تاثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز بر ویژگی‌های شیمیایی، بافتی و ریزساختار پنیر سفید آب نمکی کم چرب

آزاده صیادی[۱]، اصغر خسروشاهی اصل[۲] و اشکان مددلو[۳*]

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۹ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۱۷

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

[۲] استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

[۳] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران تهران

[*]مسئول مکاتبه: E-mail: ashkan.madadlou@gmail.com

چکیده

تاثیر اضافه کردن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی هم زمان با رنین یا پس از بریدن دلمه روی ویژگی‌های شیمیایی، بافتی و ریزساختاری پنیر سفید ایرانی کم چربی مورد مطالعه قرار گرفت. در هر دو حالت، اضافه کردن آنزیم موجب افزایش رطوبت، راندمان پنیرسازی، بازیافت پروتئین و نسبت رطوبت به پروتئین در پنیر شد. اضافه کردن ترانس‌گلوتامیناز بعد از بریدن دلمه موجب دستیابی به میزان بیشتر نسبت رطوبت به پروتئین و مقدار کمتر تنش در نقطه گسیختگی و مدول یانگ شد. افزودن همزمان ترانس گلوتامیناز و رنین باعث بازیافت مقدار بیشتری پروتئین در پنیر شد. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز موجب ایجاد شبکه‌ای با ریزساختار متخلخل و فشردگی کمتر گردید.

واژه‌های کلیدی: پنیر کم چربی، ترانس گلوتامیناز، بافت، ریزساختار

The effect of transglutaminase on the chemical and textural characteristics and microstructure of low-fat white brined cheese

A Sayadi[1], A Khosrowshahi asl[2] and A Madadlou[3*]

Received: March 07, 2012 Accepted: March 07, 2012
[1]MSc Student, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, university of Urmia, Urmia, Iran
[2]Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, university of Urmia, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Food Technology, Institute of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran
*Corresponding author: E-mail: ashkan.madadlou@gmail.com

Abstract
The effect of adding microbial transglutaminase either with rennin or after cutting the cheese curd was studied on chemical, textural and microstructural properties of low-fat Iranian White cheese. In both cases, addition of transglutaminase increased the moisture content, cheese yield, protein recovery and ratio of moisture to protein. Treatment of cut curd with transglutaminase led to a higher ratio of moisture to protein and less stress at fracture and young's modulus. Transglutaminase yielded in a network with porous microstructure and reduced compaction.

Keywords: Low-fat cheese, Transgloutaminase, Texture, Microstructure

مقدمه

امروزه به علت تمایل به کم کردن مصرف چربی در جامعه، تولید محصولات کم چربی یا بدون چربی موضوع مورد علاقه‌ی صنعت غذا است. محصولات لبنی با چربی کاهش یافته، از جمله پنیر که منبعی از پروتئین‌های با کیفیت بالا، کلسیم و مواد تغذیه‌ای دیگر می‌باشند (میشائیلیدو و همکاران ۲۰۰۳)، متداول‌ترین مواد غذایی با چربی کاهش یافته هستند (دریک و همکاران ۱۹۹٦). چربی یکی از ترکیبات اصلی پنیر است و در ویژگی‌های حسی و کارکردی آن نقش بسزایی دارد. چربی بخش عمده‌ای از طعم غذا را حمل کرده و بافتی رضایت بخش به آن می‌دهد و در بافت پنیر به عنوان روانساز اصلی عمل می‌کند. پنیرهای کم چرب در مقایسه با رقم‌های پرچرب معمولا دارای طعم ضعیف‌تر و مشکلات بافتی می‌باشند (ککا و همکاران ۲۰۰٤؛ پائولسون و همکاران ۱۹۹۸؛ سیپاهی اغلو و همکاران ۱۹۹۹). مشکل اصلی در تهیه پنیرهای کم چرب محتوای پروتئینی بالاتر در این دسته از فراورده‌ها است. در ریز ساختار پنیر، آب و چربی به عنوان پرکننده عمل می‌کنند و مانع از نزدیک شدن زنجیره‌های پروتئینی به یکدیگر و فشرده شدن ماتریکس پرتئینی می‌شوند. هرچه مقدار چربی بیشتر کاهش می‌یابد زمینه پروتئینی پنیر فشرده‌تر و بافت آن جویدنی می‌شود (مک کنا ۲۰۰۳؛ میستری و همکاران ۱۹۹٦). یکی از مهم‌ترین رهیافت‌ها در ساخت پنیرهای کم‌چرب برای بهبود ویژگی‌های آنها، افزایش میزان رطوبت تا حدی است که نسبت رطوبت به پروتئین در پنیرهای کم چرب برابر یا بیشتر از نوع پرچرب آن بشود (برادبنت و همکاران ۲۰۰۱). از بین روش‌های مختلفی که برای بهبود بافت و طعم پنیر کم چرب مرسوم هستند اصلاح فناوری‌های معمول یا معرفی فناوری‌های جدید ساخت پنیر که باعث افزایش

حفظ رطوبت در پنیر می‌شوند (کندیلی و همکاران ۲۰۰۳؛ رومیه و همکاران ۲۰۰۲) مورد توجه هستند.

آنزیم ترانس گلوتامیناز یک آسیل‌ترانسفراز است که می‌تواند واکنش‌هایی مانند ایجاد اتصالات عرضی، انتقال آسیل و دآمیداسیون را کاتالیز کند. هنگامیکه اسید آمینه لیزین پذیرنده آسیل باشد، واکنش انتقال آسیل بین گروه γ-کربوکسی آمید اسیدآمینه گلوتامین و گروه آمین نوع اول در اسیدآمینه لیزین منجر به تشکیل پیوند عرضی ε- (γ- glutamyl)- lysine می‌شود (دی پیرو و همکاران ۲۰۱۰؛ موتوکی و کومازاوا ۲۰۰۰؛ موتوکی و سگورو ۱۹۹۸). تشکیل اتصالات عرضی کوالان بین پروتئین‌ها منجر به تغییراتی در ویژگی‌های کارکردی آنها می‌شود و از این ویژگی برای تولید محصولاتی با ویژگی‌های حسی و رئولوژیکی بهتر استفاده می شود (بونیش و همکاران ۲۰۰۸). تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که کازئین شیر به علت ساختمان غیر کروی و باز خود یک سوبسترای خوب برای آنزیم ترانس گلوتامیناز است و می‌تواند یک ژل مقاوم به حرارت و پایدار تشکیل دهد. ترانس گلوتامیناز تولید فراورده‌های لبنی مانند بستنی، پنیر و ماست با مقدار چربی یا ماده جامد غیر چرب کاهش یافته را ممکن می سازد (موتوکی و کومازاوا ۲۰۰۰؛ موتوکی و سگورو ۱۹۹۸). استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز در فرآیند ساخت پنیر باعث ایجاد تغییراتی در این فرایند می‌شود که عبارتند از: تغییر در ویژگی‌های رئولوژیکی دلمه و روند انعقاد دلمه، ۲- جلوگیری از درهم آمیختگی گلبول‌های چربی، ۳- باقی ماندن مقدار بیشتری از پروتئین‌های آب پنیر در دلمه، ٤- تحت تاثیر قرار دادن مراحل اولیه و ثانویه انعقاد (بونیش و همکاران ۲۰۰۸؛ پریرا و همکاران ۲۰۰۹). دی‌پیرو و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که ترانس گلوتامیناز قادر است راندمان پنیرسازی را از راه حفظ رطوبت در دلمه افزایش دهد. فرناندزدسا و بردیگنن لوییز (۲۰۱۰) نشان دادند که تیمار شیر با ترانس گلوتامیناز هفت دقیقه پس از افزودن رنت به آن، حین تهیه‌ی ژل از شیر، روش کارایی برای بهبود ویژگی‌های فیزیکی پنیر پروسس تهیه شده از آن ژل‌ها می باشد. نظر به اینکه مشکل اصلی در تهیه پنیرهای با چربی کاهش یافته، شبکه‌ی پروتئینی فشرده و بافت جویدنی آن است لذا هدف این پژوهش افزایش نسبت رطوبت به پروتئین در بافت پنیر سفید ایرانی کم چربی از راه تیمار با آنزیم ترانس گلوتامیناز و مطالعه‌ی ویژگی‌های شیمیایی و بافتی محصول بود.

مواد و روش‌ها

مواد

شیر تازه گاو از دامداری دانشگاه ارومیه تهیه شد و با خامه‌گیر (آسیا زمیت، جی ای ۱٤۰، ترکیه) چربی آن جدا شد. ویژگی‌های شیمیایی شیر پس چرخ استفاده شده در جدول یک نشان داده شده است. آغازگر مصرفی R-704 حاوی گونه‌های لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه کرموریس[1] و لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس[2] از شرکت لبنی کریستین هانسن، دانمارک بود. کیموزین به دست آمده از تخمیر توسط آسپرژیلوس نیجر واریته آواموری (رنت استاندارد، کی مکس[3]، شرکت لبنی کریستین هنسن، دانمارک، با فعالیت ۲۰۸۰ واحد بین المللی لخته کنندگی شیر در گرم) مورد استفاده قرار گرفت. آنزیم ترانس گلوتامیناز (EC ۲,۳,۲,۱۳) میکروبی (Activa YG) به دست آمده از استرپتوورتیسیلیوم[4] با میانگین فعالیت ۱۰۰ واحد در گرم (بر اساس اطلاعات ارائه شده توسط تولید کننده) از شرکت آجینوموتو[5] ، ژاپن، تهیه شد. سایر مواد مورد استفاده در آزمایشات محصول شرکت مرک، آلمان، بودند.

تیمارها

1. *Lactobucillus lactis* ssp. *cremoris*
2. *Lactobucillus lactis* ssp. *lactis*
3. Chy-Max
4. *Streptoverticillium*
5. Ajinomoto

سه تیمار از پنیر کم چربی تهیه شد که عبارت بودند از: (الف) نمونه شاهد، (ب) و (ج) نمونه‌های پنیر دارای آنزیم ترانس گلوتامیناز به مقدار ۱۵ واحد به ازای هر لیتر شیر، به ترتیب افزوده شده همزمان با افزودن رنین و بلافاصله پس از برش دلمه.

تهیه پنیر

مقدار ۱۰ کیلو گرم شیر پس چرخ درون وت‌هایی از جنس استیل ضد زنگ ریخته شد و به شیوه غیر مداوم در یک حمام آب در دمای ٦٥ درجه‌ی سلسیوس به مدت ٥ دقیقه (هایال اوغلو و همکاران ۲۰۰۲) پاستوریزه و سپس تا ۳٥ درجه‌ی سلسیوس خنک شد. در این دما کلرید کلسیم به میزان ۰/۱ گرم به ازای کیلو گرم شیر به آن اضافه شد. پس از تلقیح مایه کشت آغازگر به مقدار ۰/۰٤ گرم به ازای هر کیلو گرم، شیر برای حدود ٥٥ دقیقه در این دما نگهداری شد. پس از آن، رنت به مقدار ۰/۰۲٥ گرم به ازای هر کیلو گرم شیر اضافه شد. لخته، پس از سفت شدن (به طور تقریبی پس از ٤٥ دقیقه) به صورت مکعب‌هایی به اضلاع یک سانتی متر بریده شد و برای ۱۰ دقیقه به حال خود رها گردید. سپس با آهنگی به تدریج فزاینده، مکعب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه بهم زده شدند تا خروج آب پنیر از آنها تسریع شود. پس از تخلیه آب پنیر، لخته در داخل قالب‌های پنیر ریخته شد و به مدت ۲/٥ ساعت پرس شد. فشار پرس کردن به تدریج طی ساعت اول تا حدود ۲۹۰۰ پاسکال افزایش داده شد و سپس تا پایان پرس، این مقدار فشار حفظ گردید. در مرحله‌ی بعد، لخته‌ی پرس شده به قطعه‌هایی بریده شده (٤ در ٦ در ٦ سانتی متر)، برای افزایش اسیدیته و خروج بیشتر رطوبت و نیز یکنواخت شدن توزیع رطوبت در آنها در دمای ۲۳-۲٥ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۹ ساعت نگهداری شد. سپس در داخل ظروف پلاستیکی غیر قابل نفوذ به هوا قرار داده شدند و سطح آنها با آب نمک ۱۳ درصد پوشانیده شد (آب نمک مصرفی، پیش تر در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه شده، پس از خنک کردن سریع، با عبور دادن آن از یک پارچه تمیز، صاف شده و با افزودن اسید لاکتیک ۹۹ ٪، pH آن در حدود ٤/٥٦ تنظیم گردید). سپس ظرف‌ها دربندی شده و پس از نگهداری ٤٨ ساعتی در دمای ۲۳-۲٥ درجه‌ی سلسیوس تا پایان دوره‌ی رسیدگی ٥۰ روزه در دمای ٥-٦ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند.

آنزیم ترانس گلوتامیناز به مقدار ۱۵ واحد به ازای هر لیتر شیر به صورت همزمان با رنین (کد ب) یا بلافاصله بعد از بریدن دلمه (کد ج) به تیمارهای مربوطه اضافه شد.

آزمایش‌های شیمیایی

pH شیر و نمونه‌های پنیر با استفاده از pH سنج دیجیتالی میکروپروسسور مدل pH 537 WTW ساخت کشور آلمان تعیین گردید. رطوبت نمونه‌های پنیر با روش آون مدل هریوس ۰۱-٥۰٥۰ای ساخت آمریکا، میزان چربی شیر و نمونه‌های پنیر به روش ژربر، مقدار پروتئین کل پنیر و شیر به روش کلدال و تبدیل رقم به دست آمده به محتوای پروتئینی با ضرب کردن آن در ٦/۳۸ بدست آمد (AOAC ۱۹۹۷).

بازده پنیرسازی و بازیابی ازت

بازده پنیرسازی از تقسیم کردن وزن پنیر پیش از آب نمک گذاری (پس از نگهداری ۱۹ ساعتی در دمای ۲۳-۲٥ درجه‌ی سلسیوس) به وزن شیر مصرف شده محاسبه گردید. درصد ازت بازیافت شده در پنیر،از تقسیم مقدار کل ازت پنیر بر مقدار کل ازت شیر به دست آمد (جانسون و همکاران ۲۰۰۱).

فشرش تک محوری

فشرش تک محوری که ساده ترین آزمایش بنیادین است (تونیک و همکاران ۲۰۰۲) با استفاده از یک ماشین تحلیل گر بافت[1] (تستومتریک، مدل ام ۳٥۰-۱۰ سی تی، رچدال، بریتانیا) مجهز به لود سل ٥۰۰ نیوتنی انجام گرفت. برای انجام آزمایش، پیستونی مسطح با قطر ٤۹ میلی متر به پیشانی پیشرونده دستگاه متصل گردید.

1. Texture Analyzer

قطعه‌های پنیر به مکعب‌هایی با اضلاع ۱۸ میلی متر در دمای ٦ درجه‌ی سلسیوس بریده شده و به منظور جلوگیری از دست دادن رطوبت، به سرعت در داخل ظرف‌های غیر قابل نفوذ به هوا قرار داده شده و دربندی گردیدند. نمونه‌های پنیر دست کم از عمق ۲ میلی متری قطعه‌های پنیر انتخاب شدند (رومیه و همکاران ۲۰۰۲). برای اینکه نمونه‌ها با اتاق هم‌دما شوند، به مدت دست کم ٤ ساعت پیش از آزمایش در دمای اتاق نگهداری شدند (مددلو و همکاران ۲۰۰٦). نمونه‌ها به صورت تک محوری با سرعت پیشانی ۳۰ میلی متر بر دقیقه تا ۵۷ درصد (۸/۵ میلیمتری) از ارتفاع اولیه نمونه در یک گاز فشرده شدند. تنش گسیختگی از تقسیم کردن نیروی ثبت شده در نقطه گسیختگی منحنی دفورماسیون تقسیم بر سطح اولیه نمونه (رومیه و همکاران ۲۰۰۲) و مدول کشسانی یانگ به صورت مدول سکانت در نقطه گسیختگی (محسنین ۱۹۸٦) به دست آمد.

ریزساختار

برای تهیه‌ی نمونه‌های پنیر برای میکروسکوپ الکترونی اسکنی قطعه‌های پنیر با کاردی برنده به مکعب‌های تقریبا ۵-٦ میلیمتر مکعبی بریده شده و در گلوترآلدهید ۲/۵ درصد به مدت ۳ ساعت غوطه ور شدند تا تثبیت گردند. مکعب‌ها ٦ بار با آب مقطر شستشو داده شدند و با استفاده از سری درجه بندی شده (٤۰، ۵۵، ۷۰، ۸۵، ۹۰ و ۹٦ درصد) اتانول به مدت ۳۰ دقیقه برای هر درجه، آبزدایی شدند (مددلو و همکاران ۲۰۰۵) .پس از این، نمونه‌ها سه بار (پنج دقیقه در هر بار) در کلروفرم چربی زدایی شده و سپس نمونه‌های چربی زدایی شده سرد گردیدند و تا زمانی که در ازت مایع به تکه‌های بطور تقریبی یک میلی متری انجماد شکنی بشوند با اتانول پوشانده شدند (سیپاهی‌اوغلو و همکاران ۱۹۹۹). تکه‌های پنیر، به کمک چسب نقره بر روی پایه‌های آلومینیومی نصب گردیده، در یک پوشش دهنده- پاشنده (مدل اس سی دی صفرصفر O، ساخت شرکت BAL-TEC کشور سوئد) تا نقطه بحرانی خشک شده، و به مدت ٦ دقیقه با طلا پوشش داده شدند. نمونه‌ها در یک میکروسکوپ الکترونی اسکنی (مدل ایکس ال ۳۰، ساخت شرکت فیلیپس، هلند) با کاربری در ۱۵ کیلو ولت در بزرگنمایی ۷۵۰۰ عکس برداری شدند. عکس برداری میکروسکوپی نمونه‌های پنیر در روز ۵۰ رسیدگی انجام شد.

آنالیز آماری

تیمارها در دو تکرار تهیه شدند و آزمایشات در سه نوبت انجام شدند. در این تحقیق برای تجزیه آماری داده‌ها از طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی استفاده شد. تحلیل و ارزیابی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS در سطح احتمال ۵ درصد و مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی پنیر، راندمان پنیرسازی و بازیافت پروتئین

جدول ۲ ترکیب شیمیایی تیمارهای پنیر تهیه شده را گزارش می دهد. نمونه‌های تیمار شده با ترانس گلوتامیناز دارای میزان رطوبت بیشتری بودند. محتوای رطوبت پنیر بطور مستقیم با سینرزیس دلمه در ارتباط است و این دو با خروج آب پنیر از دلمه در ارتباط هستند. پروتئین‌ها تمایل به بازآرایی مجدد دارند و این بازآرایی ظرفیت نگه‌داری آب شبکه پروتئینی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (فرناندز دسا و همکاران ۲۰۱۰؛ لوسی ۲۰۰۱).

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار ویژگی‌های شیمیایی شیر پس چرخ

رطوبت (٪)	پروتئین (٪)	چربی (٪)	اسیدیته (درجه‌ی دورنیک)	pH
۹۱/۰۷ ± ۰/۲۲	۳/۲۵ ± ۰/۱۸	۰/۵ ± ۰/۰٦	۱۵ ± ۰/۰۸	٦/۷ ± ۰/۱۰

اتصالات عرضی کووالانی کاتالیز شده توسط ترانس‌گلوتامیناز، شبکه‌ی کازئینی را پایدار می‌کنند و چروکیدگی دلمه را با افزایش به دام افتادن آب پنیر در درون دلمه، کاهش می‌دهد. در این رابطه پیوندهای ایزوپپتیدی ایجاد شده توسط ترانس‌گلوتامیناز حجم آزاد درون ماتریکس پروتئینی را افزایش می دهند که به افزایش نگه‌داری آب پنیر منجر می شود (دی پیرو و همکاران ۲۰۱۰). به عبارت دیگر ترانس‌گلوتامیناز یک شبکه پروتئینی پایدار با منافذ کوچک که سینرزیس را کاهش می‌دهد تولید می‌کند (گوشه و همکاران ۲۰۰۹) این اثرات باعث می شود که پروتئین‌های آب پنیر، قطعات و ماکروپپتیدهای کازئینی خرد شده موجود در آب پنیر در دلمه باقی بمانند. نمونه‌ی شاهد در مقایسه با دیگر تیمارها دارای بیشترین درصد پروتئین و کمترین میزان بازیافت پروتئین بود. وقتی که به شیر رنت زده می شود، کازئین‌های شیر، دلمه پاراکازئینات را تشکیل می‌دهند و دلمه پنیر شکل می‌گیرد. پروتئین‌های آب پنیر که محلول می‌باشند و قطعات کازئین خرد شده به همراه آب پنیر خارج می‌شوند. درصد بالاتر پروتئین در تیمار شاهد بازگو کننده این است که پروتئین‌ها و شبکه پاراکازئینی با بیشترین تراکم کنار هم قرار گرفته اند و قسمت اعظم بافت پنیر را تشکیل داده اند. اما کمترین میزان بازیافت پروتئین نشان دهنده این است که قسمت اعظم پروتئین‌های آب پنیر محلول و قطعات کازئینی خرد شده به همراه آب پنیر از دلمه خارج شده اند. استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز اگرچه درصد پروتئین را در بافت کاهش داده است اما موجب افزایش بازیافت پروتئین شده است (جدول ۲). این شواهد بیانگر این است که آنزیم با ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌های شیر توانسته است یک شبکه پایدار را ایجاد کند که از خروج آب پنیر جلوگیری می‌کند و به دنبال آن سهم جزء رطوبت در دلمه افزایش و درصد جزء پروتئین کاهش می‌یابد و نیز اینکه در اثر درهم تنیدن پروتئین‌های شیر باعث اتصال و حفظ مقدار بیشتری از پروتئین‌های آب پنیر و زنجیره‌های کوتاه کازئینی در دلمه شده است. نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر در تطابق با یافته‌های کزولینو و همکاران (۲۰۰۳) است که مشاهده کردند افزودن ترانس گلوتامیناز به شیر پاسیتوریزه پیش از و همراه با رنت، منجر به نگهداشت ۹۰ درصد پروتئین‌های آب پنیر در دلمه‌ی پنیر شد.

یکی از معایب ساخت پنیر کم چرب کاهش قابل توجه بازده پنیر سازی می‌باشد. اگرچه رطوبت تا حدی جایگزین چربی موجود در پنیر می‌شود اما کاهش کلی بازده (کیلو گرم پنیر به ازای کیلو گرم شیر) در تولید پنیر از شیر کم چرب نشان می‌دهد مقدار رطوبت جایگزین شده برابر با مقدار چربی کم شده نیست (رحیمی و همکاران ۲۰۰۷). از جدول ۲ مشخص است که تیمار با آنزیم ترانس گلوتامیناز، راندمان پنیرسازی را به احتمال زیاد از راه افزایش نگه‌داری آب پنیر و بازیافت پروتئین در دلمه افزایش داد. به طور مشابهی دی پیرو و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که تیمار با ترانس گلوتامیناز چه همراه با رنت و چه پس از بریدن دلمه موجب افزایش رطوبت و راندمان پنیرسازی شد. هنگامیکه ترانس‌گلوتامیناز همزمان با رنین اضافه شد راندمان بطور معنی داری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از زمانی بود که آنزیم بعد از بریدن دلمه اضافه شد. تیمارهمزمان با رنین دارای بازیافت پروتئین بیشتری نیز در مقایسه با تیمار پس از بریدن دلمه بود و این نشان می دهد که ترانس گلوتامیناز احتمالا روی شیر کاراتر از دلمه عمل کرده و توانسته است مقدار بیشتری از پروتئین‌های آب پنیر و قطعات کازئینی را حین تشکیل ژل پنیر در مقایسه با پس از تشکیل ژل در آن بتند. در تضاد با این نتایج، دی پیرو و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که درصد پروتئین پنیر و همینطور راندمان پنیرسازی هنگام تیمار دلمه‌ی بریده شده با ترانس گلوتامیناز بالاتر از هنگامی بود که آنزیم همراه با رنت استفاده شد. به نظر می‌رسد تفاوت در مقدار ترانس گلوتامیناز مصرفی در دو مطالعه دلیل اصلی این نتایج متضاد باشد. آن محققین تنها از ۲

واحد ترانس گلوتامیناز به ازای هر لیتر شیر برای در هم تنیدن پروتئین‌ها در مقایسه با ۱۵ واحد ترانس گلوتامیناز با فعالیت آنزیمی مشابه به ازای هر لیتر شیر در مطالعه‌ی حاضر استفاده کردند. در آن پژوهش آنزیم درهم تنیننده که غلظت کمی داشت، احتمالا بیشتر روی کازئین که در مقایسه با پروتئینهای سرم شیر سوبسترای بهتری است عمل کرده و کمتر به درهم تنیدن و اتصال دادن پروتئین‌های آب پنیر به دلمه‌ی کازئینی در حال شکل گیری پرداخته است. در مقایسه، در مطالعه‌ی حاضر احتمالا غلظت ترانس گلوتامیناز به اندازه‌ی کافی بالا بوده تا علاوه بر درهم تنیدن کازئینها چه به صورت درون میسلی در ابتدای مرحله‌ی انعقاد که هنوز کاپاکازئین سطح میسل را پوشانده بود و چه به صورت بین میسلی در ادامه‌ی انعقاد که رنین لایه‌ی کاپاکازئینی را آبکافت کرد، به اتصال دادن پروتئینهای آب پنیر به دلمه‌ی در حال شکل گیری اقدام کند. به شکل مشابهی هنگامی که از غلظت زیاد ۵-۸۰ واحد ترانس گلوتامیناز به ازای گرم پروتئین شیر همراه با رنت استفاده شد بخش عمده‌ی پروتئینهای آب پنیر در مرحله انعقاد در لخته وارد شدند (کزولینو و همکاران ۲۰۰۳).

پیوندهای پروتئین – پروتئین در ژل‌های کازئینی حین و بلافاصله پس از تشکیل آنها دچار بازآرایی می-شوند (واتکینسون و همکاران ۲۰۰۱). به نظر می‌رسد بازآرایی پیوندها در ژل تشکیل شده که با خروج آب پنیر همراه هست و منجر به متراکم تر شدن شبکه‌ی ژل و سفت تر شدن ژل نهایی می شود (استوز و همکاران ۲۰۰۳؛ ویوم و همکاران ۲۰۰۳) عمدتا ماهیت درون شبکه‌ای داشته (پادونگات ۲۰۰۵) و وارد شدن مولکولهای پروتئینی جدید از خارج از شبکه به داخل شبکه حین این شکسته شدن پیوندهای موجود و برقرار شدن مجدد آنها کمتر رخ می دهد. از این رو در تیمار کد ج احتمالا ترانس گلوتامیناز قادر نبوده تعداد زیادی مولکول پروتئینی جدید را به شبکه‌ی ژلی تشکیل شده و در حال بازآرایی وارد کند. در حالی که ترانس گلوتامیناز افزوده شده به شیر به دلیل عدم وجود دلمه‌ی یکپارچه‌ی کازئینی، توانسته تعداد زیادتری پروتئین سرمی و ماکروپپتید کازئینی را در ژل در حال شکل گیری وارد کند.

تیمار شاهد در مقایسه با بقیه تیمارها دارای کمترین نسبت رطوبت به پروتئین بود. تیمار با آنزیم ترانس گلوتامیناز به خوبی توانست این نسبت را افزایش دهد (جدول ۲). کاهش چربی شیر باعث کاهش نسبت رطوبت به پروتئین می‌شود که موجب هیدراتاسیون کمتر کازئین‌ها و افزایش درهم کنش آنها می‌شود. پروتئین‌های آب پنیر می‌توانند به عنوان جایگزین‌های چربی بکار روند، آنها خیلی بیشتر از کازئین‌ها آب جذب می‌کنند و پنیر نرمتری را تولید می‌کنند (جوینده ۲۰۰۹). ترانس‌گلوتامیناز از راه حفظ پروتئین‌های آب پنیر در لخته‌ی پنیر موجب ایجاد یک شبکه پروتئینی با فضای آزاد درونی و ظرفیت نگهداری آب بسیار بیشتری شد. این موضوع باعث افزایش نسبت رطوبت به پروتئین در پنیر با چربی کاهش یافته گردید.

فشرش تک محوری

برای پی بردن به ویژگی‌های بافتی تیمارها، دو پارامتر تنش در نقطه گسیختگی و مدول کشسانی یانگ پنیرها مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی، راندمان پنیرسازی و مقدار بازیابی پروتئین تیمارهای پنیر

نام نمونه	رطوبت (٪)	پروتئین (٪)	چربی (٪)	راندمان (٪)	بازیافت پروتئین (٪)	نسبت رطوبت به پروتئین
الف	۵۵/۸۳±۰/۱۲ c	۳۱/۷٤±۰/۲٤ a	٤/۳۱±۰/۲٦ a	٦/۵±۰/۱۱ c	٦۳/٤۸±۰/۲۳ c	۱/۷۵±۰/۰۸ c
ب	۵۸/۷۱±۰/۱۰ b	۲۷/۵۹±۰/۱۷ b	٤/۲±۰/۲۱ a	۹/۲±۰/۰۹ a	۷۸/۱۰±۰/۲۱ a	۲/۱۲±۰/۰۹ b
ج	٦۱/۲۸±۰/۰۹ a	۲۷/۰٤±۰/۲۸ b	۳/۸±۰/۲۹ a	۸/۵±۰/۱۲ b	۷۰/۷۲±۰/۲۵ b	۲/۲٦±۰/۱۱ a

الف: تیمار شاهد، ب: تیمار تهیه شده با ترانس گلوتامیناز اضافه شده همزمان با رنین، ج: تیمار تهیه شده با ترانس گلوتامیناز اضافه شده بلافاصله پس از بریدن دلمه

تنش در نقطه گسیختگی با سفتی پنیر ارتباط مستقیم دارد (مدسن و آردو ۲۰۰۱؛ ویوم و همکاران ۲۰۰۳) یعنی هرچه تنش در نقطه گسیختگی بیشتر باشد، سفتی بیشتر است و برعکس. مدول کشسانی یانگ برای نشان دادن رابطه بین تنش و کرنش مواد غذایی و بیولوژیکی (محسنین ۱۹۸٦) می باشد و همانند تنش در نقطه گسیختگی هرچه مقدار آن بیشتر باشد نشان دهنده سفت تر بودن پنیر می باشد. مقدار تنش در نقطه گسیختگی و مدول کشسانی یانگ برای تیمارهای مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. تنش در نقطه گسیختگی به تعداد و استحکام پیوندهای بین ذرات کازئینی و به ساختار و توزیع فضایی رشته‌های کازئین در شبکه‌ی ژل بستگی دارد و این دو پارامتر به خوبی با سفتی پنیر سفید ایرانی مرتبط هستند (مددلو و همکاران ۲۰۰٦). استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز در مقایسه با پنیر شاهد باعث کاهش تنش در نقطه گسیختگی و مدول کشسانی یانگ شد که علت آن افزایش نسبت رطوبت به پروتئین در ترکیب شیمیایی پنیر و در نتیجه افزایش سهم جزء نرم کننده در بافت محصول می‌باشد. با استفاده از ترانس‌گلوتامیناز می‌توان محصولات لبنی مانند ماست و بستنی با محتوای چربی و ماده خشک کاهش یافته تولید کرد که بافتی مشابه محصولات پرچرب دارند. ترانس‌گلوتامیناز می‌تواند عمل چربی را در محصولات شیری تخمیر شده همانند سازی کند و جایگزین جانشین‌های چربی در محصولات کم چرب شود (السید متوالی ۲۰۰٦). تیمار ج دارای تنش در نقطه گسیختگی و مدول یانگ کمتری نسبت به تیمارب بود که به بالاتر بودن نسبت رطوبت به پروتئین در این تیمار نسبت داده می شود.

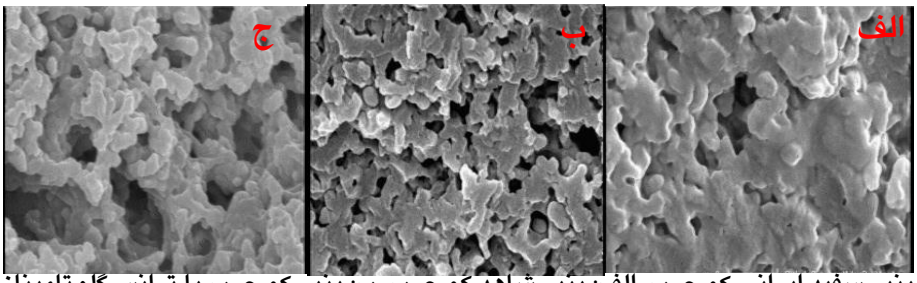
جدول ۳- پارامترهای فشرش تک محوری پنیرهای سفید ایرانی کم چربی

تیمار	تنش در نقطه گسیختگی (کیلو پاسکال)	مدول یانگ (کیلو پاسکال)
الف	۹۲٤/۱۰±۱۹/٤۲ [a]	۱۸٤/۳۷±۱٤/٥۲ [a]
ب	٦۳۷/۹۳±۱۱/۲۱ [b]	۱٥۲/۷۸±۱۹/٥۲ [b]
ج	٥۲۹/۷٤±۲۸/٥۲ [c]	۱۲٥/۰۷±۱٥/٤٦ [c]

الف: تیمار شاهد، ب: تیمار تهیه شده با ترانس گلوتامیناز اضافه شده همزمان با رنین، ج: تیمار تهیه شده با ترانس گلوتامیناز اضافه شده بلافاصله پس از بریدن دلمه.

ریزساختار

هر نوع پنیر دارای ساختار ویژه‌ای است و تفاوت بین ساختار پنیرها را می‌توان در شکل شماره‌ی یک مشاهده کرد. شکل ۱ الف اجتماعات فشرده کازئینی را در پنیر شاهد کم چربی نشان می‌دهد. آشکار است که ماتریکس پروتئینی فشرده بود و این موضوع سفت تر بودن بافت این تیمار را (جدول شماره‌ی سه) در مقایسه با دو تیمار دیگر توضیح می‌دهد. جایگزین‌های چربی رطوبت را حفظ کرده و مانع از نزدیک شدن شبکه پروتئینی و تجمع و فشردگی آن می‌شوند. رحیمی و همکاران (۲۰۰۷) برای بهبود ویژگی‌های بافتی پنیر سفید ایرانی از کتیرا استفاده کردند، حفظ رطوبت توسط کتیرا موجب نرمی بافت و کاهش فشردگی ریزساختار در پنیر کم چرب شد. شکل‌های ۱ ب و ج پنیرهای تیمار شده با ترانس گلوتامیناز را نشان می‌دهد. در این دو تصویر آشکار است که شبکه‌ی پروتئینی ایجاد شده دارای منافذ بیشتر و نیز کوچکتری در مقایسه با تیمار شاهد بود. این ساختار اسفنجی رطوبت را در داخل بافت حفظ کرده و نسبت رطوبت به پروتئین را در محصول افزایش داده است.



شکل ۱- ریزساختار پنیر سفید ایرانی کم چرب. الف: پنیر شاهد کم چرب، ب: پنیر کم چرب با ترانس‌گلوتامیناز اضافه شده هم زمان با رنین، ج: پنیر کم چرب با ترانس‌گلوتامیناز اضافه شده بعد از بریدن دلمه

نتیجه گیری

استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز باعث بهبود ویژگی‌های بافتی پنیر سفید ایرانی کم چربی شد که علت آن افزایش نسبت رطوبت به پروتئین در ترکیب شیمیایی پنیر و در نتیجه افزایش سهم جزء نرم کننده در بافت محصول می‌باشد. ترانس‌گلوتامیناز توانست عمل چربی را در پنیر همانند سازی کند. این موضوع به ویژه هنگام افزودن ترانس گلوتامیناز به دلمه‌ی بریده شده در مقایسه با افزودن همزمان با رنین نمود بیشتری دارد. می‌توان از آنزیم ترانس گلوتامیناز به عنوان جایگزین جانشین‌های چربی در تهیه‌ی پنیر کم چرب استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

Association of Official Analytical Chemists, 1997. Official Methods of Analysis, 16th ed, 3rd rev, AOAC, Arlington, VA.

Bonisch MP, Heidebach TC and Kulozik U, 2008. Influence of transglutaminase protein cross-linking on the rennet coagulation of casein. Food Hydrocolloids 22: 288-297.

Bonisch MP, Huss M, Weitl K and Kulozik U, 2007. Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. International Dairy Journal 17: 1360- 1371.

Broadbent JR, McMahon DJ, Oberg CJ and Welker DL, 2001. Use of exopolysaccaride- producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. International Dairy Journal 11: 433-439.

Cozzolino A, Di Pierro P, Mariniello L, Sorrentino A, Masi P and Porta R, 2003. Incorporation of whey proteins into cheese curd by using transglutaminase. Biotechnology and Applied Biochemistry 38: 289–295.

De Pierro P, Mariniello L, Sorrentino A, Gosafatto CVL, Chianese L and Porta R, 2010. Transglutaminase-induced chemical and rheological properties of cheese. Food Biotechnology 24: 107-120.

Drake MA, Herrett W, Boylston TD and Swanson BG, 1996. Lecithin improves texture of reduced fat cheese. Journal of Food Science 61: 639-642.

Elsayed Metwally AMM, 2006. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on properties of ice cream with different composition. International Journal of Food Science and Technology 42: 939-947.

Esteves CLC, Lucey JA, Hyslop DB, and Pires EMV, 2003. Effect of gelation temperature on the properties of skim milk gels made from plant coagulants and chymosin. International Dairy Journal 13: 877–885.

Fernandes De Sa EM and Bordignon-Luiz MT, 2010. The effect of transglutaminase on the properties of milk gels and processed cheese. International Journal of Dairy Technology 63: 243-251.

Hayaloglu AA, Guven M and Fox PF, 2002. Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese ‘Beyaz Peynir’. International Dairy Journal 12: 635–648.

Johnson ME, Chen CM and Jaeggi JJ, 2001. Effect of rennet coagulation time on composition, yield and quality of reduced-fat Cheddar cheese. Journal of Dairy Science 84: 1027-1033.

Jooyandeh H, 2009. Effect of fermented whey protein concentrate on texture of Iranian white cheese. Journal of Texture Studies 40: 497-510.

Koca N and Metin N, 2004. Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh Kashar cheese produced by using fat replacers. International Dairy Journal 14: 365-373.

Kondyli E, Massouras T, Katsiari MC and Voutsinas LP, 2003. Free-faty acids and volatile compounds in low-fat Kefalograviera-type cheese made with commercial adjunct cultures. International Dairy Journal 13: 47-54.

Lucey JA, 2001. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. Food Hydrocolloids 15: 603-608.

Madadlou A, Khosrowshahi A and Musavi ME, 2005. Rheology, microstructure, functionality of low-fat Iranian white cheese made with different concentration of rennet. Journal of Dairy Science 88: 3052-3062.

Madadlou A, Khosrowshahi A, Musavi ME and Emam-Djomeh Z, 2006. Microstructure and rheological properties of Iranian white cheese coagulated at various temperature. Journal of Dairy Science 89: 2359-2364.

Madsen JS and Ardo Y, 2001. Exploratory study of proteolysis, rheology and sensory properties of Danbo cheese with different fat contents. International Dairy Journal 11: 423-431.

McKenna BM, 2003. Texture in food, volume 1: semi-solid foods, wood head publishing Ltd. And CRC Press LLc.

Michaelidou A, Katsiari MC, Kondyli E, Voutsinas LP and Alishanidis E, 2003. Effect of a commercial adjunct culture on proteolysis in low-fat Feta-type cheese. International Dairy Journal 13: 179-189.

Mistry VV, Metzger LE and Maubios JL, 1996. Use of ultrafiltration sweet buter milk in the manufacture of reduced-fat Cheddar cheese. Journal of Dairy Science 79: 1137-1145.

Mohsenin NN, 1986. Physical properties of plant and animal materials, 2nd rev, Gordon and Breach. Science publisher, Inc. us.

Motoki M and Kumazawa Y, 2000. Recent research trends in transglutaminase technology for food processing. Food Science and Technology Research 6:151-160.

Motoki M and Seguro K, 1998. Transeglutaminase and it's use for food processing. Trends in Food Science and Technology 9: 204-210.

Paulson BM, McMahon DJ and Oberg CJ, 1998. Influence of sodium chloride on appearance, functionality and protein arrangement in non-fat Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science 81: 2053-2064.

Pereira CIP, Gomes AMP and Malcata FX, 2009. Microstructur of cheese: processing, technological and microbiological considerations. Trends in Food Science and Technology 20: 213-219.

Phadungath C, 2005. The mechanism and properties of acid-coagulated milk gels. Songklanakarin Journal Science Technology 27: 433-448.

Rahimi J, Khosrowshahi A, Madadlou A and Aziznia S, 2007. Texture of low-fat Iranian white cheese as influenced by gum tragacanth as a fat replacer. Journal of Dairy Science 90: 4058-4070.

Romeih E, Michaelidou A, Biliaderis CG and Zerfiridis GK, 2002. Low-fat white-brined cheese made from bovin milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes. International Dairy Journal 12: 525-540.

Sipahioghlu O, Alvarez VB and Solano-Lopez, 1999. Structure, physico-chemical and sensory properties of Feta cheese made whit tapioca starch and lecithin as fat mimetics. International Dairy Journal 9: 783-789.

Tunick MH, 2000. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. Journal of Dairy Science 83:1892-1898.

Watkinson P, Coker C, Crawford R, Dodds C, Johnston K, McKenna A and White N, 2001. Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. International Dairy Journal 11: 455–464.

Wium H, Pedersen PS and Qvist KB, 2003. Effect of coagulation conditions on the microstructure and the large deformation properties of fat-free Feta cheese made from ultrafiltered milk. Food Hydrocolloid 17: 287–296.