بررسی افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی بر ترکیبات فرار نوشیدنی سنتی کفیر

فاطمه بیرمی‌سریزکانی[۱]، محمد حجتی[۲*]، حسین جوینده[۲]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۲-دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

(تاریخ دریافت: ۰۴/۰۷/ ۹۸ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۰۳)

چکیده

کفیر نوعی نوشیدنی لبنی با عطر و طعم بی‌نظیر و خاص است که به‌طور سنتی از تخمیر شیر توسط دانه‌های کفیرکه مجموعه هم‌زیستی از باکتری‌ها و مخمرها است تولید می‌شود. جداسازی فازی در طول نگهداری کفیر منجر به ظاهری نامطلوب شده و به عنوان یک نقص شناخته می‌شود که با ایجاد پیوندهای عرضی بین پروتئین‌های شیر می‌توان آن را کنترل کرد. در این تحقیق افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی به کفیر جهت کاهش آب-اندازی و تاثیر بر ترکیبات معطر آن طی مدت یک ماه نگهداری در دمای یخچال با استفاده از روش ریز استخراج با فاز جامد به همراه دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌نگارجرمی بررسی گردید. نتایج نشان داد که افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی تاثیر معنی‌داری بر آب‌اندازی کفیر داشت و موجب کاهش چشم‌گیری در جداسازی فازی کفیر طی نگهداری شد. در مجموع، ۵۱ ترکیب از نمونه‌های کفیر توسط ریز استخراجی فاز جامد متصل به گازکروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی جداسازی و شناسایی شد. بیشتر ترکیبات فرار شناسایی شده به‌ترتیب شامل اسیدها، الکل‌ها، کتون‌ها، استرها و آلدئیدها بودند. نتایج نشان داد که زمان نگهداری تاثیر معنی‌داری بر مقادیر ترکیبات معطر کفیر داشت به طوری‌که برخی ترکیبات فرار افزایش و برخی ترکیبات طی دوره نگهداری کاهش یافتند. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در مقادیر ترکیبات فرار به‌جز در مقدار الکل‌ها تاثیر معنی‌داری نداشت. یافته‌های این تحقیق تبیین کرد که مقادیر کل ترکیبات الکلی و اسیدی به همراه گاز دی‌اکسیدکربن طی نگهداری افزایش یافت. از طرفی مقادیرکل ترکیبات کتونی، آلدئیدی و استری در کفیر طی زمان نگهداری کاهش یافت. براساس یافته های این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی بدون آن‌که تاثیر معنی‌داری بر خصوصیات ترکیبات معطر کفیر داشته باشد موجب کاهش آب‌اندازی آن طی نگهداری می‌شود.

کلیدواژگان: نوشیدنی لبنی تخمیری، ترانس گلوتامیناز میکروبی، آب‌اندازی، کروماتوگرافی گازی

* مسئول مکاتبات: hojjati@asnrukh.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

۱- مقدمه

کفیر سنتی یک نوشیدنی لبنی تخمیری گازدار با طعم ترشی خاص و ویژگی‌های حسی شبیه به ماست می‌باشد که خاستگاه آن را مناطق قفقاز و آناتولی می‌دانند و از تلقیح دانه‌های کفیر کوچک و گل‌کلم مانند به شیر در دمای معمول به مدت ۲٤ ساعت حاصل می‌شود [۱]. عطر و طعم بی‌نظیر کفیر سنتی نتیجه فعالیت متابولیکی هم‌زیستی شماری از انواع باکتری‌ها و مخمرهایی است که دانه‌های آغازگر کفیر را تشکیل داده‌اند و این طعم خاص کفیر به دلیل تولید اسیدلاکتیک، دی-اکسیدکربن، اتانول و دیگر ترکیباتی است که طی تخمیر شکل می‌گیرند [۲]. امروزه محققان و شرکت‌های تولیدکننده در تلاش برای تولید کفیر با عطر و طعم شبیه کفیر سنتی به‌وسیله آغازگرهای مختلف مانند باکتری‌های اسیدلاکتیک مزوفیل و ترموفیل یا دیگر آغازگرهای خالص جدا شده از دانه‌های کفیر در صنعت هستند که به علت تنوع میکروبی موجود در دانه-های کفیر سنتی و ارتباط گسترده بین آنها دارای محدودیت می‌باشند [۳]. عطر و طعم از مهمترین ویژگی‌های فرآورده‌های غذایی است و خصوصیات حسی و گاهی عمر مفید فرآورده-های لبنی وابستگی زیادی به مقادیر ترکیبات معطر مشتق شده از چربی، کربوهیدرات و پروتئین شیر دارد که این ترکیبات طی نگهداری در اثر عوامل مختلفی دچار تغییر می‌شوند که بر ارزش اقتصادی و پذیرش محصولات لبنی توسط مصرف کننده تاثیر به‌سزایی دارد [٤،٥]. روش ریز استخراج با فاز جامد[1] به عنوان یک روش سریع در آنالیز ترکیبات فرار در دهه ۱۹۹۰ معرفی گردید و بعدها ترکیب این روش با گازکروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی[2] توانست با توجه به سهولت کار، کمترین ایجاد تغییرات در نمونه، عدم نیاز به حلال جهت استخراج نمونه و حساسیت بالا در تشخیص ترکیبات فرار موجود در مقادیر کم نمونه در بسیاری از مواد غذایی از جمله فرآورده‌های لبنی تخمیری مختلف به کار گرفته شود[۸-٦]. یکی از مشکلات نوشیدنی‌های لبنی اسیدی طی دوره نگهداری، دو فاز شدن آن‌ها به علت از هم گسستگی شبکه کازئینی و تجمع و رسوب پروتئین‌ها در اثر گرانروی و pH پائین این محصولات است که مصرف کننده را تحت تاثیر خود قرار می‌دهد [۹]. از آن‌جایی‌که پروتئین‌ها نقشی اساسی در ساختار شبکه‌ای محصولات لبنی تخمیری دارند ایجاد پیوندهای عرضی بین پروتئین‌های شیر موجب بهبود بافت محصولات لبنی و کاهش آب‌اندازی می‌گردد [۱۰،۱۱]. ترانس گلوتامیناز میکروبی (m-TG) آنزیمی است که به طور گسترده در فراورده‌های مختلف غذایی از جمله لبنیات به کار می‌رود. این آنزیم فرایند آسیل ترانسفراز را کاتالیز کرده و اتصالات عرضی ایزوپپتیدی بین مولکولی و درون مولکولی بین لیزین و گلوتامین ایجاد کرده و در نتیجه پلی‌مرهای پروتئینی با وزن مولکولی بالا ایجاد می‌کند[۱۲]. کاربرد این آنزیم در فرآورده های تخمیری لبنی جهت بهبود بافت، افزایش ویسکوزیته و کاهش آب‌اندازی محصولاتی نظیر پنیر کوارک و کاتیج [۱۳]، ماست قالبی [۱٤]، دوغ [۱٥]، ماست بی‌چربی [۱۰] و آیران [۱۱] گردیده است بدون اینکه تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های حسی و میکروبی آن‌ها داشته باشد. طی سال‌های اخیر مصرف کفیر به علت تسکین علائم عدم تحمل به لاکتوز و فواید سلامت‌بخشی هم‌چون اثرات ضد دیابتی، ضد فشار خون، ضد التهابی، ضد سرطانی، ضد بیماری‌زایی و کاهش کلسترول افزایش یافته است [۱٦،۱۷]. با توجه به مصرف روزافزون نوشیدنی کفیر و از طرفی مشکل آب‌اندازی آن طی نگهداری و اهمیت عطر و طعم خاص آن نزد مصرف کنندگان و از آنجائی‌که در ایران هیچ مطالعه‌ای در خصوص جداسازی و شناسایی مواد فرار معطر کفیر صورت نپذیرفته است، هدف از انجام این تحقیق افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی به کفیر جهت کاهش دو فاز شدن و بررسی ترکیبات فرار آن طی مدت یک ماه نگهداری در دمای یخچال بود.

۲- مواد و روش‌ها

شیرگاو از ایستگاه تحقیقاتی دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (ملاثانی-خوزستان-ایران) تهیه شدند.

۲-۱- فعال‌سازی دانه‌های کفیر

1. Solid Phase Micro Extraction Method
2. Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

دانـه‌هـای کفیـر از آزمایـشگاه میکروبیولـوژی مـواد غـذایی دانـشگاه علـوم کـشاورزی و منـابع طبیعـی خوزسـتان (ملاثانی-خوزستان-ایـران) کـه درون شـیر پاسـتوریزه شـده و در یخچـال بـا دمـای ٤ °C نگهـداری مـی‌شـدند تهیـه گردید. فعال‌سازی دانـه‌هـای کفیـر بـا قـرار گـرفتن آن‌هـا بـه مـدت ٢٤-١٨ سـاعت درون انکوبـاتور (Binder-TOBGVD45-Germany) بـا دمـای ٢٥°C انجـام پذیرفت.

۲-۲- تولید نوشیدنی کفیر

برای تهیه نوشیدنی کفیر، ابتـدا چربـی شـیر گـاو بـا اسـتفاده از یـک دسـتگاه خامـه‌گیـر آزمایـشگاهی (Hermle Labortechnik Gmb Z206, Germany) در حـد ۲/۵ درصـد تنظـیم و سـپس در دمـای ۹۰ °C بـه مـدت ۱۰ دقیقـه حـرارت داده شـد و بـا اسـتفاده از آب‌سـرد تـا دمـای ۵۰°C سـرد شـد. مقـدار ۰/۰٤ درصـد آنـزیم تـرانس-گلوتامیناز میکروبـی (BDF Natural Ingredients, SL, Girona, Spain) بـا فعالیـت ۱۰۰ واحـد در هـر گـرم پـروتئین جهـت بررسـی تـاثیر ایـن آنـزیم بـر محـصول تولیـدی اضـافه شـد و جهـت فعالیـت آنـزیم بـه مـدت یـک ساعت در دمای ۵۰ °C نگهـداری شـد و سـپس بـرای غیـر فعـال کـردن آنـزیم، شـیر حـاوی آنـزیم تـا دمـای ۸۰ °C حـرارت داده شـد و بـه مـدت ۲ دقیقـه در آن دمـا نگـه داشـته شـد [۱۷] و در نهایـت تـا دمـای ۲۵ °C خنـک و در ایـن دمـا مقـدار ۳ درصـد (وزنـی/حجمـی) دانـه کفیـر تـازه فعال شـده اضـافه و بـه مـدت ٢٤ سـاعت در دمـای ۲۵ °C گرمخانه‌گذاری شد. پس از طـی ایـن مـدت، دانـه‌هـای کفیـر بـا اسـتفاده از یـک صـافی پلاسـتیکی از نمونـه جـدا شـده و کفیـر حاصـل در یخچـال بـا دمـای ٦-٤ °C بـه مـدت سـی روز نگهـداری و در روزهـای اول، پـانزدهم و سـی‌ام میـزان آب‌انـدازی و ترکیبـات فـرار آن مـورد بررسـی قـرار گرفـت. همه مراحـل فـوق بـدون افـزودن آنـزیم بـرای نمونـه شـاهد به‌کار گرفته شد.

۲-۳- میزان آب اندازی

برای بررسی میزان آب‌اندازی یا جدا شدن فازی نمونه‌های کفیر پنج گرم از هر نمونه در لوله آزمایش ریخته شده و پس از سانتریفیوژ در دور ۲۵۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه، فاز سرمی روئی جدا، توزین و بر وزن کل نمونه تقسیم و بدین ترتیب، میزان آب اندازی نمونه‌ها برحسب درصد بیان گردید [۱۸].

۲-٤- بررسی ترکیبات فرار

ترکیبات معطـر و فـرار نمونـه هـای کفیـر بـه روش پلیـسا و همکاران [۱۹] با اندکی تغییرات و با استفاده از ریز استخراج با فاز جامد (SPME) و دستگاه گـاز کرومـاتوگرافی متـصل بـه طیف سنج جرمی (GC-MS) مورد بررسی قرار گرفت. بـرای استخراج ترکیبات معطر، ۵ میلی‌لیتر از نمونـه کفیـر بـه ظـرف شیشه‌ای درب پیچی با ظرفیت ۲۰ میلی‌لیتر که حـاوی مگنـت آهن‌ربایی کوچک بود ریخته شد و در حمام آب گرم که دمای آن ۵۵°C بود و میزان چرخش آن قابل تنظیم بود قرار گرفت. سـپس فیبـر ریـز اسـتخراج فـاز جامـد 2 cm-50/30 mm (DVB/CAR/PDMS fiber Supelco, Bellefonte, PA) به درون شیشه فرو برده شد به طوری‌که پس از باز شدن فیبـر از غلاف، حدود ۱ سانتی‌متر با سطح نمونه کفیر فاصله داشت و به مدت ۵۰ دقیقه در این شرایط جهت جذب مواد فراری که از نمونه خارج می‌شدند قرار گرفت. پس از اتمام ایـن زمـان، فیبر جاذب درون غلاف جمع و ترکیبات معطـر جـذب شـده برای شناسایی بلافاصـله بـه دسـتگاه گازکرومـاتوگرافی مـدل Agilent 6890A متصل به طیف سنج جرمی مدل Agilent 5975 که دمای محفظه تزریق آن ۲٤۰°C بود تزریق گردیـد. آنالیز ترکیبات معطر با نسبت شکافتی ۱ به ۲۰ و با اسـتفاده از ستون HP-5MS (طول ۳۰m، قطر داخلی ۲۵۰μm و ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ μm) و گاز حامل هلیوم با سـرعت ۱ میلـی-لیتردر دقیقه انجام پذیرفت. برنامه دمایی بدین ترتیب بـود کـه دمای اولیه ستون ٤۰°C بود که پس از ۵ دقیقه مانـدگاری در این دما، درجه حرارت ستون با گرادیان دمایی ۵°C در دقیقـه به ۱۰۰°C افزایش یافت و ۵ دقیقه در این دما توقـف داشـت، سپس با گرادیان دمایی ۵°C در دقیقه دما به ۱۸۰°Cرسید و باز هم ۵ دقیقه در این دما توقف داشـت و در نهایـت دمـا بـا سرعت ۱۵°C در دقیقه به ۲٤۰°C افزایش یافت و در این دما

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

به مدت ۱۰ دقیقه متوقف گردید. در این تحقیق طیف سنج جرمی با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ e.V و گستره طیفی m/z ۴۵۰-۳۵ به کار گرفته شد. شناسایی نوع ترکیبات فرار براساس زمان و شاخص بازدارندگی هر یک از ترکیبات و به کمک طیف نرمال آلکان‌ها (C_8-C_{24}) با مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای ترکیبات با طیف جرمی موجود در کتابخانه wiley7n.1 موجود در دستگاه GC/MS و انجمن ملی استانداردها و فناوری[3] [۲۰] صورت پذیرفت و میزان هر ترکیب با استفاده از سطح زیر منحنی پیک‌ها بر حسب درصد محاسبه گردید.

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب یک طرح کامل تصادفی و در سه تکرار انجام شد و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون میانگین دانکن و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ مورد بررسی قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- میزان آب‌اندازی

یکی از عمده‌ترین مشکلات در تولید نوشیدنی‌های اسیدی شیر، آب‌اندازی آن‌ها در طی تولید و نگهداری است [۹،۲۱] و آب‌اندازی یک عامل مهم برای پذیرش کیفیت نوشیدنی کفیر از طرف مصرف کنندگان است و در محصولات تخمیری شیر، به دلیل تجمع و رسوب ذرات کازئین در طول دوره ذخیره سازی رخ می‌دهد [۲۲،۱۱]. ، قرار گرفتن کاپا کازئین‌ها در سطح میسل کازئین باعث پایداری میسل‌های کازئین در pH طبیعی شیر می‌شود که با سازوکارهای دافعه فضایی و الکترواستاتیک و تشکیل لایه‌های نازک در سطح آن‌ها، از نزدیک شدن میسل-ها به یکدیگر ممانعت می‌کند. در صورتی که این لایه‌ها توسط آنزیم‌های دلمه کننده شیر شکسته و جدا شوند و یا به علت از دست دادن بار خالص موثر با کاهش pH افزایش قدرت یونی و کاهش قابلیت انحلال متلاشی شوند [۲۳،۲۴]، میسل‌های کازئین ناپایدار می‌شوند، زیرا فسفات کلسیم در اثر اسیدی شدن محیط، به تدریج از میسل خارج شده، بار الکتریکی منفی میسل کاهش می‌یابد و میسل کازئین متلاشی می‌شود. در این تحقیق، بیشترین میزان آب‌اندازی در نمونه شاهد و در روز سی‌ام نگهداری (۵۰/۳۳ ٪) و کمترین میزان آب‌اندازی در نمونه حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز و در روز اول نگهداری (۱۴/۸۶ ٪) مشاهده شد (شکل۱). نتایج نشان داد که مدت زمان نگهداری نمونه‌های کفیر بر میزان آب‌اندازی نمونه‌ها تاثیر معنی‌داری داشت ($p<0.05$)، به‌طوری که با افزایش زمان نگهداری، مقدار آب‌اندازی افزایش یافت که می‌تواند به دلیل اسیدیته بالای محصولات تخمیری در نتیجه تجمع و رسوب کازئین باشد [۲۵،۱۱]. همچنین نتایج نشان داد که آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر میزان آب‌اندازی نمونه‌های کفیر تاثیر معنی‌داری داشت به طوری که با افزودن آنزیم، میزان آب-اندازی کاهش یافت و در هرکدام از روزهای نگهداری، میزان آب‌اندازی در کفیر حاوی آنزیم به طور معنی‌داری از نمونه شاهد کمتر بود. نتایج مشابهی توسط دیگر محققین در خصوص کاهش میزان آب‌اندازی ماست بدون چربی و دوفاز شدن دوغ در اثر استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز طی نگهداری در دمای یخچال نیز گزارش شده است[۱۱،۱۰]. در مطالعه کاربرد ترانس‌گلوتامیناز در ماست، مشاهده شد که در ماست‌های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز آب‌اندازی کاهش، ظرفیت نگهداری آب و ویسکوزیته افزایش یافت [۲۶]. در پژوهشی دیگر شیرخانی و همکاران اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی نوشیدنی تخمیری شیر(دوغ) را بررسی و مشاهده کردند که دوغ تهیه شده از طریق تخمیر شیر رقیق شده، محصولات پایدارتری با جدایی فاز کمتر تولید نمود [۱۵]. همچنین در پژوهشی اثر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر شیر تخمیری پروبیوتیک تولید شده با استفاده از شیر گاو و شیر سویا بررسی و مشاهده گردید که نمونه‌های حاوی آنزیم آب اندازی کمتری نسبت به نمونه شاهد داشته و با افزایش درصد آنزیم میزان آب اندازی شیر تخمیری کاهش یافت [۲۷]. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، ویسکوزیته را با افزایش ظرفیت نگهداری آب افزایش می‌دهد و با اتصال به پروتئین‌های شیر باعث ایجاد یک ژل محکم و قوی می‌شود در نتیجه باعث کاهش آب‌اندازی می‌شود [۱۱].

3. National Institute of Standards and Technology

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

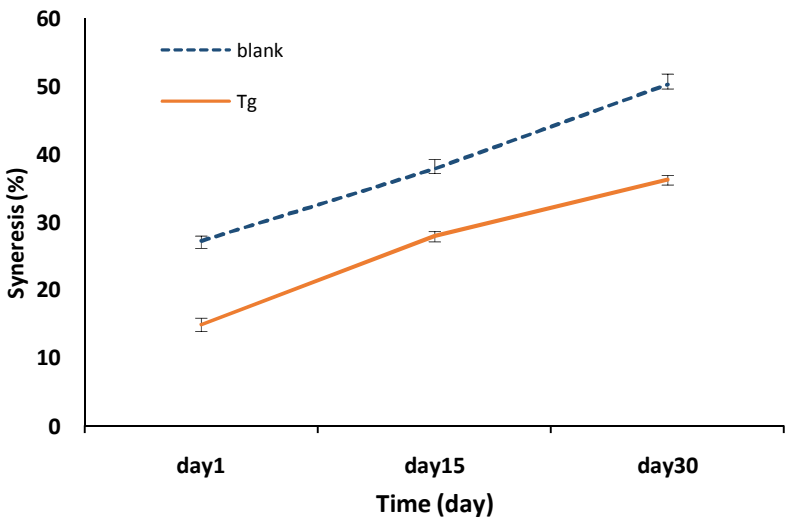

Fig 1 Effect of adding transglutaminase on syneresis of kefir during one-month storage at 4-6ºC

۳-۲- ترکیبات معطر فرار

نتایج حاصل از استخراج و شناسایی ترکیبات معطر فرار موجود در نمونه های کفیر در شکل ۲ و جداول ۱ تا ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که ۵۱ ترکیب فرار از نمونه های کفیر حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز و نمونه شاهد که تشکیل دهنده حدود ۹۰ ٪ ترکیبات استخراج شده توسط ریز استخراج با فاز جامد بودند توسط گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی شناسایی گردیدکه غالب این ترکیبات به پنج گروه اسیدها، الکل‌ها، استرها، کتون‌ها و آلدهیدها تعلق داشتند. نتایج این تحقیق تا حد زیادی با مشاهدات سایر محققینی که اخیرا ترکیبات معطر کفیر را بررسی کرده بودند مطابقت داشت[۱،۱۸،۱۷،۲۸] و تنها تفاوت واضح با برخی از آن‌ها در تعداد ترکیبات شناسایی شده و عدم وجود ترکیبات سولفوره در تحقیق حاضر بود. نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات معطر نمونه‌های کفیر نشان از شناسایی ۱۶ نوع ترکیب الکلی،۱۳ نوع ترکیب استری، ۹ نوع ترکیب اسیدی، ٦ ماده کتونی و ٤ ترکیب آلدئیدی داشت. همچنین یک ترکیب ترپنی، یک ترکیب نیتروژنی علاوه بر گاز دی‌اکسیدکربن شناسایی شد (شکل۲). نتایج نشان داد که مقدار اسیدها بیش از سایر ترکیبات در کفیر بودند و پس از اسیدها، به ترتیب کتون‌ها، استرها، الکل‌ها و آلدئیدها تشکیل دهنده ترکیبات معطر کفیر در هر دو نمونه کفیر حاوی آنزیم و شاهد بودند. این ترتیب از مقدار ترکیبات شناسایی شده در نمونه‌های کفیر با نتایج تحقیقاتی که تاثیر تنوع و توالی میکروبی دانه‌های کفیر مناطق مختلف اروپا بر عطر کفیر را مورد بررسی قرار داده بودند مطابقت داشت[۱،۱۷]. وجود اختلاف در نوع و مقدار برخی ترکیبات فرار شناسایی شده با سایرین به روش‌های استخراج ترکیبات معطر، روش‌های فرآوری شیر مورد استفاده، ترکیبات شیمیایی شیر مصرفی و محل جغرافیایی که گاو پرورش یافته بستگی دارد [۱۷]. یافته‌های این تحقیق نشان داد که افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تاثیر معنی‌داری بر مقادیر کل ترکیبات تشکیل دهنده عطر و طعم کفیر نداشته اگرچه در برخی از ترکیبات خاص این تاثیر معنی‌دار بوده است، در حالی‌که زمان نگهداری بر مقادیر همه ترکیبات فرار کفیر در نمونه شاهد و نمونه حاوی آنزیم تاثیر معنی‌داری داشته است ($p<0.05$).

ترکیبات اسیدی نقش مهمی در ویژگی‌های حسی فرآورده های لبنی تخمیری دارند که در پذیرش آن توسط مصرف‌کنندگان موثر می‌باشند و از طرفی اسیدهای آلی به‌عنوان ترکیبات نگهدارنده طبیعی شناخته شده‌اند که مانع از رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردند و در سلامت انسان مفید هستند[۲۹]. نتایج نشان داد که ترکیبات معطر اسیدی بیش از نیمی از ترکیبات شناسایی شده را تشکیل دادند و اسیدها عمده ترکیبات تشکیل دهنده مواد معطر موجود در کفیر بودند که مطابق با مشاهدات محققینی بود که میزان ترکیبات اسیدی موجود در کفیر چهار منطقه مختلف ترکیه را ٦٠/٥٦-٣٤/٩٥ ٪ کل ترکیبات معطر شناسایی شده گزارش کرده بودند [۱].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

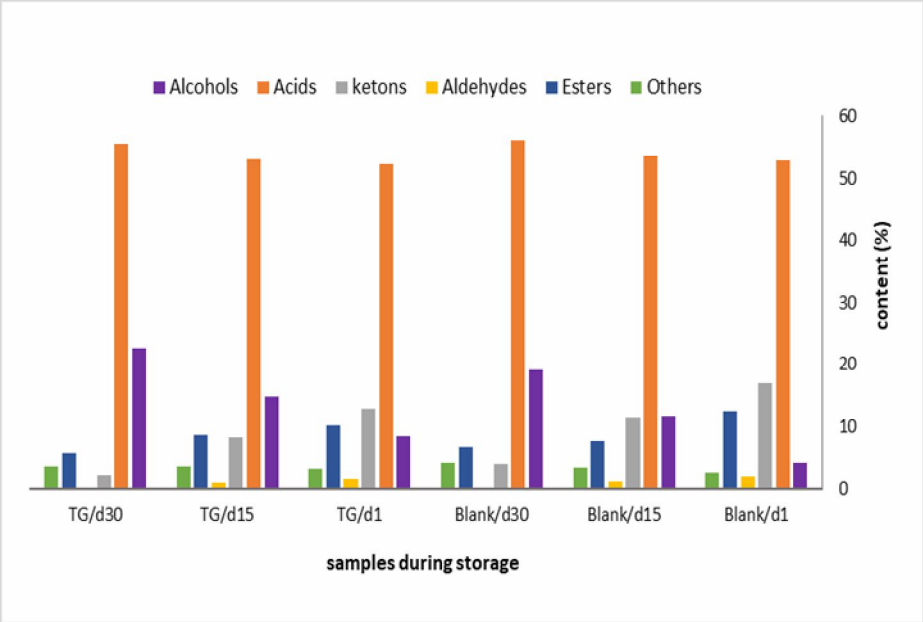

Fig 2 Classification of volatile compounds isolated and identified in kefir samples during one-month storage at 4-6ºC

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است در تحقیق حاضر نـه ترکیـب اسـیدی شـامل اسـتیک اسـید، بوتانوئیـک اسـید، هگزانوئیک اسید، بنزوئیک اسید، اکتانوئیـک اسـید، نونانوئیـک اسید، دکانوئیک اسید، دودکانوئیک اسید و ان-هگزادکانوئیـک اسید در هر دو نمونه کفیـر شـاهد و حـاوی آنـزیم شناسـایی گردید که مقادیر کل آنها طی زمان نگهداری افزایش یافت، به طوری‌که مقدار کل ترکیبات اسیدی در نمونه کفیر شـاهد طـی نگهداری از روز اول تا سی‌ام از ۵۲/۸۹ به ۵٦/۱٤ درصد و در نمونه کفیر حاوی آنزیم از ۵۲/۳۳ به ۵۵/٤٦ درصد رسید. بـه-طور کلی در فرآورده‌های شـیر، اسـیدها از تجزیـه چربـی‌هـا، لاکتوز و اسیدهای آمینه مشتق شده و طعم خاص و قابل درک محصول را موجب می‌گردند [۵]. اسیدها نه تنها به خاطر عطر و طعمی که به شیر می‌دهند بلکه به دلیل این‌که به عنوان پیش-ساز ترکیباتی نظیر کتون‌ها، آلدئیدها، الکل‌ها و اسـترها هـستند نیز قابل اهمیت هستند[۳۰]. همه اسیدهای شناسایی شـده در کفیرهای مورد مطالعه به‌جز اسـید اسـتیک حاصـل متابولیـسم چربی‌های موجود در شیر هستند و اسید اسـتیک از متابولیـسم کربوهیدرات‌ها تولید می‌شود که همگی با داشـتن رایحـه‌هـای متنوع موجب عطـر و طعـم خاصـی در کفیـر مـی‌شـوند[۱۷]. اسیداسـتیک بـا داشـتن طعـم تـرش، اسـیدی و سـرکه‌ای و هگزانوئیک اسید با رایحـه‌ای تنـد و گلـی نافـذ بـه عنـوان دو ترکیب اصلی در ایجاد عطر و طعم ماست مطرح هـستند [٦]. در تحقیق حاضر مقدار اسید استیک در هر دو نمونه کفیر و در همه روزهای نگهداری از سایر اسیدها بیشتر بود به‌طـوری‌کـه مقدار آن در روز آخر در نمونه کفیر شاهد و حاوی آنزیم بـه-ترتیب ۱۲/۹٦ و ۱۳/۲۱ درصد رسیده بود. نتـایج ایـن تحقیـق نشان داد که با افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی به کفیر مقدار اسیدهای شناسایی شده افزایش یافت کـه بـا مـشاهدات محققینی که مقادیر مختلـف آنـزیم را بـه کفیـر تهیـه شـده از مخلوط شیر گاو و سویا اضافه کرده بودند مطابقت داشت[۱۸]. اگرچه *لاکتوباسیلوس کفیر* کـه نـوعی بـاکتری هتروفرمنتـاتیو[4] شناسایی شده در انواع کفیر هست، توانایی تولید اتانول را دارد ولی مخمرها اصلی‌ترین تولیدکنندگان ترکیبات الکلی در کفیـر هستند و مخمرهایی کـه تـاکنون از انـواع کفیـر جداسـازی و شناسایی شده‌اند همگی توانایی بـالایی در تولیـد الکـل نـشان داده‌اند و به همین دلیل کفیر اندکی عطر مخمری[5] دارد [۳۱] و عطر و طعم خاصی که ویژه کفیرهـای سـنتی و بـومی منطقـه قفقاز است به دلیل وجود مقداری الکل است [۲].

الکل موجود در فرآورده‌های تخمیری شیر از احیای آلدئیـدها، متابولیسم اسیدهای آمینه، متابولیسم کربوهیـدرات‌هـا بـه‌ویـژه تخمیر لاکتوز و متابولیسم چربی‌ها شـکل مـی‌گیرنـد و اغلـب الکل‌ها چون آستانه تشخیص بوی بالایی دارند اثرات نـاچیزی بر عطر و طعم غذا دارند مگر آن‌که مقدار الکل موجود خیلـی زیاد باشد[۱۷،۵].

4. heterofermentative
5. yeasty flavor

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

Table 1 Changes in acidic compounds (%) detected in kefir samples during one-month storage at 4-6ºC

Compounds	RT (min)	Blank			TG		
		Day 1	Day 15	Day 30	Day 1	Day 15	Day 30
Acids							
Acetic acid	3.503	11.15	12.04	12.96	10.59	12.88	13.21
Butanoic acid	6.631	2.33	3.39	3.68	3.11	3.56	3.84
Hexanoic acid	13.749	7.82	8.98	9.68	8.87	9.17	9.96
Benzoic acid	20.282	4.22	5.01	5.34	3.47	4.77	5.89
Octanoic acid	20.405	9.56	9.62	9.88	8.2	8.99	9.97
Nonaoic acid	25.616	2.12	2.98	4.02	3.11	3.83	4.23
Decanoic acid	28.652	3.76	1.66	0.88	2.88	1.03	0.06
Dodecanoic acid	34.262	9.43	6.12	4.57	9.88	5.13	4.12
n-Hexadecanoic acid	42.867	2.5	3.73	5.13	2.22	3.67	4.18

نتایج این تحقیق نشان داد که مقادیر ترکیبات الکلی در نمونه شاهد از روز اول تا سی‌ام نگهداری از ٤/١٧ به ١٩/٠٤ درصد و در نمونه حاوی آنزیم از ٨/٤ به ٢٢/٥٥ درصد رسید یعنی ترکیبات الکلی هر دو نوع کفیر پس از یک ماه نگهداری تقریبا سه برابر شد (جدول۲)، که با نتایج سایر محققین که افزایش قابل توجه مقدار الکل در کفیر طی نگهداری را مشاهده کرده بودند مطابقت داشت[۲،۲۹]. نتایج نشان از عدم تاثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی بر نوع و مقادیر الکل‌های شناسایی شده بود که با نتایج پژوهشگرانی که از این آنزیم در تولید ماست بدون چربی استفاده کرده بودند مطابقت داشت[۱۰]. در این تحقیق ۱-بوتانول، ۳- متیل، اتانول، ۱-هگزانول، ۱-دکانول، ۱-دودکانول و ۱-اکتانول عمده ترکیبات الکلی موجود از میان ١٦ نوع الکل شناسایی شده در نمونه‌های کفیر بودند که غلظت همگی با گذشت زمان افزایش پیدا کرد. از این میان نیز در هر دو نمونه کفیر شاهد و حاوی آنزیم مقادیر دو ترکیب ۱-بوتانول، ۳- متیل و اتانول که غالبا به‌ترتیب از متابولیسم اسیدهای آمینه و تخمیر کربوهیدات‌ها حاصل می‌شوند[۱۷] بیشتر از سایرین بود. نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات الکلی کفیر مناطق مختلف ترکیه شباهت زیادی با تحقیق حاضر داشت و در آن تحقیق نیز به‌ترتیب ۱-بوتانول، ۳- متیل و اتانول به‌عنوان الکل غالب تولید شده در کفیر معرفی شدند[۱]. از طرفی ۱-بوتانول، ۳- متیل و اتانول به عنوان دو ترکیب الکلی مهم در همه نمونه‌های لبنی (شیر تخمیری تونسی) شناسایی و گزارش شده بود [۸].

Table 2 Changes in alcoholic compounds (%) detected in kefir samples during one-month storage at 4-6ºC

Compounds	RT (min)	Blank			TG		
		Day 1	Day 15	Day 30	Day 1	Day 15	Day 30
Alcohols							
Ethanol	1.740	0.77	1.83	4.03	1.96	2.12	4.22
Cyclobutanol	2.671	0.08	0.05	0.07	0.06	0.06	0.09
1-Butanol, 3-methyl	4.180	1.88	3.84	4.67	2.34	3.56	5.01
1-Hexanol	8.877	0.13	1.52	2.34	0.19	2.45	4.12
2-Methyl-5-pentanol	8.908	0	0.06	0.08	0	0	0.12
2-Heptanol	10.005	0.05	0.14	0.25	0.07	0.18	0.32
3-Methyl-2-pentanol	11.739	0.06	0.12	0.18	0.12	0.22	0.43
1-Hepnalol	12.631	0	0.11	0.22	0.09	0.18	0.38
4-Heptanol, 2,6-dimethyl	15.585	0.08	0.26	0.29	0.69	1.2	0.23
2-Heptanol, 4-methyl	15.944	0	0.05	0.09	0.05	0.06	0.09
1-Octanol	16.067	0.13	0.48	0.98	0.34	0.62	0.93
2-Nonanol	17.001	0.17	0.34	0.54	0.45	0.49	0.51
Benzeneethanol	17.503	0.14	1.28	2.45	0.44	1.33	2.41
Nonanol	19.647	0.07	0.45	1.23	0.59	1.11	1.95
1-Decanol	24.908	0.38	0.56	0.73	0.46	0.63	0.76
1-dodecanol	32.354	0.23	0.67	0.89	0.55	0.67	0.98

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

استرها غالبا از ترکیب الکل‌ها با اسیدهای آمینه آزاد [٤] و متابولیسم کربوهیدارت‌ها در فرآورده‌های لبنی حاصل می‌شوند و حاوی بوی گل و انواع میوه چون سیب، موز، آناناس و پرتقال هستند [١٧] که سهم بی‌بدیلی در رایحه انواع غذا دارند. استرهای کم‌کربن ترکیباتی بسیار فرار هستند که در دمای ثابت بیش از ده برابر آستانه تشخیص پائین‌تری نسبت به الکل‌های پیش‌سازشان دارند و در غلظت‌های بسیار کم هم ایجاد رایحه می‌کنند[٥]. همان‌طور که در جدول ٣ مشاهده می‌گردد در این تحقیق تعداد ١٣ نوع ترکیب استری از نمونه‌های کفیر جداسازی و شناسایی شد که از مقدار کل آن‌ها طی زمان نگهداری کاسته شد. استیک‌اسیداتیل‌استر، اکتانوئیک‌اسیداتیل-استر، استیک‌اسید- ٢-فناتیل‌استر، اتیل-٩-دکنوئیت، دکانوئیک-اسیداتیل‌استر، دودکانوئیک‌اسیداتیل‌استر و هگزان‌ادیوئیک اسید-بیس-٢ اتیل‌هگزیک‌استر عمده ترکیبات استری شناسایی شده در این تحقیق بودند که برخی از آن‌ها در فرآورده‌های لبنی نظیر شیرهای تخمیری، ماست و کفیر به عنوان استرهای غالب نیز گزارش شده‌اند[٤،٦]. تعداد ترکیبات استری شناسایی شده درنمونه‌های کفیر این تحقیق بیش از انواع استرهای گزارش شده توسط سایر محققین در نمونه‌های کفیر مناطق مختلف اروپا بود[١،١٧]. یافته‌های این تحقیق نشان داد که مقدار کل استرها با افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی و همچنین تحت تاثیر زمان کاهش یافت، اگرچه در برخی از انواع استرها افزایش وجود داشت ولی مقادیر کل ترکیبات استری نمونه‌های شاهد و حاوی آنزیم طی نگهداری از روز اول تا آخر به‌ترتیب از ١٢/٤٦ به ٦/٦٨ درصد و از ١٠/٢٣ به ٥/٨٤ درصد کاهش یافتند که با نتایج محققینی که تاثیر محیط-های کشت مختلف را در تهیه کفیر بررسی و کاهش میزان استرها را بعد از یک هفته نگهداری مشاهده کرده بودند مطابقت داشت [٢].

Table 3 Changes in esters compounds (%) detected in kefir samples during one-month storage at 4-6ºC

Compounds	RT (min)	Blank			TG		
		Day 1	Day 15	Day30	Day 1	Day 15	Day 30
Esters							
Acid acetic, ethyl ester	2.426	1.07	1.23	2.01	1.34	1.66	2.02
Isobutyl acetate	5.308	0.05	0.07	0.06	0.05	0.06	0.06
Butyric asid, ethyl ester	6.231	0.45	0.41	0.52	0.17	0.66	0.77
Lactic acid, ethyl ester	6.734	0.12	0.34	0.44	0.17	0.21	0.28
1-Butanol, 3-methyl,acetate	9.082	0.32	0.28	0.43	0.43	0.29	0.39
1-Butanol,2-methyl,acetate	9.152	0.23	0.05	0.05	0.34	0.05	0.06
Heptanoic asid,ethyl ester	16.908	0.09	0.17	0.08	0.12	0.18	0.08
Octanoic asid, ethyl ester	20.795	2.7	1.13	0.87	3.11	2.98	1.12
Acetic acid, 2-phenethyl ester	23.862	1.06	0.44	0.98	1.08	0.88	1.14
Ethyl 9-decenoate	29.041	1.35	1.26	0.56	0.88	1.01	0.65
Decanoic acid, ethyl ester	29.298	2.76	1.37	1.05	1.44	1.12	0.61
Dodecanoic acid, ethyl ester	34.97	1.15	1.04	0.76	0.77	0.89	0.56
Hexanedioic acid,bis (2-ethylhexyl) ester	48.106	2.18	1.14	0.88	1.67	0.34	0.12

ترکیبات کتونی موجود در شیر که غالبا از متابولیسم چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها حاصل می‌شوند با داشتن بوی کره‌ای، پنیری، میوه‌ای، کاراملی و وانیلی و غیره در ایجاد رایحه شیر و و فرآورده‌های آن نقش مهمی دارند[١٧] و ترکیبات کتونی را عامل اصلی بوی فرآورده‌های تخمیری شیر می‌دانند [٣١]. ٢و٣-بوتاندیون که دی‌استیل هم نامیده می‌شود یک دی‌کتون است که عامل بوی کره‌ای در فرآورده‌های تخمیری شیر است [٦]. ٢-هپتانون و ٢- نونانون دو ترکیب کتونی هستند که

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

عامل بوی خامه‌ای و تازگی محصولات لبنی تخمیری هستند [۲]. براساس یافته‌های این تحقیق که در جدول(٤) نشان داده شده است، شش ترکیب کتونی جداسازی و شناسایی گردید که عبارت بودند از ۲-بوتانون ، ۲و۳-بوتاندیون، ۲-هپتانون، ۲(۳چ)-فوران-دی‌هیدرون، ۲-نونانون و ۲-اون‌دکانون که توسط سایر محققین نیز در نمونه‌های کفیر مناطق مختلف گزارش شده بودند[۱،۱۸]. در تحقیق حاضر هیچ متیل‌کتونی که از عوامل موثر در عطر و طعم شیر هست [۵] مشاهده نشد. همچنین نوع ترکیبات کتونی شناسایی شده در این تحقیق اندکی با ترکیبات کتونی گزارش شده در پژوهشی دیگر [۲۸] مغایرت داشت که می‌تواند به دلیل استفاده آن‌ها از محیط کشت صنعتی به‌جای دانه‌های کفیر سنتی باشد. نتایج نشان داد که مقدار کل ترکیبات کتونی در نمونه‌های شاهد و حاوی آنزیم طی سی روز نگهداری به ترتیب از ۱٦/۹۲ به ۳/۹٦ درصد و از ۱۲/۸۳ به ۱/۹۳ درصد رسید. در تحقیق حاضر که میزان کل ترکیبات کتونی طی دوره نگهداری کاهش یافت که با نتایج محققینی که سوژهای مختلف باکتریایی جهت تولید شیرتخمیری استفاده کرده و کاهش میزان ترکیبات کتونی را طی دو هفته نگهداری بررسی کرده بودند مطابقت داشت [٦]. هم‌چنین یافته‌های این تحقیق نشان داد که افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز موجب کاهش مقدار ترکیبات کتونی کفیر گردید، اگرچه بر نوع ترکیبات کتونی تاثیری نداشت که با مشاهدات محققینی که مقادیر مختلف آنزیم را به کفیر تهیه شده از مخلوط شیرگاو و سویا افزوده بودند مطابقت داشت[۱۸] و با نتایج پژوهشگرانی مبنی بر بی‌تاثیر بودن افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ترکیبات کتونی دوغ مغایرت داشت[۱۱]. ترکیبات آلدئیدی متابولیت‌های ثانویه حاصل از تخمیر لاکتوز توسط لاکتیک‌اسید باکتری‌ها می‌باشند[۲۸] که سطح آستانه پائینی برای حس آنها لازم است و حاوی هم بوی خوشایند و هم تند هستند [۵]. در این تحقیق هپتانال و فنیل-استالدئید به ترتیب با داشتن عطر شیرین[6] و گل[7] [٤] عمده-ترین ترکیبات آلدئیدی موجود در هر دو نمونه کفیر بودند که با گذشت زمان روند کاهشی در مقادیر همه ترکیبات آلدئیدی برای نمونه‌های شاهد و حاوی آنزیم مشاهده گردید (جدول ٤). هپتانال توسط *لاکتوباسیلوس دلبروکی* طی تخمیر شیر و غالبا از طریق متابولیسم چربی‌ها تولید می‌شود و عطری خوشایند با رایحه میوه‌ای، سبزی و چوبی دارد [٦،۱۷] و فنیل‌استالدئید در فرآورده‌های لبنی نظیر پنیر چدار از تجزیه استرکر فنیل‌آلانین تولید می‌شود و در غلظت‌های زیاد طعمی گسی و تلخ ایجاد می‌کند [۳۲]. مقدار انواع آلدئیدها نسبت به سایر ترکیباتی معطری که از نمونه‌های کفیر جداسازی و شناسایی شده بود به مراتب کمتر بود که تائید کننده نتایج سایر محققینی بود که کمترین مقدار ترکیبات معطر موجود در کفیر را آلدئیدها گزارش کرده بودند[۱]. مقدار کل ترکیبات آلدئیدی در روز اول تخمیر در هر دو نمونه شاهد و حاوی آنزیم به-ترتیب ۱/۸۹ و ۱/۵۵ درصد و در روز پانزدهم تخمیر به‌ترتیب ۱/۱۸ و ۰/۹۲ درصد بود، درحالی‌که در روز آخر نگهداری هیچ ترکیب آلدئیدی در نمونه حاوی آنزیم مشاهده نشد و فقط هپتانال به مقدار بسیار جزئی در نمونه شاهد مشاهده گردید. کاهش ترکیبات آلدئیدی طی تخمیر به علت راحت اکسیده شدن آلدئیدها با گذشت زمان است و آلدئیدها به‌ویژه استالدئیدها طی نگهداری در فرآورده‌های تخمیری لبنی به دلیل اکسیده شدن کاهش می‌یابند[۳۳] و از طرفی استالدئیدها از همان روز اول توسط آنزیم الکل دهیدروژناز به اتانول تبدیل می‌شوند[۱۸] و به همین دلیل هرچه از زمان نگهداری کفیر می‌گذرد مقدار اتانول زیاد و مقدار آلدئیدها کاهش می‌یابد. نتایج این تحقیق با گزارش محققینی که تاثیر افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز بر مقدار آلدئیدها در دوغ و ماست را معنی-دار ندانسته بودند مطابقت داشت[۱۰،۱۱].

همانطور که در جدول(۵) مشاهده می‌گردد مقدار گاز دی-اکسیدکربن طی تخمیر در نمونه‌های کفیر افزایش می‌یابد به-طوری‌که مقدار آن در کفیر شاهد و حاوی آنزیم به‌ترتیب از ۱/٤۸ و ۱/۸٤ درصد در روز اول به ۲/٤۳ و ۲/۳۸ درصد در روز آخر نگهداری رسید که این افزایش با مشاهدات دیگر پژوهشگران مطابقت داشت [۱۸].

6. sweet
7. flowery

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

Table 4 Changes in carbonyl compounds (%) detected in kefir samples during one-month storage at 4-6ºC

Compounds	RT (min)	Blank			TG		
		Day 1	Day 15	Day 30	Day 1	Day 15	Day 30
Aldehyde							
Butanal,3-methyl	2.888	0.06	0	0	0.05	0.05	0
Pentanal	2.929	0.07	0.05	0	0.06	0.05	0
Heptanal	10.006	0.98	0.76	0.06	0.79	0.49	0
Phenylacetaldehyde	15.113	0.78	0.37	0	0.65	0.33	0
Ketone							
2-Butanone	3.523	4.87	3.06	1.23	3.91	2.23	0.45
2,3-Butanedione	3.708	3.88	2.15	1.01	2.56	1.52	0.66
2-Heptanone	9.585	4.88	3.39	1.04	3.43	2.67	0.45
2(3H)-furanone,dihydro	10.539	0	0.08	0.08	0	0.08	0.06
2-Nonanone	16.693	2.06	1.91	0.23	1.88	1.05	0.14
2-Undecanone	25.503	1.23	0.98	0.45	1.05	0.65	0.23

اهمیت تولید گاز دی‌اکسیدکربن در ترکیب با الکل و ایجاد عطر و طعمی خاص است، بدین صورت که ترکیب اتانول و گاز دی‌اکسیدکربن حاصل از تخمیر، تولید کننده طعم بی‌نظیر و شگفت‌انگیز نوشیدنی کفیر سنتی است که در جلب رضایت مصرف‌کننده نقشی مهم دارد [۲]. لیمونن تنها ترکیب ترپنی شناسایی شده در این تحقیق بود که در آخر زمان نگهداری مقدار آن در کفیر حاوی آنزیم و شاهد به‌ترتیب ۱/۰۹ و ۱/۵٦ درصد بود. لیمونن مونوترپنی با عطر و طعم مرکبات است که به همراه سایر ترپن‌ها از طریق گیاهانی که به مصرف خوراک دام رسیده‌اند به شیر گاو وارد می‌شود و مقدار آن نسبت به سایر مونوترپن‌ها بیشتر بوده و گاها در فرآورده‌های تخمیری شیر از تبدیل سسکوئی‌ترپن‌ها نیز حاصل می‌شود(جدول۵) [۳٤]. هم‌چنین Oxime-,methoxy-phenyl تنها ترکیب نیتروژنه‌ای بود که در روز اول فقط در نمونه حاوی آنزیم و از روز پانزدهم در نمونه شاهد نیز شناسایی گردید. اطلاعات اندکی در مورد این ترکیب وجود دارد ولی در شیر فراپاستوریزه شده‌ای که در ظروف پلی‌اتیلنی تریفتالات بسته-بندی شده و پنیرهای‌کم‌چرب تهیه شده از شیر بازسازی نیز جداسازی و گزارش شده است(جدول۵) [۳٦،۳۵].

Table 5 Changes in other compounds (%) detected in kefir samples during one-month storage at 4-6ºC

Compounds	RT (min)	Blank			TG		
		Day 1	Day 15	Day 30	Day 1	Day 15	Day 30
Others							
Carbone dioxie	1.575	1.48	2.17	2.43	1.84	2.12	2.38
Oxim-methoxyl-phenyl	11.195	0	0.09	0.06	0.07	0.07	0.06
dl-Limonene	14.529	0.88	1.04	1.56	1.34	1.42	1.09

٤- نتیجه‌گیری کلی

عطر و طعم خاص کفیر به همراه خصوصیات سلامت‌بخشی آن موجب افزایش مصرف این فرآورده تخمیری لبنی گردیده است. در این تحقیق افزودن ۰/۰٤ درصد آنزیم ترانس-گلوتامیناز به کفیر به منظور کاهش میزان آب‌اندازی طی نگهداری نشان از کاهش حدود ٤۰ درصد میزان آب‌اندازی کفیر طی سی روز نگهداری در دمای یخچال داشت. بررسی تغییرات مقادیر ترکیبات معطر کفیر با استفاده از روش ریزاستخراج با فاز جامد و گازکروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی طی یک ماه نشان داد که زمان نگهداری تاثیر معنی‌داری بر مقادیر ترکیبات معطر داشت و موجب کاهش برخی و افزایش برخی دیگر گردید ولی افزودن آنزیم ترانس-گلوتامیناز به‌جز در مقدار الکل‌ها در مقادیر سایر ترکیبات تاثیر آنچنانی نداشت. یافته‌های این تحقیق نشان داد که مقادیر کل ترکیبات الکلی و اسیدی در اثر زمان نگهداری افزایش یافت که افزایش مقدار الکل در نمونه حاوی آنزیم قدری بیشتر بود. هم‌چنین نتایج نشان داد که زمان نگهداری موجب کاهش مقادیر کل ترکیبات کتونی، آلدئیدی و استری در هر دو نمونه شاهد و حاوی آنزیم گردید. میزان گاز دی‌اکسیدکربن که در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

ترکیب با اتانول موجب طعم خاص و بی نظیرکفیر می‌شود در هر دو نمونه کفیر شاهد و حاوی آنزیم طی مدت نگهداری افزایش یافت. یافته‌های این تحقیق نشان داد که استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی موجب کاهش چشمگیری در آب‌اندازی کفیر طی نگهداری می‌شود بدون آن‌که تاثیر معنی‌داری بر خصوصیات ترکیبات معطر آن داشته باشد و توصیه می‌گردد که به منظور بهبود ویژگی‌های ظاهری نوشیدنی‌های تخمیری شیر و جهت ممانعت از دوفاز شدن آن‌ها تحقیقات بیشتری در مورد استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی با سایر ترکیبات هیدروکلوئیدی صورت بپذیرد.

۵-سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به خاطر حمایت مالی انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

۶-منابع

[1] Dertli, E. and Çon, A.H., 2017. Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. LWT-Food Science and Technology, 85:151-157.

[2] Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., Simov, Z. and Dimitrov, ZP., 2003. Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. International Dairy Journal, 13(7):529-535.

[3] Leite, A., Leite, D., Del Aguila, E., Alvares, T., Peixoto, R., Miguel, M., Silva, J. and Paschoalin, V., 2013. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. Journal of Dairy Science, 96(7):4149-4159.

[4] Cheng, H., 2010. Volatile flavor compounds in yogurt: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 50(10):938-950.

[5] Yue, T-X., Chi, M., Song, C-Z., Liu, M-Y., Meng ,J-F., Zhang, Z-W. and Li, M-H., 2015. Aroma characterization of Cabernet Sauvignon wine from the Plateau of Yunnan (China) with different altitudes using SPME-GC/MS. International Journal of Food Properties, 18(7):1584-1596.

[6] Dan, T., Wang, D., Jin, R., Zhang, H., Zhou, T. and Sun, T., 2017. Characterization of volatile compounds in fermented milk using solid-phase microextraction methods coupled with gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Dairy Science, 100(4):2488-2500.

[7] Ligor, M., Jarmalaviciene, R., Szumski, M., Maruška, A. and Buszewski, B., 2008. Determination of volatile and non volatile products of milk fermentation processes using capillary zone electrophoresis and solid phase microextraction coupled to gas chromatography. Journal of Separation Science, 31(14):2707-2713.

[8] Ziadi, M., Wathelet, J-P., Marlier, M., Hamdi, M. and Thonart, P., 2008. Analysis of Volatile Compounds Produced by 2 Strains of Lactococcus lactis Isolated from Leben (Tunisian Fermented Milk) Using Solid Phase Microextraction Gas Chromatography. Journal of Food Science, 73(6):S247-S252.

[9] Koksoy, A. and Kilic, M., 2004. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. Food Hydrocolloids, 18(4):593-600.

[10] Ozer, B., Kirmaci, HA., Oztekin, S., Hayaloglu, A. and Atamer, M., 2007. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. International Dairy Journal, 17(3):199-207.

[11] Şanli, T., Sezgin, E., Şenel, E. and 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.

[12] Romeih, E. and Walker, G., 2017. Recent advances on microbial transglutaminase and dairy application. Trends in Food Science & Technology, 62:133-140.

[13] Kuraishi, C., Yamazaki, K. and Susa, Y., 2001. Transglutaminase: its utilization in the food industry. Food Reviews International, 17(2):221-246.

[14] Oner, Z., Karahan, A., Aydemir, S. and Aloglu, H.S., 2008. Effect of transglutaminase on physicochemical properties of set-style yogurt. International Journal of Food Properties, 11(1):196-205.

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

[16] Vardjan, T., Mohar, Lorbeg., P, Čanžek. and Majhenič, A., 2018. Stability of

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

prevailing lactobacilli and yeasts in kefir grains and kefir beverages during ten weeks of propagation. International Journal of Dairy Technology, 71:51-60.

[17] Walsh. AM., Crispie, F., Kilcawley, K., O'Sullivan, O., O'Sullivan, MG., Claesson, MJ. and Cotter, P.D., 2016. Microbial succession and flavor production in the fermented dairy beverage kefir. Msystems, 1(5):e00052-00016.

[18] Temiz, H. and Dağyıldız, K., 2017. Effects of Microbial Transglutaminase on Physicochemical, Microbial and Sensorial Properties of Kefir Produced by Using Mixture Cow's and Soymilk. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 37(4):606.

[19] Plessas, S., Bekatorou, A., Gallanagh, J., Nigam, P., Koutinas, A. and Psarianos, C., 2008. Evolution of aroma volatiles during storage of sourdough breads made by mixed cultures of Kluyveromyces marxianus and Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus or Lactobacillus helveticus. Food Chemistry, 107(2):883-889.

[20] NIST. (2018). The National Institute of Standards and Technology, http://webbook.nist.gov/chemistry/.

[21] De Kruif, C. and Tuinier, R., 2001. Polysaccharide protein interactions. Food Hydrocolloids, 15(4-6):555-63.

[22] Lucey, J.A., 2001. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. Food Hydrocolloids, 15(4-6):603-608.

[23] Dickinson, E. and Lorient, D., 1996. Food macromolecules and colloids. The Royal Society of Chemistry Cambridge, 328–339.

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

[25] Hashemi, FS., Gharibzahedi, SMT. and Hamishehkar, H., 2015. The effect of high methoxyl pectin and gellan including psyllium gel on Doogh stability. RSC Advances, 5(53):42346-42353.

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

[27] Temiz, H. and Çakmak, E., 2018. The effect of microbial transglutaminase on probiotic fermented milk produced using a mixture of bovine milk and soy drink. International Journal of Dairy Technology, 71(4):906-920.

[28] Aghlara, A,, Mustafa, S., Manap, Y.A. and Mohamad, R., 2009. Characterization of headspace volatile flavor compounds formed during kefir production: Application of solid phase microextraction. International Journal of Food Properties, 12(4):808-818.

[29] Guzel-Seydim, Z., Seydim, A. and Greene, A,m., 2000. Organic acids and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of kefir. Journal of Dairy Science, 83(2):275-277.

[30] Delgado, F.J., González-Crespo, J., Cava, R., García-Parra, J. and Ramírez, R., 2010. Characterisation by SPME–GC–MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese PDO Torta del Casar during ripening. Food Chemistry, 118(1):182-189.

[31] Güzel-Seydim, Z., Seydim, A., Greene, A. and Bodine, A., 2000. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. Journal of Food Composition and Analysis, 13(1):35-43.

[32] McSweeney, PL. and Sousa, M.J., 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. Le Lait, 80(3):293-324.

[33] Tamime, A.Y. and Robinson, R.K., 2007. Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology. 3rd edn. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, Page:791.

[34] Kilcawley, K., Faulkner, H., Clarke, H., O'Sullivan, M. and Kerry, J., 2018. Factors influencing the flavour of bovine milk and cheese from grass based versus non-grass based milk production systems. Foods, 7(3):37.

[35] Solano□Lopez, C.E., Ji, T. and Alvarez, V.B., 2005. Volatile compounds and chemical changes in ultrapasteurized milk packaged in polyethylene terephthalate containers. Journal of Food Science, 70(6):c407-c412.

[36] Wang ,W., Zhang, L. and Li, Y., 2012. Production of volatile compounds in reconstituted milk reduced-fat cheese and the physicochemical properties as affected by exopolysaccharide-producing strain. Molecules, 17 (12):14393-14408.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]

Study of adding microbial transglutaminase enzyme on the volatile compounds of traditional kefir beverage

Beirami-Serizkani, F.[1], Hojjati, M. [2*], Jooyandeh, H. [2]

1. MS Student, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan

(Received: 2019/06/28 Accepted: 2019/09/25)

Kefir is a kind of dairy drink with unique and exotic flavor that is traditionally produced from fermented milk with kefir grains included a mix of bacteria and yeasts. The phase separation during storage of kefir results in an unfavorable appearance, which is known as a defect, which can be controlled by making the cross- links between the milk proteins. In this research, the addition of the microbial transglutaminase enzyme (m-TG) to diminish the syneresis and its effect on the aromatic compounds of kefir was investigated during one-month storage at a refrigerated temperature using a solid phase microextraction method combined with a gas chromatography–mass spectrometer. The results showed that the adding of the m-TG to kefir significantly affected the syneresis of kefir and caused reduce in phase separation of kefir during storage. In total, 51 volatile compositions were isolated and identified from kefir samples using SPME-GC/MS. Most of the identified compounds include acids, alcohols, ketones, esters, and aldehydes, respectively. The results indicated that the storage time significantly affected the amount of all volatile compositions, so that some volatile compounds increased, while some volatile compounds decreased during storage. The m-TG had no effect the content of the volatile constituents except for alcohols. The findings of this study revealed that the total amounts of alcoholic and acidic compounds as well as carbon dioxide were increased during storage. On the other hand, total amounts of ketones, aldehydes and esters in kefir decreased during storage.Based on the findings of this study, it could be concluded that the use of m-TG without significant effect on the properties of aromatic compounds of kefir reduces its syneresis during storage.

Keywords: Fermented dairy drink, Microbial transglutaminase, Syneresis, Gas chromatography

* Corresponding Author E-Mail Address: hojjati@asnrukh.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-11]