اثر شرایط دمایی و زمانی مختلف بر عملکرد آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی در سویا برگر

زهرا فرقانی[1]، محمود امین‌لاری[2]، محمد هادی اسکندری[3*]، سید شهرام شکرفروش[4]

۱- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شیراز.
۲- استاد بخش بیوشیمی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شیراز.
۳- دانشیار بخش علوم صنایع غذایی دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شیراز.
٤- استاد بخش بهداشت مواد غذایی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شیراز.

(تاریخ دریافت: ٩٤/١١/١٥ تاریخ پذیرش: ٩٥/٨/١٨)

چکیده

بافت ضعیف برگرهای گیاهی یک عامل بسیار مهم در کاهش پذیرش این محصول از سوی مصرف‌کنندگان است. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی به تنهایی یا در ترکیب با سوبستراهایی چون کازئینات سدیم می‌تواند به عنوان یک بهبود دهنده‌ی بافت در محصولات پروتئینی به کار رود. هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی (٪ ٠/٧٥-٠) و کازئینات سدیم (٪ ٢-٠) در دو شرایط مختلف نگهداری خمیر (یک ساعت در ٢٥°C و یک ساعت در ٢٥°C و به دنبال آن ٢٤ ساعت در ٤°C)، بر خصوصیات بافتی، pH، محتوی رطوبت (٪) و حلالیت پروتئین (mg/mL) برگرهای گیاهی بود. نتایج نشان داد افزودن آنزیم به تنهایی یا در ترکیب با کازئینات‌سدیم به‌طور معنی‌داری سفتی، پیوستگی، صمغیت و حلالیت پروتئین را در برگر گیاهی تحت تأثیر قرار می دهد. محتوی رطوبت و pH نمونه‌هایی که شرایط نگهداری ٤°C برای ٢٤ ساعت را گذراندند کم‌تر از نمونه‌های دیگر بود ($p<0/05$). سختی و صمغیت برگرها در شرایط نگهداری ٢٤ ساعت-٤°C بهبود یافت، اما پیوستگی خمیر تحت تأثیر تیمار شرایط نگهداری قرار نگرفت. حلالیت پروتئین در نمونه‌هایی با شرایط نگهداری متفاوت، تفاوت معنی‌داری داشت، با این حال تفاوت بین حلالیت پروتئین نمونه‌های حاوی حداکثر غلظت آنزیم و کازئینات‌سدیم که زمان نگهداری ٢٤ ساعته را نگذراندند و نمونه‌هایی که دارای غلظت کم‌تر آنزیم و کازئینات‌سدیم که زمان ٢٤ ساعته نگهداری را سپری کردند، معنی‌دار نبود. در مجموع بهترین نتایج در خمیری حاصل شد که حداکثر غلظت آنزیم و کازئینات سدیم را شامل می‌شد و شرایط نگهداری ٤°C به مدت ٢٤ ساعت را طی کرده بود.

کلید واژگان: آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی، بافت، برگر گیاهی، کازئینات‌سدیم

*مسئول مکاتبات: Eskandar@shirazu.ac.ir

۱- مقدمه

در چند دهه‌ی اخیر، محققین و دست‌اندرکاران صنعت غذا پژوهش‌های گسترده‌ای را در جهت توسعه‌ی روش‌ها و محصولاتی که توانایی تغییر ویژگی‌های عملکردی[1] و تکنولوژیکی[2] ماکروملکول‌های غذا را داشته باشد، انجام داده‌اند. پروتئین یکی از اصلی‌ترین ماکروملکول‌های تشکیل‌دهنده‌ی مواد غذایی است، از این رو، ایجاد تغییرات مناسب در ساختار آن با استفاده از شیوه‌های آنزیمی و فیزیکوشیمیایی به منظور توسعه و ایجاد خواص عملکردی در محصول غذایی ازاهمیت ویژه ای برخوردار است [۱]. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی[3] یک عامل مفید و مؤثر در این زمینه است. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، همان‌طور که از نامش مشخص است، کار انتقال آسیل[4] از اسید آمینه گلوتامین (دهنده‌ی آسیل) به لیزین (پذیرنده‌ی آسیل) را انجام می‌دهد و با آمیدزدایی امکان ایجاد پیوند عرضی را بین پروتئین‌های حاوی این اسیدآمینه‌ها میسر می‌سازد [۲]. چنین واکنشی باعث تغییر در پروتئین ماده‌ی غذایی شده و به دنبال آن، بافت و پایداری محصول بهبود می‌یابد. این آنزیم می‌تواند قدرت امولسیون‌کنندگی، ایجاد ژل و ظرفیت نگهداری آب محصولات پروتئینی را بدون این‌که به طعم، رنگ و خواص تغذیه‌ای محصول آسیب بزند، بهبود بخشد [۳-۵]. تحقیقات نشان می‌دهد حضور این آنزیم در ماده‌ی غذا می‌تواند خواص تغذیه‌ای را بهبود بخشد و ایمنی بدن در برابر پاتوژن‌ها را افزایش می‌دهد [۶, ۷].

یکی از مهم‌ترین کاربردهای تجاری این آنزیم، استفاده از آن در صنعت محصولات گوشتی بازساخته [5] شده است. این آنزیم با ایجاد پیوند عرضی بین پروتئین‌ها، ثبات و ویژگی‌های مکانیکی محصول را بهبود می‌دهد، ضمن این‌که استفاده‌ی هر چه بیش‌تر از پروتئین‌های گیاهی را در گوشت‌های بازساخته ممکن می‌سازد، ظاهر و احساس دهانی محصول را به گوشت واقعی نزدیک می‌سازد[۷-۹]. استفاده از این آنزیم در بهبود خواص مکانیکی و عملکردی محصولات مختلفی از جمله ماهی تن بازساخته کم نمک [۱۰]، بتالاکتوگلوبولین و فیبریل‌های ژلاتینه [۱۱]، انواع سوسیس [۱۲, ۱۳] برگر [۱۴, ۱۵] و گوشت‌های بازساخته [۱۰, ۱۶-۲۰] نتایج امیدوارکننده‌ای را به دنبال داشته باشد. در حالی که این آنزیم در محصولات گوشتی کاربرد تجاری یافته است، تحقیقات کمی در مورد تأثیر این آنزیم در فرآورده های غذایی حاوی پروتئین‌های گیاهی انجام شده است [۱]. علی‌رغم آگاهی مصرف‌کنندگان از مضرات گوشت و فواید غذاهای گیاهی و تمایل آن‌ها به محصولات و غذاهای آماده مصرف گیاهی به جای حیوانی، این نوع محصولات به دلیل بافت ضعیف، خمیری و شکنندگی چندان مورد اقبال نبوده‌اند [۲۱, ۲۲]. با توجه به سابقه‌ی استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در بهبود خواص مکانیکی محصولات پروتئینی به نظر می‌رسد این آنزیم بتواند اثرات مؤثری در بهبود کیفیت و ساختار برگر گیاهی داشته باشد. از آن‌جایی که کازئین یکی از بهترین سوبستراها برای آنزیم ترانس‌گلوتامیناز است [۱۶]، در این پژوهش آنزیم در کنار کازئینات سدیم در بهینه‌سازی فرمولاسیون خمیر برگر گیاهی به کار رفته است. از سوی دیگر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز برای فعالیت به زمان نیاز دارد. حداکثر فعالیت این آنزیم در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتیگراد اتفاق می‌افتد [۲۳]. هر چه دما کاهش یابد فعالیت آنزیم کم‌تر می‌شود. عموما در پژوهش‌های پیشین ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه‌ی سانتیگراد برای رسیدن به حداکثر فعالیت آنزیم توصیه شده است [۲۴, ۲۵]، در پژوهش حاضر ،تاثیر دو شرایط دما-زمانی نگهداری خمیر

1. Functional
2. Technological
3. Microbial transglutaminase (MTGase; protein-glutamine gamma-glutamyltransferase, EC 2.3.2.13)
4. Acyl
5. Rrestructuring of meat products

برگر (١- یک ساعت در دمای ٢٥ درجه سلسیوس؛ ٢- یک ساعت در دمای ٢٥ درجه سلسیوس و به دنبال آن ٢٤ ساعت نگه‌داری در یخچال) برای درک ضرورت و میزان تأثیر زمان نگهداری ٢٤ ساعته بر ویژگی‌های بحرانی خمیر با یکدیگر مقایسه می‌شوند. لذا هدف از این پژوهش بررسی اثر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز/کازئینات سدیم بر ویژگی‌های بافتی، حلالیت پروتئین، میزان رطوبت، و pH برگر گیاهی در دو شرایط مختلف نگهداری خمیر و مقایسه فرمولاسیون‌های مختلف در این شرایط زما-دمایی متفاوت، است.

٢- مواد و روش‌ها

٢-١- مواد

سویای بافت‌دار[6] (Sonic Co.، هند)، ادویه (Meat Cracks، آلمان)، کاراگینان و زانتان (BLG، چین)، کازئینات‌سدیم (شرکت لبنیات پگاه فارس، شیراز، ایران)، گلوتن، روغن سویای هیدروژنه، پیاز، زردچوبه، بیکینگ پودر(بازار محلی شیراز، ایران) و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (Ajinomoto Co، ژاپن) تهیه شدند.

٢-٢- روش‌ها

روش تهیه برگر گیاهی

سویای بافت‌دار و سویای معمولی به صورت جداگانه به مدت ده دقیقه در آب خیس شدند. روغن هیدروژنه (١٣٪) با سویای خیس شده (٤٠٪) و پیاز (٢٠٪) ترکیب و توسط چرخ گوشت (مدل GMT-05 B2 شرکت پارس خزر، تهران، ایران) با پنجره ٥ میلی‌متری چرخ شد. مواد پودری شامل آرد سوخاری، آرد گندم، گلوتن، و نشاسته (١٤٪)، نمک (١/٥٪)، بیکینگ پودر (١/٣٥٪)، ادویه (٢٪) صمغ زانتان و کاراگینان (هر کدام ٠/٧ ٪) به سویای چرخ شده اضافه و برای ١٠ دقیقه مخلوط شد (این فرمول در نمونه‌های کنترل توسط آب و در سایر نمونه‌ها با محلول کازئینات سدیم و آنزیم به ١٠٠ گرم رسانده شد). سپس ترکیب نهایی به ١٢ قسمت مساوی تقسیم و هر بخش به یک تیمار اختصاص داده شد. محلول آنزیم مطابق دستورالعمل شرکت Ajinomoto تهیه شد (آنزیم تجاری محتوی یک درصد آنزیم و ٩٩ درصد مالتودکسترین با فعالیت ٩٦ واحد/گرم بود). محلول آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (در چهار سطح صفر، ٠/٢٥، ٠/٥ و ٠/٧٥ درصد) و کازئینات‌سدیم (در سه سطح؛ صفر، ١ و ٢ درصد) مطابق تیمارهای تعریف شده به خمیر اضافه و برای ٣ دقیقه با دست مخلوط شد. قسمت‌های ١٠٠ گرمی از خمیر با ماشین برگرساز شکل داده شد. سپس برگرها به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول در دمای اتاق به مدت ١ ساعت ذخیره شدند (برای انجام فعالیت آنزیم) و بعد از آن کلیه‌ی آزمون‌ها روی آن انجام شد. نمونه های گروه دوم در کیسه‌های پلی‌اتین/پلی‌آمید[7] به ضخامت ٧٥ میکرون منتقل شدند و به مدت ٢٤ ساعت در دمای یخچال (٤ درجه‌ی سلسیوس) نگهداری و بعد از آن کلیه‌ی آزمون‌ها روی خمیر انجام شد.

٢-٣- اندازه‌گیری رطوبت

اندازه‌گیری میزان رطوبت طبق استاندارد ملی ایران شماره ٧٤٥ انجام شد (٢٦). ٥-٣ گرم نمونه در پلیت و در دمای ١٠٥ درجه‌ی سلسیوس به مدت ٥ ساعت حرارت داده شد و بر اساس معادله‌ی زیر درصد رطوبت محاسبه گردید.

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{\text{وزن نمونه پیش از خشک شدن} - \text{وزن نمونه پس از خشک شدن}}{\text{وزن نمونه پیش از خشک شدن}} \times ١٠٠$$

٢-٤- اندازه‌گیری pH

برای تعیین pH نمونه‌های برگر تیمار شده و نگهداری شده به مدت یک ساعت (گروه اول) و یا نگهداری شده به مدت ٢٤

6. Textured soy protein (TSP)

7. PE/PA (Polyethylene/Polyamide)

ساعت (گروه دوم) از pH متر پرتابل(مدل CG 824 آلمان) استفاده گردید و میانگین سه بار اندازه‌گیری یادداشت شد. برای این‌کار سوسپانسیون ۱۰ درصد (وزنی/حجمی) هر نمونه در آب مقطر تهیه شد [۲۷].

۲-۵- اندازه‌گیری حلالیت پروتئین

شاخص حلالیت پروتئین [۸] مطابق شیوه‌ی AACC 46-24 با کمی تغییرات انجام گرفت. ده گرم خمیر از هر نمونه با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و در بلندر یکدست شد و سپس در سانتریفوژ (مدل Friolabo- SW14R، ساخت فرانسه) با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه‌ی سلسیوس و به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. غلظت پروتئین در محلول رویی با استفاده از آزمون برادفورد (BioRad, Hercules, CA) و توسط اسپکتروفوتومتر مدل MSE ساخت انگلستان در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری شد [۲۸].

۲-٦- آنالیز بافت

تأثیر آنزیم و کازئینات‌سدیم روی بافت برگر گیاهی با استفاده از دستگاه آنالیز بافت (بروکفیلد مدل CT3، انگلستان) در دو بازه دما-زمانی (۲۵درجه‌ی سلسیوس- ۱ساعت، ۲۵درجه‌ی سلسیوس- ۱ساعت و به دنبال آن ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه‌ی سلسیوس) مورد بررسی قرار گرفت. برگرهای خام به مکعب‌های ۱× ۱ × ۱ سانتی‌متری برش زده شدند. برگرها تا ۷۰٪ ارتفاع اولیه‌شان و تحت فشار قرار گرفتند. آزمون فشاری طی دو سیکل و با فاصله‌ی ۲ ثانیه انجام گرفت. از پروب استوانه‌ای (پروب TA25/1000 با قطر ۵۰/۸ میلی‌متر) با سرعت ۲۰ سانتی‌متر در دقیقه در نظر گرفته شد. سختی[۹] (حداکثر نیروی لازم در اولین فشار دستگاه: گرم) پیوستگی[۱۰] (نسبت سطح زیر نمودار فاصله-نیروی طی فشردگی اول و دوم: بدون مقیاس) و میزان صمغی[۱۱] بودن (سختی× پیوستگی) اندازه‌گیری شد. نه تکرار برای هر تیمار اندازه‌گیری شد. ظرفیت بارسنج[۱۲] در نظر گرفته شده ۲۵۰ نیوتن بود [۱۷ ,۱٤].

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

آزمون در قالب طرح پایه‌ی کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها و بر اساس آنالیز واریانس توسط نرم‌افزار Minitab 17 (Minitab Inc, State College, PA, USA) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون توکی و در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p\leq$۰/۰۵) انجام گرفت..

۳- نتایج و بحث

۳-۱- رطوبت

بررسی اثر آنزیم و کازئینات سدیم بر میزان رطوبت محصول هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱). دژانگ و کپلمان (۲۰۰۲) در پژوهشی که کاربرد آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی را در مواد غذایی مختلف بررسی کردند، بیان داشتند که آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی قادر نیست در مدت زمان یک ساعت تغییر محسوسی در میزان رطوبت نمونه‌ها ایجاد نماید [۲۹]. با این حال ۲٤ ساعت نگهداریبرگرها در دمای یخچال باعث کاهش اندک اما معنی‌دار میزان رطوبت محصول شد، که این امر را می‌توان به تبخیر آب از برگرها در طول زمان نسبت داد. بعد از ۲٤ ساعت نگهداری با این‌که نمونه‌های حاوی آنزیم و کازئین رطوبت بیش‌تری داشتند اما این اختلاف رطوبت در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود (جدول ۱).

8. Protein solubility index (PSI)
9. Hardness
10. Cohosiveness
11. Gumminess
12. Load cell capacity

جدول ١ بررسی اثر متقابل شرایط نگهداری، آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر میزان رطوبت سویا برگر

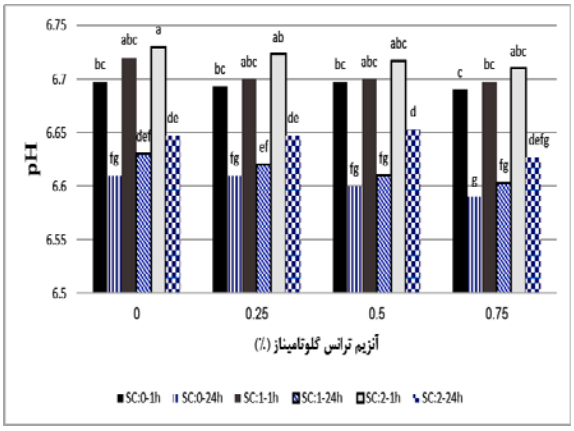
MTGase (٪)	SC (٠٪)		SC (١٪)		SC (٢٪)	
	شرایط ١	شرایط ٢	شرایط ١	شرایط ٢	شرایط ١	شرایط ٢
٠	٥٠/٣٨±٠/٦٤^{A}	٤٥/٧٥±٠/٢٦^{B}	٥٠/٥٩±٠/٤٩^{A}	٤٥/٨١±٠/١٨^{B}	٥٠/٦٤±٠/٤٠^{A}	٤٥/٨٧±٠/١٤^{B}
٠/٢٥	٥٠/٧٠±٠/٣٧^{A}	٤٥/٩٥±٠/١٣^{B}	٥٠/٩٩±٠/٢٠^{A}	٤٦/١٨±٠/٠٢^{B}	٥١/٠٥±٠/٣٧^{A}	٤٦/٢٧±٠/٠٥^{B}
٠/٥	٥٠/٩٣±٠/٢٢^{A}	٤٥/٩٣±٠/٠٨^{B}	٥١/٠٢±٠/٢٧^{A}	٤٦/٢٠±٠/٠٢^{B}	٥١/٠٦±٠/٣٦^{A}	٤٦/٢٧±٠/٠٣^{B}
٠/٧٥	٥٠/٩٥±٠/٠٧^{A}	٤٦/٠٧±٠/٠٦٤^{B}	٥١/٠٦±٠/٣٠^{A}	٤٦/٢٠±٠/٠٥^{B}	٥١/٠٧±٠/٣٩^{A}	٤٦/٣١±٠/٠٢^{B}

*حروف مشترک در هر خصوصیت بافتی به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین داده‌هاست (به منظور امکان مقایسه بهتر اثر متقابل هر سه تیمار آنزیم، کازئین و شرایط نگهداری بررسی شده است.

MTGase: آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، SC: کازئینات سدیم. شرایط ١: نگهداری برگرها در دمای محیط و به مدت ١ ساعت. شرایط ٢: نگهداری در دمای محیط به مدت ١ ساعت + ٢٤ ساعت زمان نگهداری در دمای یخچال

pH -٢-٣

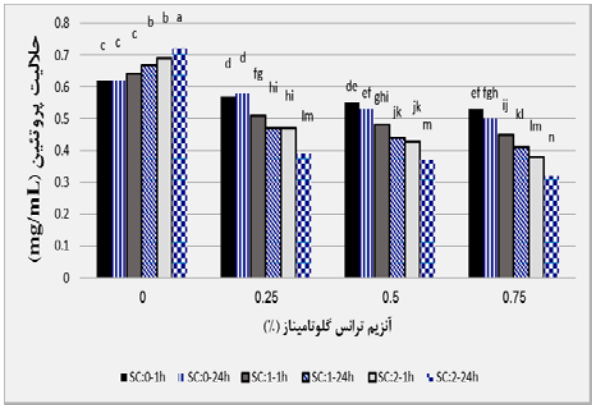
بررسی اثر ساده (یک‌طرفه) افزودن کازئینات سدیم به نمونه‌ها نشان داد، این تیمار می‌تواند اثر معنی‌داری بر pH سویا برگرها داشته باشد. به طوری که استفاده از غلظت ١ و ٢ درصد کازئینات سدیم در فرمولاسیون برگرها باعث افزایش معنی‌دار pH شد (برگرهای فاقد کازئینات‌سدیم: ٦/٦٤، برگر حاوی ١٪ کازئینات‌سدیم: ٦/٦٦، و برگر حاوی ٢٪ کازئینات‌سدیم: ٦/٦٨). پایتراسیک و همکاران در سال ٢٠٠٧، گزارش کردند زمانی که ٢٪ کازئینات‌سدیم به ژل گوشت خوک افزوده می‌شود باعث افزایش معنی‌دار pH ژل می‌شود. این پژوهش‌گران علت این امر را pH بالاتر محلول ١ درصد کازئینات‌سدیم (٦/٨) عنوان کردند، که از pH ژل گوشتی بیش‌تر بود. به نظر می‌رسد در این پژوهش نیز چنین عاملی در pH بیشتر نمونه‌های حاوی محلول ١ و ٢ درصد کازئینات‌سدیم دخیل بوده است. با این حال افزودن غلظت‌های ٠/٥ و ٠/٧٥ ٪ آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی به طور معنی‌داری از میزان pH محصول کاست. پایتراسیک و همکاران (٢٠٠٧)، افزودن غلظت ٠/٦ ٪ آنزیم را بر افزایش pH محصول بی‌تأثیر دانستند [٣٠]. با این حال در این پژوهش افزودن ٠/٥ درصد آنزیم نیز باعث کاهش اندک اما معنی‌دار pH محصول شد. طبیعت متفاوت و طبیعتا قدرت بافری متفاوت دو نوع پروتئین (گوشت خوک و پروتئیهای موجود در فرمولاسیون برگر گیاهی) می‌تواند دلیل تناقض بین نتایج این دو پژوهش باشد. همچنین ترس‌پالاشس و پلا، ٢٠٠٧ نیز بیان داشتند حضور آنزیم به میزان اندکی باعث کاهش pH ژل گوشت مرغ می‌شود [٣١] به دلیل اثرات متفاوت کازئینات‌سدیم و آنزیم بر pH محصول اثر متقابل آن‌ها روند مشخصی را دنبال نمی‌کرد (شکل ١). با این حال گذشت زمان باعث کاهش ملایم اما معنی‌دار pH محصول در تمام تیمارها شد (نگهداری در دمای محیط به مدت ١ ساعت: ٦/٧١، ٢٤ ساعت نگهداری در یخچال: ٦/٦٢). یکی از دلایل این کاهش میزان pH را می‌توان به احتمال رشد باکتری‌های سرماگرا نسبت داد. بررسی دقیق‌تر تأثیر هر سه تیمار آنزیم، کازئینات‌سدیم و شرایط نگهداری در شکل ١ ارائه شده است.



شکل ١ بررسی اثر شرایط نگهداری، آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و کازئینات سدیم بر میزان pH برگر گیاهی. SC:0,1,2-1h: افزودن کازئینات سدیم در شرایط نگهداری ١ ساعت در دمای محیط (عدد اول بیانگر درصد کازئینات سدیم است، SC:0,1,2-24h: اثر افزودن کازئینات سدیم بعد از ٢٤ ساعت نگهداری در دمای یخچال). حروف مشترک در بالای ستون‌ها نشانه‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین داده‌هاست.

۳-۳- حلالیت پروتئین

نتایج افزودن کازئینات سدیم و آنزیم در شرایط مختلف بر میزان حلالیت پروتئین های تیمارها در شکل ۲ نمایش داده شده است. نتایج نشان داد افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز به فرمولاسیون (به ویژه غلظت ۰/۷۵ ٪) میزان حلالیت پروتئین را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. کاهش حلالیت پروتئین در حضور آنزیم را می‌توان به دلیل تشکیل باندهای کووالانی غیرسولفیدی نسبت داد که در حضور آنزیم (به تنهایی یا در ترکیب با کازئینات‌سدیم) تشکیل این پیوندها ترغیب و افزایش می‌یابد [۳۲]. افزایش غلظت آنزیم همواره اثر کاهندگی بر میزان حلالیت پروتئین ندارد، برای مثال هو و همکاران (۲۰۱۵) بیان داشتند که افزودن ۰/٦ units/g آنزیم تأثیر منفی بر تشکیل پیوندهای کووالان غیر سولفیدی در خمیر ماهی می‌گذارد [۳۲]. با این حال چنین نتایجی در پژوهش حاضر مشاهده نشد، به طوری که کم‌ترین حلالیت مربوط به نمونه‌های حاوی ۰/۷۵ آنزیم بود. این تناقض را می‌توان به تفاوت در ماهیت دو پروتئین و به عبارتی فرمولاسیون متفاوت دو محصول نسبت داد.



شکل ۲ بررسی اثر شرایط نگهداری، آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و کازئینات‌سدیم بر میزان حلالیت پروتئین سویا برگر. SC:0,1,2-1h: افزودن کازئینات‌سدیم در شرایط نگهداری ۱ ساعت در دمای محیط (عدد اول بیانگر درصد کازئینات‌سدیم است، SC:0,1,2-24h: اثر افزودن کازئینات‌سدیم بعد از ۲٤ ساعت نگهداری در دمای یخچال). حروف مشترک در بالای ستون‌ها نشانه‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین داده‌هاست.

همان‌طور که شکل ۲ نشان می‌دهد، حلالیت پروتئین در نمونه‌ای که فاقد آنزیم است با افزایش درصد کازئینات سدیم به ویژه بعد از نگهداری ۲٤ ساعته در یخچال افزایش می‌یابد. در حالی که حلالیت زمانی که از ترکیب آنزیم در کنار کازئین استفاده می‌شود به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. زمانی که از کازئین به تنهایی در فرمولاسیون استفاده می‌شود حلالیت به دلیل افزایش میزان پروتئین فرمولاسیون افزایش می‌یابد [۳۳]. لازم به ذکر است میزان پروتئین در نمونه‌های حاوی ۲ درصد کازئین (با یا بدون آنزیم) به طور میانگین ۱٤/۷ درصد بود (نتایج در این پژوهش به طور کامل گزارش نشد) که به طور معنی‌داری بیش از نمونه‌های فاقد کازئین بود (میزان پروتئین نمونه شاهد ۱۲/٤٥٪ و نمونه‌ی فاقد کازئین که حاوی ۰/۷۵ درصد آنزیم، ۱۲/٦۲ ٪ بود)، اما زمانی که کازئین در کنار آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در فرمولاسیون به کار گرفته می‌شود ازآن‌جایی که کازئینات‌سدیم سوبسترای مناسبی برای آنزیم ترانس‌گلوتامیناز است [۵, ۱٦]، بین ملکول‌های پروتئین پیوند عرضی زیادی برقرار می‌شود و پلیمرهای پپتیدی بزرگی تشکیل می‌شود که حلالیت پروتئین را کاهش می‌دهد [۳۳]. هم‌چنین پژوهش‌ها نشان داده است زمانی که کازئینات‌سدیم در کنار آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به کار گرفته می‌شود آبگریزی سطحی افزایش و بنابراین حلالیت کاهش می‌یابد [۳٤]. نکته جالب توجه در نتایج این بود که حضور بالاترین غلظت کازئینات‌سدیم (۲٪) در کنار سطح ۰/۷۵ درصد آنزیم توانسته است اثری معادل غلظت ۰/۵ ٪ آنزیم و ۲ درصد کازئینات‌سدیم بعد از ۲٤ ساعت نگهداری در یخچال داشته باشد. هر چه بتوان از زمان نگهداری آنزیم کاست، می‌توان حجم تولید را بیش‌تر و متعاقبا سوددهی را افزایش داد. بنابراین به نظر می‌رسد بتوان با دستکاری مناسب فرمولاسیون بتوان در زمان کوتاه‌تری به نتایج مورد نظر رسید. بنابراین بهینه‌سازی فرمولاسیون باید موازی با بهینه‌سازی شرایط دمایی و زمانی نگهداری خمیر در نظر گرفته شود، تا در نهایت با رسیدن به مناسب‌ترین زمان نگهداری بتوان بازدهی تولید را نیز بهبود بخشید که نیاز است این موضوع مورد پژوهش دقیق قرار گیرد.

۳-٤- آنالیز بافت خمیر سویا برگر

یکی از مشکلات برگرهای گیاهی بافت ضعیف خمیری ونرم آن است [۲۱, ۲۲]. جدول ۲ تأثیر شرایط نگهداری، آنزیم و کازئینات‌سدیم بر ویژگی‌های بافتی [13] سوبا برگر را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است، افزودن آنزیم به تنهایی یا در کنار کازئینات‌سدیم می‌تواند سفتی، پیوستگی و حالت

13. texture profile analysis (TPA)

صمغیت بافت برگرهای گیاهی را افزایش دهد ($p<0/05$). میزان بهبود شرایط بافتی محصول، با افزایش غلظت کازئین و آنزیم افزایش می‌یابد. به طوری که بیش‌ترین میزان سختی بافت در نمونه‌ی برگر ۲٪ کازئینات‌سدیم، ۰/۷۵ درصد آنزیم و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری خمیر به دست آمد (۲۷۷۷/۳g). بیش‌ترین میزان صمغیت و پیوستگی نیز در شرایط مشابه حاصل شد و به ترتیب ۰/۵۲ و ۷۱۲/۵۵ بود. به عبارتی آنزیم و کازئین در کنار هم اثر هم‌افزایی دارند. در سال‌های اخیر اثر بهبودبخشی آنزیم در کنار سوبستراهایی هم‌چون کازئینات‌سدیم بر بافت محصولات گوشتی بازساخته شده متعددی گزارش شده است [۴, ۱۱, ۱۶, ۱۸, ۳۲, ۳۵]. در حقیقت تشکیل تجمعات پلیمری بزرگ از پروتئین ناشی از پیوند عرضی بین ملکول‌های پروتئین که توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز کاتالیز می‌شود مهم‌ترین دلیل بهبود بافت و افزایش سفتی برگرهای گیاهی است [۲۹, ۳۶]. هم‌چنین گزارش شده است، آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با تشکیل یک شبکه پروتئینی منسجم و محکم ذرات گرانولی نشاسته را در خود جای دهد، به این ترتیب تورم بیش از حد گرانول‌های نشاسته جلوگیری می‌شود و به این ترتیب بافت محصول بهبود می‌یابد و جلوی خمیری و نرم شدن آن گرفته می‌شود [۳۷, ۳۸]. به علاوه قابلیت تشکیل ژل پروتئین سویا نیز در حضور آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تشدید می‌شود که این امر نیز به بهبود بافت محصول کمک می‌کند [۳۷]. زمانی که کازئینات‌سدیم به تنهایی و بدون آنزیم به فرمولاسیون برگر افزوده شد نیز صمغیت و سفتی برگرها بهبود یافت. کازئینات‌سدیم نیز یک ماده پرکننده و امولسیفایر مناسب است و می‌تواند با اتصال چربی و آب بافت بهتری را به محصول بدهد [۳۳].

جدول ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف آنزیم و کازئینات‌سدیم در دو شرایط دما-زمانی نگهداری بر روی ویژگی‌های بافتی سویا برگر

MTGase (٪)	SC (٪۰)		SC (٪۱)		SC (٪۲)	
	شرایط ۱	شرایط ۲	شرایط ۱	شرایط ۲	شرایط ۱	شرایط ۲
			سختی (g)			
۰	۳۳۵/۷۷±۱/۱۳^{A}	۴۴۶/۹۴±۹/۱۴^{E}	۴۱۰/۳۷±۹/۶۲^{I}	۴۶۶/۲±۱/۹۶^{L}	۴۶۶/۴۶±۲/۵۲^{O}	۱۳۷۳/۹±۰/۵۳^{R}
۰/۲۵	۴۸۱/۹۹±۱/۳۹^{B}	۱۴۷۱/۵±۱/۶^{F}	۵۰۷/۱۴±۰/۱۳^{D}	۱۵۷۱/۵±۰/۱^{G}	۸۱۲/۴۲±۰/۱۵۴^{P}	۱۹۲۹/۷±۰/۹۳۰^{S}
۰/۵	۴۹۲/۹۳±۲/۵۹^{C}	۱۵۶۲/۹۳±۰/۹۲^{G}	۶۹۷/۲۲±۰/۵۵^{J}	۱۷۰۹/۵±۰/۵۹^{M}	۹۷۵/۷۲±۱/۶۵^{Q}	۲۲۲۸/۱±۰/۲۰^{T}
۰/۷۵	۵۰۰/۸۳±۱/۲۲^{CD}	۱۶۰۳/۵±۵/۸۹^{H}	۹۱۰/۱۲±۰/۱۲^{K}	۲۱۰۱/۳±۰/۷۳^{N}	۱۳۴۲/۰۰±۰/۱۳^{L}	۲۷۷۷/۳±۰/۲۸^{U}
			پیوستگی			
۰	۰/۳۷±۰/۰۱^{A}	۰/۳۹±۰/۰۱^{E}	۰/۴۱±۰/۰۱^{DE}	۰/۴۳±۰/۰۰۶^{BCD}	۰/۴۱±۰/۰۰۶^{BDE}	۰/۴۳±۰/۰۲^{BCD}
۰/۲۵	۰/۴۲±۰/۰۱^{BDE}	۰/۴۳±۰/۰۱^{BCD}	۰/۴۵±۰/۰۰۶^{CF}	۰/۴۷±۰/۰۱^{FGH}	۰/۴۹±۰/۰۱^{HIJK}	۰/۴۸۷±۰/۰۰۶^{HIJ}
۰/۵	۰/۴۳۶±۰/۰۱^{BC}	۰/۴۴±۰/۰۱^{CFG}	۰/۴۷±۰/۰۱^{FGH}	۰/۴۸±۰/۰۰۶^{GHJ}	۰/۵۰±۰/۰۰۶^{IJKL}	۰/۵۱±۰/۰۱^{IKL}
۰/۷۵	۰/۴۴±۰/۰۱^{C}	۰/۴۶±۰/۰۱^{BC}	۰/۴۹±۰/۰۰۶^{HIJ}	۰/۵۰±۰/۰۰۶^{IJKL}	۰/۵۱±۰/۰۰۶^{KL}	۰/۵۲±۰/۰۱^{L}
			صمغیت بافت			
۰	۱۵۳/۱۵±۱/۰۳^{A}	۳۶۰/۶۲±۱/۳۵^{E}	۱۷۰/۲۶±۰/۲۱^{I}	۴۰۲/۷۸±۲/۳۱^{D}	۱۹۹/۱۰±۰/۲^{B}	۴۸۲/۴۳±۱/۰۶^{H}
۰/۲۵	۲۰۸/۵۷±۰/۳۷^{B}	۴۴۰/۶۰±۱/۵۲^{F}	۲۵۱/۹۱±۱/۶۴^{C}	۵۵۳/۱۰±۶/۳۴^{L}	۳۲۲/۱۵±۰/۱۸^{K}	۵۵۳/۷۸±۶/۷^{L}
۰/۵	۲۴۰/۴۰±۰/۳۴^{C}	۴۶۳/۸۴±۲/۰۵^{G}	۲۷۸/۷۷±۲/۹۸^{J}	۵۵۳/۵۴±۱/۰۴^{L}	۳۵۷/۹۲±۲/۵۰^{E}	۶۴۴/۹۵±۱/۲۱^{M}
۰/۷۵	۲۷۱/۳۰±۳/۲۸^{D}	۴۷۱/۲۱±۱۵/۲۴^{GH}	۳۱۴/۲۸±۱۰/۰۰^{K}	۵۵۹/۵۸±۴/۱۸^{L}	۳۶۸/۹۹±۱/۲۷^{E}	۷۱۲/۵۵±۵/۱۵^{N}

*حروف مشترک در هر خصوصیت بافتی به معنی عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین داده‌هاست (به منظور امکان مقایسه بهتر اثر متقابل هر سه تیمار آنزیم، کازئین و شرایط نگهداری بررسی شده است.

MTGase: آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، SC: کازئینات‌سدیم. شرایط ۱: نگهداری برگرها در دمای محیط و به مدت ۱ ساعت. شرایط ۲: نگهداری در دمای محیط به مدت ۱ ساعت + ۲۴ ساعت زمان نگهداری در دمای یخچال

تأثیر نگهداری ۲٤ ساعته‌ی خمیر برگر را بر خصوصیت بافتی محصول نمی‌توان نادیده گرفت. حتی نگهداری دادن به برگر گیاهی فاقد آنزیم و کازئین نیز سفتی محصول را به طور معنی‌داری افزایش داد. زمانی که از کازئینات‌سدیم بدون حضور آنزیم در فرمولاسیون استفاده شد غلظت ۱ درصد آن سفتی قابل توجهی به محصول نداد. با این حال افزودن ۲ درصد کازئینات‌سدیم و زمان نگهداری ۲٤ ساعته به محصول سفتی معادل افزودن ۰/۷۵ آنزیم + ۲٪ کازئینات سدیم و بدون زمان نگهداری داد. در مورد پیوستگی محصول باید گفت افزودن کازئینات‌سدیم بدون حضور آنزیم هیچ تأثیر معنی‌داری بر پیوستگی محصول نداشته است. تأثیر زمان بر پیوستگی نیز به میزان تأثیر این فاکتور بر سختی و صمغیت بافت نبود به طوری که در شرایط زمان در هیچ یک از غلظت‌های کازئینات‌سدیم و آنزیم تأثیر معنی‌داری بر پیوستگی نداشته است (مقایسه شرایط ۱ و ۲ در غلظت‌های مختلف آنزیم و کازئین در جدول ۲). زمان بر روی صمغیت بافت نیز تأثیر معنی‌داری دارد. برای مثال زمانی که از غلظت ۲ درصد کازئینات‌سدیم و ۰/۲۵ درصد آنزیم در فرمولاسیون استفاده شد و به خمیر ۲٤ ساعت فرصت نگهداری در دمای یخچال داده شد میزان صمغیت بافت تقریبا معادل زمانی بود که از غلظت ۱٪ کازئینات‌سدیم + ۰/۷۵ آنزیم استفاده شد، اما به خمیر زمان نگهداری ۲٤ ساعته داده نشد. نتایج حاکی از این است که زمان نگهداری در رسیدن به بافت مطلوب برگرها حائز اهمیت است. با این حال به نظر می‌رسد شاید بتوان فرمولاسیون و دما و زمان نگهداری را به نحوی طراحی و بهینه‌سازی کرد که در صورت لزوم بتوان در زمان کم‌تر به بافت مطلوب و مورد نظر دست یافت. با این حال تحقیقات اندکی در این زمینه صورت گرفته است. یکی از برجسته‌ترین این پژوهش‌ها توسط مارتلو و همکاران (۲۰۱٦) روی ماهی تن سفید صورت گرفته است. این محققین سه شرایط نگهداری مختلف شامل ۱۲ ساعت در ٤ درجه‌ی سلسیوس، ۲ ساعت در ۲۵ درجه‌ی سلسیوس و ۲۰ دقیقه در ٤۰ درجه‌ی سلسیوس بود. نتایج حاکی از آن بود که بازه‌ی زمانی ۱۲ ساعت در دمای ٤ درجه‌ی سلسیوس بهترین شرایط بافتی و کیفی را برای ماهی تن بازساخته، فراهم کرد. این محققین بعد از آن ٦، ۱۲ و ۱۸ ساعت در دمای ٤ درجه را با غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ٤۵۰ *Units/kg* مورد آزمون قرار دادند و در نهایت زمان ۱۸ ساعت و ٤ درجه و ٤۵۰ واحد آنزیم را بهترین شرایط تولید ماهی تن بازساخته شده عنوان کردند [۱۰]. به نظر می‌رسد بهینه‌سازی همزمان دما و زمان بتواند نقش مهمی در ارائه بهترین و اقتصادیترین فرمولاسیون داشته باشد. برای مثال زمانی که نیاز است برگرها سریعا پخته و به مصرف برسند استفاده از غلظت بالاتر آنزیم و کازئینات‌سدیم (به ترتیب ۰/۷۵٪ و ۲٪) در بازه‌ی زمانی ۱ ساعت بتواند بافت نسبتاً مطلوب خمیر سویابرگر را ایجاد کند، با این حال در مواقعی که بین زمان تولید و مصرف فاصله می‌افتد (مثلا زمانی که محصول یک یا دو روز بعد از تولید عرضه می شود) می‌توان از درصدهای کم‌تر آنزیم و کازئینات‌سدیم بهره برد تا زمان نگهداری بافت مطلوب را به برگرها بدهد.

٤- نتیجه‌گیری

حضور آنزیم ترانس گلوتامیناز به تنهایی یا در ترکیب با کازئینات‌سدیم بدون این‌که تأثیر معنی‌داری بر pH محصول داشته باشد، با ایجاد پیوند عرضی میان ملکول‌های پروتئین و تشکیل یک شبکه‌ی منسجم و بزرگ پروتئینی توانست حلالیت پروتئین را کاهش دهد و به این ترتیب موجب بهبود خصوصیات بافتی نمونه های سویا برگر شود. نکته‌ی حائز اهمیت به ویژه در بحث سختی و صمغیت محصول اثر انکارناپذیر و معنی‌دار زمان نگهداری بود. برگرهایی که تنها ۱ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس به منظور نمایش فعالیت آنزیم نگهداری کرده‌بودند، به طور معنی‌دار بافت ضعیف‌تری را داشتند. با این حال فرمولاسیون‌هایی با میزان آنزیم و کازئینات‌سدیم بیش‌تر توانستند بدون گذراندن زمان نگهداری ۲٤ ساعته بافتی معادل برگرهایی با آنزیم کم‌تر اما زمان نگهداری طولانی داشته باشند. به نظر می‌رسد بهینه‌سازی همزمان فرمولاسیون و زمان نگهداری بتواند بهترین و اقتصادی‌ترین فرمولاسیون را ارائه کند.

۵- منابع

[1] Gaspar, A.L.C. and de Góes-Favoni, S.P., 2015. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review.*Food chemistry*, *171*, pp.315-322.

[2] Min, B. and Green, B.W., 2008. Use of Microbial Transglutaminase and Nonmeat

[11] Wu, X., Nishinari, K., Gao, Z., Zhao, M., Zhang, K., Fang, Y., Phillips, G.O. and Jiang, F., 2016. Gelation of β-lactoglobulin and its fibrils in the presence of transglutaminase. *Food Hydrocolloids*, *52*, pp.942-951.

[12] Ahhmed, A.M., Kawahara, S., Ohta, K., Nakade, K., Soeda, T. and Muguruma, M., 2007. Differentiation in improvements of gel strength in chicken and beef sausages induced by transglutaminase. *Meat science*,*76*(3), pp.455-462.

[13] Hammer, G.F., 1998. Microbial transglutaminase and diphosphate in finely comminuted cooked sausage. *Fleischwirtschaft (Germany)*, 78(11), 1155–1186.

[14] Fernández-López, J., Jiménez, S., Sayas-Barberá, E., Sendra, E. and Pérez-Alvarez, J.A., 2006. Quality characteristics of ostrich (Struthio camelus) burgers. *Meat science*, *73*(2), pp.295-303.

[15] de Ávila, M.R., Ordóñez, J.A., De la Hoz, L., Herrero, A.M. and Cambero, M.I., 2010. Microbial transglutaminase for cold-set binding of unsalted/salted pork models and restructured dry ham. *Meat science*, *84*(4), pp.747-754.

[16] Kilic, B., 2003. Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken döner kebab. *Meat Science*, *63*(3), pp.417-421.

[17] Canto, A.C., Lima, B.R.C., Suman, S.P., Lazaro, C.A., Monteiro, M.L.G., Conte-Junior, C.A., Freitas, M.Q., Cruz, A.G., Santos, E.B. and Silva, T.J., 2014. Physico-chemical and sensory attributes of low-sodium restructured caiman steaks containing microbial transglutaminase and salt replacers.*Meat science*, *96*(1), pp.623-632.

[18] Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Triki, M. and Jiménez-Colmenero, F., 2011. Quality characteristics of low-salt restructured poultry with microbial transglutaminase and seaweed. *Meat science*, *87*(4), pp.373-380.

[19] Kunnath, S., Lekshmi, M., Chouksey, M.K., Kannuchamy, N. and Gudipati, V., 2015. Textural quality and oxidative stability of restructured pangasius mince: effect of protein substrates mediated by transglutaminase. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(1), pp.351-358.

Proteins to Improve Functional Properties of Low NaCl, Phosphate□Free Patties Made from Channel Catfish (Ictalurus punctatus) Belly Flap Meat. *Journal of food science*, *73*(5), pp.E218-E226.

[3] Pietrasik, Z. and Li-Chan, E.C.Y., 2002. Binding and textural properties of beef gels as affected by protein, κ-carrageenan and microbial transglutaminase addition. *Food Research International*, *35*(1), pp.91-98.

[4] Martínez, M.A., Robledo, V., Velazquez, G., Ramírez, J.A., Vázquez, M. and Uresti, R.M., 2014. Effect of precooking temperature and microbial transglutaminase on the gelling properties of blue crab (Callinectes sapidus) proteins. *Food Hydrocolloids*, *35*, pp.264-269

[5] Pietrasik, Z. and Jarmoluk, A., 2003. Effect of sodium caseinate and κ-carrageenan on binding and textural properties of pork muscle gels enhanced by microbial transglutaminase addition. *Food Research International*, *36*(3), pp.285-294.

[6] Ali, N.A., Ahmed, S.H., Mohamed, E.A. and Ahmed, I.A.M., 2010. Effect of transglutaminase cross linking on the functional properties as a function of NaCl concentration of legumes protein isolate. International Scholarly and Scientific Research & Innovation 4(1), pp. 27-37.

[7] Zhu, Y.T., Li, D., Zhang, X., Li, X.J., Li, W.W. and Wang, Q., 2016. Role of transglutaminase in immune defense against bacterial pathogens via regulation of antimicrobial peptides. *Developmental & Comparative Immunology*, *55*, pp.39-50.

[8] Ramırez-Suárez, J.C. and Xiong, Y.L., 2003. Effect of transglutaminase-induced cross-linking on gelation of myofibrillar/soy protein mixtures. *Meat Science*, *65*(2), pp.899-907.

[9] Jiang, J. and Xiong, Y.L., 2013. Extreme pH treatments enhance the structure-reinforcement role of soy protein isolate and its emulsions in pork myofibrillar protein gels in the presence of microbial transglutaminase. *Meat science*, *93*(3), pp.469-476.

[10] Martelo-Vidal, M.J., Fernández-No, I.C., Guerra-Rodríguez, E. and Vázquez, M., 2016. Obtaining reduced-salt restructured white tuna (Thunnus alalunga) mediated by microbial transglutaminase. *LWT-Food Science and Technology*, *65*, pp.341-348.

[20] Berry, B.W. and Bigner, M.E., 1996. Use of carrageenan and konjac flour gel in low-fat restructured pork nuggets. *Food research international*, *29*(3), pp.355-362.
[21] Yang, H.S., Choi, S.G., Jeon, J.T., Park, G.B. and Joo, S.T., 2007. Textural and sensory properties of low fat pork sausages with added hydrated oatmeal and tofu as texture-modifying agents. *Meat science*, *75*(2), pp.283-289.
[22] Baer, A.A. and Dilger, A.C., 2014. Effect of fat quality on sausage processing, texture, and sensory characteristics. *Meat science*, *96*(3), pp.1242-1249.
[23] Mirzaei, M., 2011. Microbial transglutaminase application in food industry.*digestion (Seguro, Kumazawa, Kuraishi et al. 1996)*, *4*, p.7.
[24] Hong, G.P. and Xiong, Y.L., 2012. Microbial transglutaminase-induced structural and rheological changes of cationic and anionic myofibrillar proteins. *Meat science*, *91*(1), pp.36-42.
[25] Velioğlu, H.M., Velioğlu, S.D., Boyacı, İ.H., Yılmaz, İ. and Kurultay, Ş., 2010. Investigating the effects of ingredient levels on physical quality properties of cooked hamburger patties using response surface methodology and image processing technology. *Meat science*, *84*(3), pp.477-483.
[26] ISIRI. 2003. meat and meat products-determination of moisture content- test method (refrence method). Institute of standard and industrial research of Iran, 745, :2-5.
[27] Dzudie, T., Scher, J. and Hardy, J., 2002. Common bean flour as an extender in beef sausages. *Journal of Food Engineering*, *52*(2), pp.143-147.
[28] Hong, G.P. and Chin, K.B., 2010. Effects of microbial transglutaminase and sodium alginate on cold-set gelation of porcine myofibrillar protein with various salt levels. *Food Hydrocolloids*, *24*(4), pp.444-451.
[29] DeJong, G.A.H. and Koppelman, S.J., 2002. Transglutaminase catalyzed reactions: impact on food applications. *Journal of Food Science*, *67*(8), pp.2798-2806.
[30] Pietrasik, Z., Jarmoluk, A. and Shand, P.J., 2007. Effect of non-meat proteins on hydration and textural properties of pork meat gels enhanced with microbial transglutaminase. *LWT-Food Science and Technology*, *40*(5), pp.915-920.
[31] Trespalacios, P. and Pla, R., 2007. Simultaneous application of transglutaminase and high pressure to improve functional properties of chicken meat gels. *Food Chemistry*, *100*(1), pp.264-272.
[32] Hu, Y., Liu, W., Yuan, C., Morioka, K., Chen, S., Liu, D. and Ye, X., 2015. Enhancement of the gelation properties of hairtail (Trichiurus haumela) muscle protein with curdlan and transglutaminase. *Food chemistry*, *176*, pp.115-122.
[33] Jiang, S.J. and Zhao, X.H., 2011. Transglutaminase-induced cross-linking and glucosamine conjugation of casein and some functional properties of the modified product. *International Dairy Journal*, *21*(4), pp.198-205.
[34] Hiller, B. and Lorenzen, P.C., 2009. Functional properties of milk proteins as affected by enzymatic oligomerisation. *Food Research International*, *42*(8), pp.899-908.
[35] Li, L.Y., Easa, A.M., Liong, M.T., Tan, T.C. and Foo, W.T., 2013. The use of microbial transglutaminase and soy protein isolate to enhance retention of capsaicin in capsaicin-enriched layered noodles. *Food Hydrocolloids*, *30*(2), pp.495-503.
[36] Yokoyama, K., Nio, N. and Kikuchi, Y., 2004. Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *64*(4), pp.447-454.
[37] Gan, C.Y., Ong, W.H., Wong, L.M. and Easa, A.M., 2009. Effects of ribose, microbial transglutaminase and soy protein isolate on physical properties and in-vitro starch digestibility of yellow noodles. *LWT-Food Science and Technology*, *42*(1), pp.174-179.
[38] Aalami, M. and Leelavathi, K., 2008. Effect of microbial transglutaminase on spaghetti quality. *Journal of food science*, *73*(5), pp.C306-C312.

The effect of different time-temperature conditions on the performance of microbial transglutaminase enzyme in veggie burger

Forghani, Z. 1, Aminlari, M. 2, Hadi Eskandari, M. H. [3*], Shekarforoush, S. Sh. [4]

1. MSc graduate, Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz
2. Professor. Department of Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz
3. Associate Professor. Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University Shiraz
4. Professor. Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz

(Received: 94/11/15 Accepted: 93/4/31)

The poor textural properties of veggie burgers are critical limiting factors in consumer's acceptance. Microbial transglutaminase enzyme (MTGase) alone or in combination of some substrate such as, sodium caseinate can be used as a texturizing agent in protein products. The aim of this study was to investigate the effect of different time-temperature setting treatment (25 °C/1 h and 25°C/1 h + 4 °C/24 h), concentration of MTGase (0- 0.75 %) and sodium-caseinate (0-2%) on textural profile analysis, moisture content (%), pH and protein solubility (mg/mL) of veggie burger. The results showed that the addition of MTGase alone or combination of sodium-caseinate positively affected hardness, cohesiveness, gumminess and protein solubility of veggie burgers. Moisture content and pH of the samples which were stored at 4 °C/24 h was lower than the other ones ($p<0.05$). Hardness and gumminess of burger batters were improved at 4 °C/24h condition but cohesiveness of veggie burgers didn't affect by setting treatment. There were significant differences in protein solubility between samples that treated with different setting conditions ($p<0.05$). However there was not significant difference in protein solubility between the batters with highest concentration of MTGase and sodium-caseinate at 25°C/1h and the batters with lower concentration of MTGase and sodium-caseinate at 4 °C/24 setting condition. Results suggest that the best condition was achieved at 4 °C for 24 h using 0.75 % MTGase and 2 % sodium-caseinate,

Keywords: Microbial transglutaminase enzyme, Texture, Veggie burger, Sodium caseinate

* Corresponding Author E-Mail Address: Eskandar@shirazu.ac.ir