمیتوئیک اسید ($C_{16:1}$) و استئاریک اسید ($C_{18:0}$) در نمونه G نسبت به نمونه شاهد شد و همچنین میزان اسیدهای چرب کاپروئیک اسید ($C_{6:0}$)، تریدسیلیک اسید ($C_{13:0}$)، پالمتیک اسید ($C_{16:0}$)، مارگاریک اسید ($C_{:17:0}$)، ۱۰- سیس- هپتادکانوئیک اسید ($C_{17:1}$)، اولئیک اسید ($C_{18:1}$)، لینولئیک اسید ($C_{18:2}$)، آلفا- لینولنیک اسید ($C_{18:3}$)، آراشیدیک اسید ($C_{20:0}$)، بهینیک اسید ($C_{22:0}$) و اروسیک اسید ($C_{22:1}$) در نمونه G نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. در میان اسیدهای چرب شناسایی شده، اسیدهای چرب از جمله پالمتیک اسید ($C_{16:0}$) ٣٤/٥ درصد در نمونه‌ی A و ٣٤/٢٩ درصد در نمونه‌ی G و پس از آن به اولئیک اسید ($C_{18:1}$) ٢١/٧٢ درصد در نمونه‌ی A و ١٩/٧٥ درصد در نمونه‌ی G با بیشترین درصد استخراج شده اند. بهینیک اسید ($C_{22:0}$) ٠/٠٣ درصد در نمونه‌ی A (شاهد) و ٠/٠٢ درصد در نمونه‌ی G و پس از آن آندسیلیک اسید ($C_{11:0}$) ٠/٠٧ درصد در نمونه‌ی A و ٠/٠٨ درصد در نمونه‌ی G با کمترین درصد استخراج شده اند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

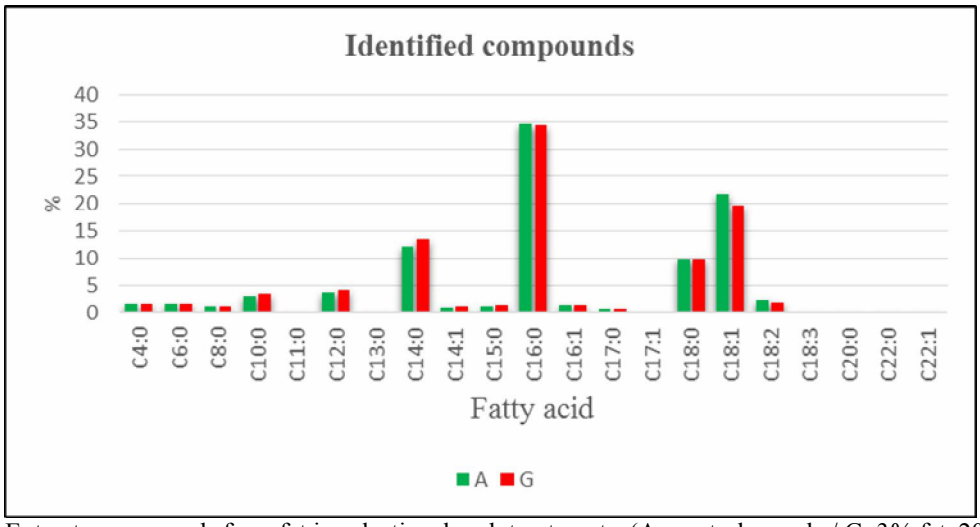

Fig 2 Extracts compounds from fat in selective dough treatments. (A: control sample / G: 3% fat, 20 ppm transglutaminase enzyme, 60 ppm lipase enzyme)

میزان اسیدهای چرب اشباع در دو نمونه بیشتر از اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در آنها می باشد. در بررسی اسیدهای چرب نمونه های انتخابی اسیدهای چرب مفید و مناسبی نظیر پالمتیک اسید ($C_{16:0}$) ، اولئیک اسید ($C_{18:0}$)، میریستیک اسید ($C_{14:0}$) و استئاریک اسید ($C_{18:0}$) شناسایی شدند و نیز کاهش ۲ درصدی از پالمتیک اسید که دارای بیشترین درصد استخراج شده از میان اسیدهای چرب بود، گزارش شد. کاهش اسید چرب اشباع موجب کاهش تری گلیسیرید و لیپو پروتئین با دانسیته پایین و نیز افزایش لیپو پروتئین با دانسیته بالا می شود. اسید چرب بلند زنجیر نسبت به سایر اسیدهای چرب غالب‌تر است که بیشترین در بین اسیدهای چرب بلند زنجیر، پالمتیک اسید و سپس اولئیک اسید و سپس میریستیک اسید و استئاریک اسید بودند. همچنین میزان افزایش در اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در تیمارها بیشتر از اسیدهای چرب متوسط زنجیر بود. تعیین شده است که اسیدهای چرب کوتاه زنجیر یک اثر مؤثر بسیار مهم بر عطر و طعم دارند [۴۳]. یکی از ترکیباتی که در طعم و عطر محصول اثر می گذارد اسید های چرب آزاد می باشد. این اسیدهای چرب بر اثر فعایت میکرارگانیسم بر روی چربی شیر بدست می آید [۴۹]. اسیدهای چرب ($C_{18:0}$) در نمونه G که از میزان لیپاز بیشتری استفاده شد در طول دوره افزایش داشت. سطح اسیدهای چرب و اسیدهای چرب فرار در نمونه ای که دارای بیشترین میزان لیپاز میکروبی بود، بالاتر تعیین گردید. که این نتایج با نتایج آیدمیر(۲۰۰۱) در نمونه پنیر سفید مطابقت دارد [۵]. به طور کلی استفاده از لیپاز میکروبی باعث افزایش محتوای چرب می‌شود که در عطر و طعم تاثیر بسزایی دارد. در تحقیقی که توسط محققان انجام شده میزان هگزادکانوئیک اسید ، تترا دکانوئیک، دو دکانوئیک اسید و دکانوییک اسید بستگی به نوع استارتر بکار رفته دارد. در این راستا، استارتر باعث افزایش این اسیدها می‌شود[۵۰]. این نتایج در توافق با گزارشات سایر محققین می باشد که فراوان ترین اسید چرب اشباع در محصولات لبنی مورد برسی اسید پالمتیک و پس از آن اسید میریستیک و استئاریک اعلام کردند. زنگین و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که اسید چرب اشباع غالب در شیر با میزان حدود ۴۰ درصد اسید پالمتیک می باشد [۵۱]. به علت سرعت کم تجزیه اسیدهای چرب بلند زنجیر C14:0، C16:0، C18:0، C18:1، C18:2 مقدار آنها افزایش می یابد. که به علت حرکت و تمایل لیپاز به جایگاه SN-1 و SN-3 تری گلیسیرید (محل قرار گیری اسیدهای چرب بلند زنجیر) است. در حالی که اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در جایگاه SN-2 تری گلیسیرید استری می شوند. در طی رسیدن پنیر تلم اسید چرب بلند زنجیر بیشتر از اسید کوتاه زنجیز گزارش شده است [۵۲]. نتایج مشابهی در پژوهش حاضر گزارش شده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

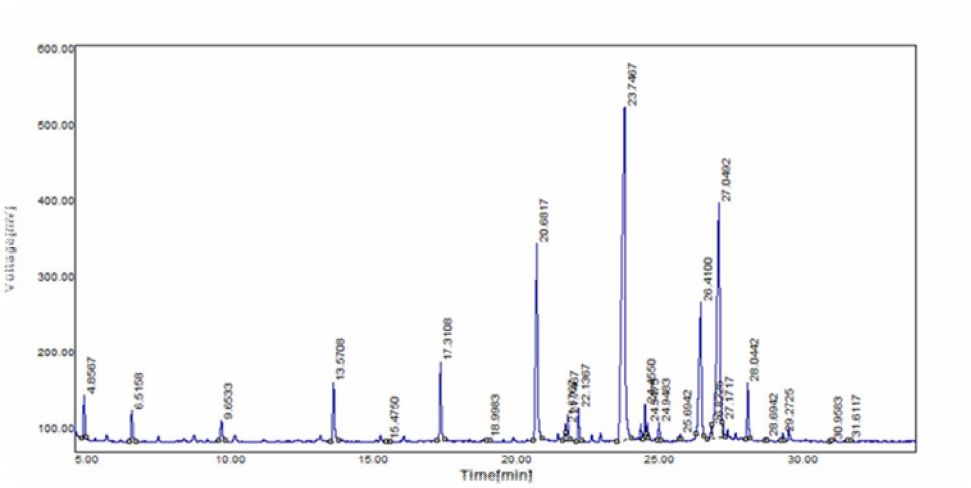

Fig 3 Chromatograms of fat compositions of sample A (control sample)

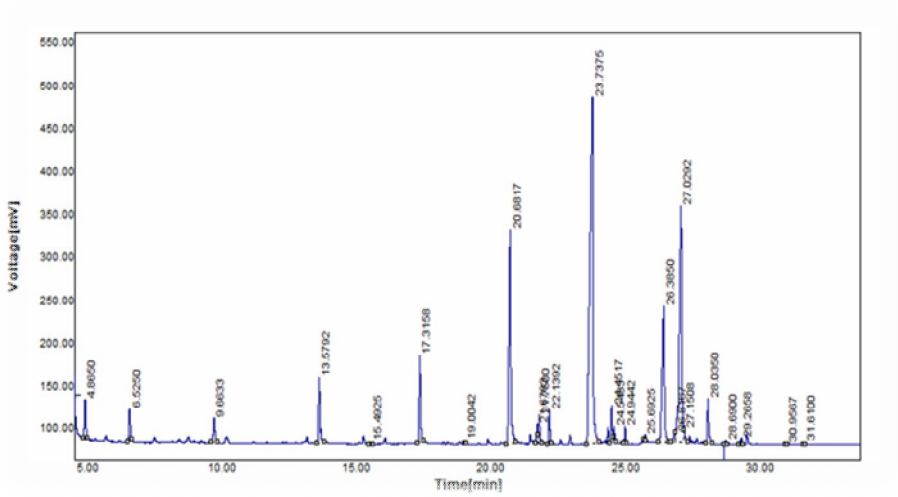

Fig 4 Chromatograms of G sample fat compositions (3% fat, 20 ppm transglutaminase enzyme, 60 ppm enzyme lipase)

۳-۵- ارزیابی حسی

نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های دوغ در جدول ۳ نشان داده شده است. در ارزیابی بو، مزه، بافت، قوام، احساس دهانی و پذیرش کلی تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های حاوی آنزیم و نمونه‌ی شاهد وجود نداشت($P \leq ۰/۰۵$). بیشترین میزان امتیاز بو در نمونه G (٤/١٤) و کمترین میزان در نمونه C (٣/٤٢)، بیشترین میزان امتیاز مزه در نمونه F (٤/٢٨) و کمترین میزان در نمونهE (٣/٧١)، بیشترین میزان امتیاز بافت (یکنواختی) نمونه E (٤/٢٨)و کمترین میزان درنمونه A (٣/٥٧)، بیشترین میزان امتیاز قوام در نمونه D (٤/١٤) و کمترین میزان در نمونه A (٣/٧١)، بیشترین میزان امتیاز احساس دهانی در نمونه F (٤/١٤) و کمترین میزان در نمونه A (٣/٢٨) و بیشترین میزان امتیاز پذیرش کلی در نمونه D (٤/١١) و کمترین میزان در نمونه A (٣/٦٤) است. اما طبق نمرات ارائه شده توسط ارزیابان، پذیرش کلی با افزایش مقدار آنزیم‌ها در دوغ افزایش یافت به طوری که بیشترین امتیاز پذیرش کلی در نمونه حاوی ٢٠ ppm آنزیم ترانس گلوتامیناز و ٦٠ ppm آنزیم لیپاز با ١/٥ درصد چربی (نمونه‌ی D) مشاهده شد. از نظر بافت نیز بیشترین امتیاز به نمونه ی D تعلق گرفت که بیانگر یکنواختی بیشتر آن بود که با نتایج حاصل از ارزیابی درصد پایداری و دانسیته که به نوعی بیانگر بافت و یکنواختی است، انطباق دارد. به لحاظ بو و مزه تفاوت معنی داری بین نمونه‌ی شاهد و نمونه‌های تیمار شده مشاهده نشد که این امر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

در واقع بیانگر این مطلب است که آنزیم‌های استفاده شده، هیچگونه تأثیر نامطلوبی بر بو و مزه‌ی نمونه‌ها نداشتند. طعم و مواد فرار در اثر فعالیت باکتری‌ها و مخمرهای موجود در دوغ ایجاد می شود. موادی مانند دی استیل، استالدئید و اتانل مسئول این طعم‌ها هستند. لاکتو باسیلوس بلگاریکوس یکی از عمده ترین باکتری‌های تولید کننده این طعم می باشد [۵۳].

Table 3 Results of treatments sensory evaluation

Treatment	Smell	Taste	Texture	Consistency	Oral sensation	General acceptance
A	3/53 [a]	3/85 [a]	3/57 [a]	3/71 [a]	3/28 [a]	3/64 [a]
B	3/71 [a]	3/90 [a]	3/68 [a]	4/08 [a]	3/57 [a]	3/85 [a]
C	3/42 [a]	4/00 [a]	4/02 [a]	4/01 [a]	3/64 [a]	4/01 [a]
D	3/71 [a]	4/28 [a]	4/28 [a]	4/14 [a]	4/01 [a]	4/11 [a]
E	3/87 [a]	3/71 [a]	4/18 [a]	3/81 [a]	3/85 [a]	3/77 [a]
F	3/98 [a]	3/98 [a]	3/89 [a]	3/91 [a]	4/14 [a]	3/91 [a]
G	4/14 [a]	4/18 [a]	3/71 [a]	3/87 [a]	4/01 [a]	4/00 [a]

A (Control), B (1.5% fat, 10 ppm transglutaminase enzyme, 30 ppm lipase enzyme), C (1.5% fat, 15 ppm transglutaminase enzyme, 45 ppm lipase enzyme), D (1.5% fat, 20 ppm transglutaminase enzyme, 60 ppm lipase enzyme), E (3% fat, 10 ppm transglutaminase enzyme, 30 ppm lipase enzyme), F (3% fat, 15 ppm transglutaminase enzyme, 45 ppm lipase enzyme), G (3% fat, 20 ppm transglutaminase enzyme, 60 ppm lipase enzyme). The numbers in the table reported to form of mean + standard deviation. The same letters indicate no significant difference($p<0/05$).

٤- نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج حاصل از این بررسی، به نظر می‌رسد کاهش اسید چرب پالمتیک در بافت چربی، خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را کاهش می دهد. افزودن آنزیم لیپاز به فرآورده مد نظر، منجر به کاهش ۲ درصدی این اسید چرب شد. به طور کلی کاهش هزینه در اثر کاهش محتوای مواد جامد غیر چرب و چرب ، افزایش ویسکوزیته توسط آنزیم ترانس گلوتامیناز و افزایش اسیدهای چرب آزاد که تاثیر مثبت بر خواص ارگانولپتیک دارند، از دلایل اصلی استفاده از این آنزیم است. عدم تفاوت معنی‌دار بین نمونه شاهد و تیمارها در ارزیابی حسی بیانگر عدم تاثیر نامطلوب بر بو و مزه تیمارها می‌باشد. همچنین تیمار حاوی بیشترین مقدار آنزیم ترانس گلوتامیناز با وجود درصد کمتر چربی، دارای بیشترین امتیاز بافت بوده که حاکی از تاثیر مناسب آنزیم بر روی بافت می باشد. از آنجایی که نوشیدنی دوغ در گروه محصولات لبنی پر مصرف در سبد غذایی خانواده‌ها قرار می‌گیرد، با استناد به پژوهش حاضراستفاده از آنزیم های نامبرده در مقادیر بسیار کم با هزینه‌های اقتصادی پایین در محصول برای حصول به تاثیرات مثبت امکان پذیر و قابل پیشنهاد است.

۵- منابع

[1] Nilsson, L., Lyck, S., Tamime, A., Y. (2006). Production of drinking products, in fermented milks. Blackwell Publishing, Oxford, Chapter 5.

[2] Koksoy, A., Kilic, M. (2003). Effects of water and salt level on rheological properties of ayran, a Turkish yogurt drink. International Dairy Journal, 13, 835- 839.

[3] Tamime, A.Y. (2006). Fermented Milks. Blackwell Science Ltd, Oxford, England.

[4] Tamine, A.Y., Robinson, R. K. (1985). Yogurt science and technology.Oxford: Pergamon Press, P. 365–373.

[5] Aydemir, S., Akin, N., Koc.ak, C. (2001). Effect of lipase enzyme on the ripening of white pickled cheese. Journal of Food Lipids, 8, 205- 213.

[6] Bylund, G. (2000). Dairy processing hand book. Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Sweden, 29- 32, 58, 59, 71, 197, 206, 210, 219, 291, 292, 365.

[7] Jooyandeh, H., Kaur, A., Minhas, K. S. (2009). Lipases in dairy industry: A review. Journal of Food Science and Technol, 46(3), 181– 189.

[8] Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H. (2000). Fundamentals of cheese science. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

[9] Neklyudov, A. D., Ivankin, A. N. (2002). Biochemical Processing of Fats and Oils As a Means of Obtaining Lipid Products with Improved Biological and Physicochemical Properties: A Review. Appllied Biochemistry and Microbiology, 38(5), 399– 409.

[10] Javitt, G., Ben-Barak-Zelas, Z., Jerabek-Willemsen, M., Fishman, A. (2017). Constitutive expression of active microbial transglutaminase in Escherichia coli and comparative characterization to a known variant, B.M.C. Biotechnology, 17, 23.

[11] Lerner. A., Neidhöfer, S., Matthias, T. (2015). Transglutaminase 2 and anti-transglutaminase2 autoantibodies in celiac disease and beyond: part A: TG2 double-edged sword: gut and extraintestinal involvement. Immunome Research, 11, 101-105.

[12] Góes-Favoni, S. P., Bueno, F. R. (2014). Microbial transglutaminase: General characteristics and performance in food processing technology. Food Biotechnology, 28(1), 1- 24.

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

[14] Pierro, P. D., Marinello, L., Sorrentino, A. (2010). Transglutaminase-induced chemical and rheological properties of cheese. Food Biotechnology 24(2), 107- 120.

[15] Steele, J. L. (1995). Contribution of lactic acid bacteria to cheese ripening, in Chemistry of structure-function relationships in cheese, edithed by Malin, E. L. & Tunick, M. H. Plenum Press, New York, USA, P. 209–220.

[16] Aston, J. W., Creamer, L.K. (1989). Contribution of the components of the water soluble fraction to the flavor of Cheddar cheese. Journal of Dairy Science Technology, 21, 229- 248.

[17] Karami, M., Ehsani, M. R., Mousavi, S. M, Rezaei, K., Safari, M. (2009). Microstructural properties of fat during the accelerated ripening of Ultrafiltered-Feta Cheese. Food Chemistry, 113, 424- 434.

[18] Karim, M., Naderi, B., Mirzaei, M. (2018). Effect of Using microbial Transglutaminase and long-chain Inulin on Physicochemical and Sensory Properties of Doogh. Food Science and Technology.79(15), 1- 10. (In Persian)

[19] Institute of standard and industrial research of Iran. (2007). Doogh- Code of practice and production. No. 10528.

[20] Institute of standard and industrial research of Iran. (1991). Determine the specific gravity of the milk (lacto-density meter method). No. 638.

[21] Institute of standard and industrial research of Iran. (2006). Milk and milk products-Determination of titrable acidity and value pH-test method. No. 2852.

[22] Institute of standard and industrial research of Iran. (2007). Butter - Determination of salt content-Test method. No. 694.

[23] Institute of standard and industrial research of Iran. (2010). Milk Determination of fat content. No. 384.

[24] Institute of standard and industrial research of Iran. (2014). Milk, cream and evaporated milk-Determination of total solids content(Reference method). No. 11328.

[25] Institute of standard and industrial research of Iran. (2008). Microbiology of milk and milk products-Specifications. No. 2406.

[26] Institute of standard and industrial research of Iran. 2011. Microbiology of food and animal feedingstuffs - preparation of test samples, initialsuspension and decimal dilutions formicrobiological examination - Part 5: specific rules for the preparation of milkand milk products No. 8923-5.

[27] Institute of standard and industrial research of Iran. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal ethod for theenumeration of coliforms-Colony-count technique No. 9263.

[28] Institute of standard and industrial research of Iran. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detectionand enumeration of coliforms-Most probable number technique. No. 11166.

[29] AmiriAghdayi, S., Alami, m. (2011). Effect of Basil Grain Mucilage on Doogh Rheology and stability characteristics. Journal of Food Science and Technology. 3(3), 17- 24. (In Persian)

[30] Institute of standard and industrial research of Iran. (2015). Animal and vegetable fats and oils-Gas chromatography of fatty acid methyl esters- Part 2:Preparation of fatty acid methyl

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

(1986). Flavor Enhancement, by Lipase Addition, of Ras Cheese Made from Reconstituted Milk. Food Chemistry, 19, 277-286.

[41] Walstra, P. (2003). Colloidal interactions In Walstra Peditor. *Physical Chemistry of Foods*, NewYork Marcel Dekker Inc, P. 437– 476.

[42] Şanli, T., Sezgin, E., Şenel, E., Benli, M. (2013). The effect of transglutaminase on some physicochemical and sensory properties of the T urkish drinking yoghurt A yran. International Journal of Dairy Technology, 66 (3), 410- 416.

[43] Gharibzahedi, S. M. T., Chronakis, I. S. (2017). Crosslinking of milk proteins by microbial transglutaminase: utilization in functional yogurt products. Food Chemistry, 245, 620- 32.

[44] Shirkhani, M., Madadlou, A., Khosrowshahi, A. (2015). Enzymatic Modification to Stabilize the Fermented Milk Drink, D oogh. Journal of Texture Studies, 46(1), 22- 33.

[45] Soleymanpori, R., Zeynali, F., Khosroshahi, A., Madadloo, A. (2014). Establish cross-links between milk and soy proteins in non fat yoghurt by the transglutaminase enzyme and the physical and chemical properties. Journal of Food Research, 24(2), 267- 278.

[46] Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G. (2003). Evidence of a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in Cheddar cheese during ripening. Journal of Dairy Research, 70(1), 105- 113.

[47] Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. International Dairy Journal, 13, 841- 866.

[48] Kosikowski, F. (1986). Cheese and fermented milk foods (2nd ed.).Brooktondale, New York: F.V. Kosikowski and Associates, 78(15), 710.

[49] Ott, A., Germond, J.E., Chaintreau, A. (2000). Vicinal diketone formation in yogurt: 13C precursors
and effect of branched-chain amino acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(3), 724- 731.

[50] Kondyli, E., Katsiari, MC. (2002). Fatty esters No. 13126-2.

[31] Institute of standard and industrial research of Iran. (2016). Animal and vegetable fats and oils-Gas chromatography of fatty acid methyl esters- Part 1: Guidelines on modern gaschromatography of fatty acid methylesters. No. 13126-1.

[32] Azari kia, F., Abbasi, S., Azizi, m. H. (2009). Comparison of the efficiency and mechanism of some hydrocolloids in the stabilization of doogh. Journal of Iranian nutrition and food industry, (1), 11- 22 (In Persian)

[33] Mohammadi, S., Abbasi, S., hamidi, z. (2010). Effects of hydrocolloids on physical stability, rheological and sensory properties of milk–orange juice mixture. Journal of Iranian nutrition and food industry. 5 (4), 12- 1(In Persian)

[34] Sagdic, O., Deonmez, M., Demirci, M. (2004). Comparison of characteristics and fatty acid profiles of traditional Turkish yayik butters produced from goats', ewes'or cows' milk. *Journal of Food Control*, 15, 485– 490.

[35] Milani, E., Koocheki, A. (2011). The effects of date syrup and guar gum on physical, rheological and sensory properties of low fat frozen yoghurt dessert. International Journal of Dairy Technology, 64(1), 121- 129.

[36] Yüksel, Z., & Erdem, Y., k. (2010). The influenc of transglutaminase treatment on functional proteins of set yogurt .International Journal of Dairy Technology, 63, 86- 97.

[37] Fadaei Noghani, V., Mofidi, A., Zarei, M. (2014). Effect of using microbial transglutaminase as a substitute for part of milkProtein concentrate on the selected physicochemical and sensory properties of spinach yoghurt., Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 9(3), 93- 100.

[38] Akın, N., Aydemir, S., Koc ak, C., Yıldız, M. A. (2003). Changes of free fatty acid contents and sensory properties of white pickled cheese during ripening. Food Chemistry, 80, 77 –83.

[39] Bedel, A., Kilic, S. (2000). The effects of starter culture and commercial enzyme on ripening of Izmir Tulum cheese. Ege Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi, 37, 73–80.

[40] Omar, M. M., E1-Zayatt, AI., Ashour, M.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

[52] Mallatou, H., Pappa, E., Massouras, T. (2003). Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes', goats', cows' or mixture of ewes' and goats' milk. International Dairy Journal, 13, 211- 219.

[53] Beshkovaa, D. M., Simovaa, E. D., Frengovaa, G. I., Simovb, Z. I., Dimitrov, Z. P. (2003). Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. International Dairy Journal, 13, 529- 535.

acid composition of raw ewe's milk of Boutsiko breed during lactation. Milchwissenschaft, 57(2), 74- 76.

[51] Zengin, G., Cakmak, YS., Guler, GO., Oguz, E., Aktumsek, A., Akin, M. (2011). The effect of pasteurization temperature on the CLA content and fatty acid composition of white pickled cheese. International Journal of Dairy Technology, 64, 509- 516.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

Evaluation of Free Fatty Acids Profiles and Stability of beneficial Doogh Produced Using Microbial Transglutaminase and Lipase Enzyme

Jokar, Sh.[1], Yazdanpanah, S. [1*]

1. Department of Food Scince and Technology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

(Received: 2018/09/30 Accepted:2020/01/20)

Doogh is a dairy drink that has a special place among the drinks in the market. The two phases of this product during storage are a major problem due to the low pH and the accumulation of caseins. Therefore, in this study, the efficacy of microbial transglutaminase (at doses of 10, 15 and 20 ppm) and lipase enzymes (at doses of 30, 45 and 60 ppm) in doogh stabilization and their effect on physicochemical, microbial, sensory and free fatty acids was investigated. To compare the mean of treatments, Duncan test was used at 5% probability level. Data analysis was done using SPSS software. The results showed that treatment with these enzymes improved the stability. The amount of unsaturated fatty acids in the control sample is higher than the treated samples. The results of sensory evaluation showed no significant difference between treated and control samples ($p > 0.05$). But overall acceptance by evaluators increased with increasing dosages of enzymes in doogh.

Key words: Dough, Transglutaminase and Lipase Enzyme, Sustainability

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-05-22]

[DOI: 10.29252/fsct.16.97.63]

* Corresponding Author E-Mail Address: yazdanpanah2004@gmail.com