نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۳۹۶ ص.۲۹۴-۲۸۲

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 2, June. July. 2017, p. 282- 294

بهینه‌سازی تولید پنیر فراپالایش کم‌چرب با استفاده از تلفیق پروتئین‌های آب پنیر و تیمار آنزیمی به روش سطح پاسخ

عرفان دانش[۱]- حسین جوینده[۲*]- وحید سمواتی[۳]- مصطفی گودرزی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۱/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۴/۲۵

چکیده

شواهد علمی نشان داده است که مصرف چربی ارتباط مستقیمی با بیماری‌های مختلفی از جمله چاقی، دیابت، سفت شدن دیواره رگ‌ها و فشار خون دارد. به همین دلیل طی سال‌های اخیر تقاضا برای محصولات کم‌چرب افزایش چشمگیری پیدا کرده است. پنیر به‌عنوان یک فراورده لبنی با ارزش نقش پررنگی در رژیم غذایی جامعه دارد. با این حال این فراورده حاوی مقادیر بالایی از چربی می‌باشد که سبب ایجاد نگرانی‌های از جانب مصرف‌کنندگان شده است. در این پژوهش از روش سطح پاسخ به‌منظور مطالعه اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز (۲-۰ واحد به ازای هرگرم پروتئین)، محلول کنسانتره پروتئینی آب پنیر یا WPC (۱۶-۰ درصد) و سطوح چربی (۱۰-۰ درصد) بر خواص کیفی و بهینه‌سازی فرمولاسیون پنیر فراپالایش کم‌چرب استفاده گردید. نتایج نشان داد که کاهش چربی باعث افزایش معنی‌دار سفتی، ارتجاع‌پذیری و میزان رطوبت می‌شود اما چسبندگی و امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های پنیر کاهش می‌یابد. برخلاف WPC، تیمار آنزیمی با ترانس گلوتامیناز سفتی، پیوستگی و ارتجاع‌پذیری را بطور معنی‌داری افزایش داد اما میزان رطوبت و چسبندگی پنیر را کاهش داد. در این میان آنزیم ترانس گلوتامیناز اثر معنی‌داری بر امتیاز کلی ارزیابی حسی نداشت اما خواص حسی نمونه‌های پنیر کم‌چرب با جایگزینی WPC با ناتراوه تا میزان ۸٪ بهبود یافت. نتایج بهینه‌سازی با طرح مرکب مرکزی نشان داد که بهترین نمونه با خواص حسی و بافتی مطلوب زمانی حاصل می‌شود که فرمول پنیر شامل ۵/۹۵٪ چربی، ۰/۵۶ واحد آنزیم ترانس گلوتامیناز و ۸/۷۹٪ محلول WPC باشد.

واژه‌های کلیدی: پنیر فراپالایش کم‌چرب، آنزیم ترانس گلوتامیناز، کنسانتره پروتئین آب پنیر، روش سطح پاسخ

مقدمه

چاقی، سلامت مردم در کشورهای در حال توسعه و صنعتی را به شدت تهدید نموده است. چاقی منجر به بیماری‌هایی همانند دیابت نوع دو، گرفتگی عروق و انواع خاصی از سرطان می‌شود. کاهش میزان چربی در رژیم غذایی، روش خوبی برای مدیریت میزان مصرف چربی می‌باشد. بر همین اساس تقاضا برای محصولات کم‌چرب به‌طور مداوم در حال افزایش می‌باشد (Ritvanen و همکاران، ۲۰۰۵). در این میان، تولید و توسعه محصولات لبنی با چربی کاهش یافته، از جمله پنیر که منبعی از پروتئین‌های با کیفیت بالا، کلسیم و مواد تغذیه‌ای دیگر می‌باشند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد (Michaelidou و همکاران، ۲۰۰۳). با این حال، مصرف‌کنندگان، اغلب پنیر با محتوای چربی کاهش یافته را به‌عنوان پنیری فاقد کیفیت رضایت بخشی تلقی می‌کنند. کاهش مقدار چربی در پنیر، منجر به نقص‌های مختلفی از جمله بافت سخت و لاستیکی، کاهش قابلیت ذوب و کشش ضعیف می‌شود. به‌علاوه طعم، رنگ و احساس دهانی پنیر نیز به گونه‌ای منفی تحت تأثیر قرار می‌گیرد.

یکی از مهمترین رهیافت‌ها در ساخت پنیرهای کم چرب برای بهبود ویژگی آن‌ها، افزایش میزان رطوبت تا حدی است که نسبت رطوبت به پروتئین در پنیرهای کم‌چرب برابر یا بیشتر از نوع پرچرب آن بشود (Broadbent و همکاران، ۲۰۰۱). پروتئین آب‌پنیر دارای خواص عملکردی گوناگون بویژه افزایش ظرفیت نگهداری آب در

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۲ و ۳- به‌ترتیب دانشیار و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
(* - نویسنده مسئول: Email hosjooy@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.45870

مواد غذایی می‌باشند و از این نظر می‌توانند به‌عنوان جایگزین چربی در تولید محصولات لبنی بکار گرفته شوند (Ye & Taylor، ۲۰۰۹). تحقیقات دامنه داری در زمینه استفاده از کنسانتره پروتئینی آب پنیر در پنیرهای مختلفی نظیر پنیر سفید ایرانی (Jooyandeh، ۲۰۰۹)، موزارلا (Rudan و همکاران، ۱۹۹۹)، دمیاتی (El-Sheikh و همکاران، ۲۰۰۱)، هاوارتی (Lo & Bastion، ۱۹۹۸) و مانچگو (Lobato-Calleros و همکاران، ۲۰۰۱) صورت پذیرفته است که نتایج اکثر آنها افزایش راندمان تولید و بهبود طعم و بافت محصول بوده است. Jooyandeh (۲۰۰۹) گزارش نمود که با کارگیری کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر[1] در تولید پنیر سفید ایرانی، راندمان پنیرسازی افزایش یافته و پنیری با بافت نرم‌تر تولید می‌گردد. Lo و Bastion (۱۹۹۸) نیز مشاهده نمودند که از WPC بخوبی می‌توان به‌عنوان جایگزین چربی در تولید پنیر کم‌چرب استفاده نمود. در تحقیقی دیگر Koca و Metin (۲۰۰۴) خصوصیات بافتی، حسی و ذوب شدن پنیر تازه کشار[2] کم‌چرب (تقریباً ۷۰ ٪ کاهش چربی) تولید شده با جایگزین چربی بر پایه پروتئین آب پنیر را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این محققین نیز نشان داد که با استفاده از جایگزین‌های چربی، میزان سفتی[3]، قابلیت ارتجاع[4]، حالت آدامسی[5] و حالت صمغی[6] کاهش یافت اما چسبندگی[7] افزایش پیدا می‌نماید.

یکی دیگر از استراتژی‌هایی که اخیراً در جهت بهبود ویژگی‌های ناخوشایند پنیرهای کم‌چرب بکار گرفته شده است اصلاح ماتریس پنیر از طریق اتصال عرضی پروتئین‌های آن توسط آنزیم ترانس گلوتامیناز می‌باشد. آنزیم ترانس گلوتامیناز یک آسیل ترانسفراز است که می‌تواند واکنش‌هایی مانند ایجاد اتصالات عرضی، انتقال آسیل و دآمیداسیون را کاتالیز یا تسریع کند. اتصالات عرضی بین اسیدها آمینه‌های گلوتامین و لیزین موجب تغییر در ویژگی‌های رئولوژیکی دلمه و روند انعقاد دلمه، جلوگیری از درهم‌آمیختگی گلبول‌های چربی، باقی ماندن مقدار بیشتری از پروتئین‌های آب پنیر در دلمه و تحت تأثیر قرار دادن مراحل اولیه و ثانویه انعقاد در پنیر می‌شود (Gaspar & de Góes-Favoni، ۲۰۱۵). بر این اساس، به‌وسیله تیمار آنزیمی می‌توان بافت پنیر حاصله از تلفیق کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر را اصلاح نمود (Ozer و همکاران، ۲۰۱۳). تاکنون پژوهشی در مورد تأثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز روی پنیر سفید ایرانی فراپالایش کم‌چرب صورت نگرفته است و بیشتر تحقیقات اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز بر روی پنیر تهیه شده به روش سنتی را مورد بررسی قرار داده‌اند. Fernandes-DE Sa و Bordignon-Luiz (۲۰۱۰) اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز بر خواص ژل شیر و پنیر فرآوری شده را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد اضافه کردن آنزیم ترانس گلوتامیناز بعد از رنت، منجر به افزایش قوام در پنیر فرآوری شده وکاهش قابل توجه در میزان پروتئین آب پنیر می‌شود. در پژوهشی دیگر Sayadi و همکاران (۲۰۱۳) اتصال عرضی پروتئین‌های آب پنیر به‌وسیله تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز را در پنیر سفید ایرانی کم‌چرب مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد تیمار آنزیمی شیر، نسبت رطوبت به پروتئین در پنیر کم‌چرب را افزایش داده و بطور قابل توجهی باعث کاهش تنش در نقطه گسیختگی، مدول یانگ و ذخیره‌سازی می‌شود. غنی‌سازی شیر با ایزوله پروتئین آب پنیر[8] قبل از تیمار آنزیمی شاخص سختی بافت را افزایش داد.

در میان انواع مختلف پنیر در ایران، پنیر فراپالایش دارای بالاترین مصرف سرانه می‌باشد (Karami و همکاران، ۲۰۰۸). پنیر فراپالایش پنیری است با بافت نرم و مالش‌پذیر که در نتیجه فراپالایش شیر تا ماده خشک حدود ۳۵٪ و سپس انعقاد آنزیمی ناتراوه حاصل بدست می‌آید. این پنیر دارای دوره رسیدن کوتاه مدتی است و باوجود pH نهایی ۴/۸، ماندگاری آن تنها حدود ۲ ماه می باشد. پنیر تولید شده دارای ۴۰ تا ۴۵٪ چربی در ماده خشک است. پس با مصرف آن، چربی زیادی وارد رژیم غذایی مصرف‌کننده می‌گردد (Alizadeh و همکاران، ۲۰۰۶). با این وجود، تا کنون پژوهشی در ارتباط با تولید پنیر فراپالایش کم‌چرب با استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز صورت نگرفته است. از این رو، هدف پژوهش پیش-رو، بهبود ویژگی‌های پنیر سفید ایرانی کم‌چرب فراپالایش از طریق تلفیق محلول کنسانتره پروتئین‌های آب پنیر همراه با تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز میکروبی می‌باشد. چالش اصلی موجود در این مسیر، دستیابی به سطح بهینه مورد نیاز از پروتئین آب‌پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز برای تولیدی پنیری با ویژگی‌های مطلوب می‌باشد. دستیابی به فرمولاسیون بهینه، نیازمند تولید تیمارهای فراوان با فرمولاسیون-های مختلف می‌باشد که خود، هزینه‌های زمانی و مالی بسیاری را بر پژوهشگر و تولیدکننده تحمیل خواهد کرد. طی سال‌های اخیر، روش سطح پاسخ به‌عنوان روشی کارآمد برای بهینه‌سازی فرمولاسیون محصولات غذایی جدید معرفی شده است. با استفاده از این روش، تعداد تیمارها و به دنبال آن، هزینه و زمان مورد نیاز برای انجام پژوهش به‌گونه قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (Goudarzi و همکاران، ۲۰۱۵). بر این اساس، هدف پژوهش جاری، بهینه‌سازی اجزای فرمولاسیون پنیر سفید ایرانی کم‌چرب فراپالایش با استفاده از روش سطح پاسخ و در جهت تولید محصولی با ویژگی‌های مطلوب

1 Whey protein concentrate (WPC)
2 Keshar
3 Hardness
4 Springness
5 Chewiness
6 Gumminess
7 Adhessiveness

8 Whey protein isolate (WPI)

حسی و بافت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

از شیر با کیفیت بالای موجود در کارخانه پگاه خوزستان به‌منظور تهیه ناتراوه یا رتنتیت فراپالایش (دارای ۱۲/۳٪ پروتئین، ۲/۵٪ لاکتوز، ۱/۲٪ خاکستر و ۱۶٪ چربی) استفاده شد. پودر MPC یا کنسانتره پروتئینی شیر (دارای۷۰٪ پروتئین، ۱۶/۵٪ لاکتوز، ۸٪ خاکستر و ۰/۵٪ چربی) از شرکت پگاه خراسان و پودر کنسانتره پروتئینی آب پنیر (دارای ۸۰٪ پروتئین، ۹٪ لاکتوز، ۵/۵٪ خاکستر و ۱٪ چربی) از شرکت NZMP نیوزلند خریداری شد. از آغازگر مزوفیل CHOOZIT 230 (محتوی سویه‌های *لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه کرموریس و لاکتیس*) و ترموفیل YO-MIX 532 (محتوی سویه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس*) در بسته بندی صنعتی شرکت لبنی دانیسکوی آلمان، رنت استاندارد کی‌مکس[1] از شرکت لبنی هانسن دانمارک و آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی (EC ۱۳،۲،۳،۲) بدست آمده از *استرپتومایسس موبارنسیس*[2] با میانگین فعالیت ۱۰۰ واحد در گرم از شرکت BDF اسپانیا استفاده شد.

تولید پنیر

تمامی نمونه‌های پنیر با سطوح مختلف چربی با ماده خشک ۳۲ درصد مواد جامد شیر تولید شدند. به‌منظور تولید پنیرهای فراپالوده کم‌چرب از رتنتیت یا ناتراوه پرچرب (حاوی ۱۶٪ چربی و ۳۲ ٪ ماده خشک) و محلول کنسانتره پروتئینی شیر[3] (با ماده خشک برابر ۳۲٪) استفاده گردید. برای تهیه محلول کنسانتره پروتئینی آب پنیر، پودر WPC تا حصول ماده خشک ۳۲٪ با آب مقطر مخلوط و به مدت یک ساعت با همزن در دور پایین همگن شد. پس از اعمال فرایند حرارتی (۸۵°C به مدت ۵ دقیقه)، جهت هیدراته شدن بهتر پروتئین یا جذب مناسب آب توسط پروتئین، محلول آماده شده به مدت یک شب در یخچال نگهداری گردید (Sayadi و همکاران، ۲۰۱۳). در ادامه محلول کنسانتره پروتئینی آب پنیر در سطوح مختلف ۰ تا ۱۶٪ (حجمی/ حجمی) جایگزین رتنتیت کم‌چرب گردید. با توجه به تأثیر جایگزینی محلول WPC بر مقدار چربی ناتراوه کم‌چرب، مقدار محلول MPC افزوده شده به ناتراوه پرچرب به اندازه‌ای بود که پس از جایگزینی محلول WPC، درصد چربی ناتراوه به مقدار مورد نظر تنظیم گردد. سپس مخلوط در فشار ۷۰ بار با استفاده از دستگاه هموژنایزر Ronghe machinary مدل JHG-Q60-P60 ساخت چین، هموژن و در دمای ۷۵°C به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه شد. در ادامه، استارتر (۰/۰۱ گرم بر کیلوگرم ناتراوه) و رنت (۰/۰۳ گرم بر کیلوگرم ناتراوه) با مقدارکمی آب استریل با دمای۳۰°C حل و به ناتراوه اضافه شد. تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز همزمان با افزودن رنین انجام گرفت. پس از قرار گرفتن ناتراوه در ظروف پنیر ^{CC}۲۰۰، ظروف به تونل انعقاد انتقال داده شد. بعد از سپری شدن مدت زمان لازم و تشکیل لخته، عمل نمک‌زنی (۲٪ وزنی/ وزنی) و دربندی ظروف پنیر در دستگاه روتامین انجام گرفت. در پایان، ظروف کارتن گذاری شده پس از گرمخانه‌گذاری(دمای ۳۷°C) و رسیدن به pH = ۴/۸ به سردخانه با دمای (۱°C± ۹) منتقل شدند. تمام نمونه‌های پنیر تولید شده در روز پنجم پس از تولید تحت آزمون‌های شیمیایی، بافت و حسی قرار گرفتند.

آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی

بجز اندازه‌گیری چربی، سایر ویژگی‌های شیمیایی با استفاده از روش‌های رسمی AOAC (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری pH با استفاده از دستگاه pHمتر دیجیتال (مدل827،Metroh، سوئیس) انجام گرفت. اسیدیته قابل تیتر بر حسب درصد اسید لاکتیک با استفاده از محلول یک نهم نرمال سود در حضور معرف فنل‌فتالئین اندازه‌گیری شد. درصد ماده جامد کل و خاکستر نیز به‌ترتیب توسط خشک کردن به روش آون تحت خلاء و خاکسترگیری در کوره و تا رسیدن به وزن ثابت انجام پذیرفت. میزان چربی نمونه‌ها به روش ژربر و مطابق روش Egan و همکاران (۱۹۸۱) تعیین شد.

اندازه‌گیری رنگ

رنگ نمونه‌های پنیر با استفاده از رنگ‌سنج[4] سری۴۰۰-CR، انجام گرفت که در آن L* (L.value)، b*(b.valu) و a*(a.value) به ترتیب نشان‌دهنده سفیدی، زردی و قرمزی می‌باشند (Cooke و همکاران، ۲۰۱۳).

آزمون بافت

آزمون پروفیل بافت (TPA) غالب‌ترین آزمون تقلیدی مورد استفاده می‌باشد که نمونه به تقلید از اقدامات انسان در طی عمل جویدن دو بار فشرده می‌شود. TPA توسط دستگاه سنجش بافت (Stable Micro System، مدل TA.XT.PLUS، انگلستان) و با استفاده از پروپ شماره P/5S ، مطابق روش Jooyandeh (۲۰۰۹) انجام گرفت. سرعت پروب ۱ میلی‌متر بر ثانیه تنظیم شد و پروپ تا ۵۰٪ ارتفاع اولیه نمونه‌های پنیر(عمق ۱۰میلی‌متر) به داخل نمونه

1 Chy-Max
2 Streptomyces mobaraensis
3 Milk protein concentrate powder (MPCP)
4 Chroma meter

نفوذ کرد. سرعت پروب قبل و پس از آزمون به ترتیب ۲ و ۱ میلی‌متر بر ثانیه تنظیم گردید. در این آزمون ویژگی‌هایی همانند سختی، چسبندگی، پیوستگی[1] و الاستیسیته بررسی شد. نمونه‌های پنیر قبل از آزمایش از یخچال خارج و به مدت نیم ساعت در دمای محیط برای رسیدن به دمایی ثابت نگهداری شدند. آزمون بافت در تمامی نمونه‌های پنیر در سه قسمت مختلف پنیر انجام پذیرفت و میانگین نتایج ثبت گردید.

ارزیابی حسی

در این قسمت مهمترین خصوصیات حسی نمونه‌های پنیر سفید ایرانی فراپالایش شامل: رنگ و ظاهر، طعم و رایحه و قوام و بافت توسط توسط ۱۰ نفر از دانشجویان صنایع غذایی دانشگاه رامین خوزستان ارزیابی گردید. نمونه‌ها از طریق یک آزمون ترجیحی ده‌نقطه‌ای با یکدیگر مقایسه شدند. بر اساس اهمیت هر یک از صفات کیفی مورد نظر، برای هر یک از صفات بنا بر پیشنهاد IDF (۱۹۸۷) ضریبی در نظر گرفته شد، بدین نحو که نتایج مربوط به طعم و رایحه که بیشترین اهمیت را دارد در ضریب ۵، بافت در ضریب ۴ و ظاهر و رنگ در ضریب ۱ ضرب شد که در مجموع هر تیمار حداکثر ۱۰۰ امتیاز به عنوان پذیرش کلی می‌توانست بدست آورد (Katsiari و همکاران، ۲۰۰۲).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور مطالعه اثرات سه فاکتور چربی، آنزیم ترانس گلوتامیناز و کنسانتره پروتئینی آب پنیر از طرح مرکب مرکزی[2] استفاده شد و ۲۰ تیمار مختلف با ۶ تکرار در نقطه مرکزی تولید و مورد آزمایش قرار گرفت. سطوح متغییرهای مستقل در جدول ۱ و تیمارهای آزمایش در جدول ۲ ذکر شده است.

آنالیز آماری نمونه‌ها با استفاده از روش سطح پاسخ و با نرم‌افزار Desigen Expert (version 9) انجام گرفت. این طرح، دربرگیرنده گروهی از تکنیک‌های آماری و ریاضی است که امکان رسیدن به شرایط بهینه در سیستم‌های پیچیده را فراهم می‌کند. باکاربرد آنالیز رگرسیون، شاخص‌های اندازه‌گیری شده درقالب یک چند جمله‌ای درجه دوم بر طبق معادله زیر مدل‌سازی شدند.

$$Y= \beta_0+ \beta_1x_1+ \beta_2x_2+ \beta_3x_3+ \beta_{11}x_1^2+ \beta_{22}x_2^2+ \beta_{33}x_3^2+ \beta_{12}x_1x_2+ \beta_{13}x_1x_3+ \beta_{23}x_2x_3 \quad (1)$$

که در آن y پاسخ های مختلف و β_0 ضرایب ثابت مدل‌ها است. (β_1، β_2، β_3)، (β_{11}، β_{22}، β_{33}) و (β_{12}، β_{13}، β_{23}) به‌ترتیب نشان‌دهنده اثر خطی، درجه دوم و برهمکنش مدل پیشنهادی به وسیله آنالیز چندگانه رگرسیون می‌باشد. x_1: واحد آنزیم ترانس گلوتامیناز، x_2: درصد چربی و x_3: مقدارکنسانتره پروتئینی آب پنیر متغییرهای مستقل می‌باشند.

نتایج و بحث

ارزیابی فیزیکوشیمیایی

اثرات سه فاکتور چربی، آنزیم ترانس گلوتامیناز و کنسانتره پروتئینی آب پنیر بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیر در روز پنجم مورد ارزیابی قرار گرفت. برهمکنش این سه متغییر اثر خطی معنی‌داری بر رطوبت نمونه‌های پنیر داشت ($p \leq ۰/۰۱$)، اما اثرات متقابل و درجه دوم معنی‌دار نبود (جدول ۳). کاهش چربی در پنیر موجب افزایش رطوبت شد، که نتایج حاصل منطبق با نتایج Rahimi و همکاران (۲۰۰۷) و Madadlou و همکاران (۲۰۰۵) است. نتایج همچنین نشان داد که با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز میزان رطوبت کاهش می‌یابد که علت آن به دلیل ایجاد پیوندهای ایزوپپتیدی توسط آنزیم و خروج آب از ماتریس پنیر می‌باشد (Ozer و همکاران، ۲۰۰۳). افزودن محلول کنسانتره پروتئینی آب پنیر به دلیل قابلیت جذب آب باعث افزایش نسبت رطوبت به پروتئین شد که با نتایج Jooyandeh (۲۰۰۹) مطابقت داشت. برهمکنش این سه فاکتور بر روی اسیدیته و pH اثر قابل ملاحظه‌ای نداشت.

جدول ۱- سطوح متغییرهای مختلف و کدهای مرتبط

متغییر مستقل	کد و سطح مربوطه				
	+۱/۶۸	+۱	۰	-۱	-۱/۶۸
آنزیم ترانس‌گلوتامیناز	۲	۱/۵۹	۱	۰/۴	۰
چربی	۱۰	۷/۹۷	۵	۲/۰۳	۰
کنسانتره آب پنیر	۱۶	۱۲/۷۶	۸	۳/۲۴	۰

اندازه‌گیری رنگ

نتایج حاصل از آزمون رنگ با دستگاه رنگ‌سنج نشان داد که افزایش چربی و کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر به‌صورت خطی باعث افزایش میزان L (سفیدی) گردید اما افزایش آنزیم به‌صورت خطی تأثیر معکوسی بر سفیدی نمونه‌های پنیر داشت (جدول ۳). نتایج حاصل از تحقیق Rudan و همکاران (۱۹۹۹) بر پنیر موزارلا با نتایج این تحقیق همخوانی داشت.

1 Cohesiveness
2 Central composite

جدول ۲- تیمارهای تصادفی آزمایش براساس متغییرهای مستقل در طرح مرکب مرکزی

تیمار	مقدار واحد آنزیم	چربی	کنسانتره پروتئین آب پنیر
۱	۱	۱۰	۸
۲	۱	۵	۰
۳	۰/۴	۲/۰۳	۱۲/۷۶
۴	۱	۵	۸
۵	۱/۵۹	۲/۰۳	۱۲/۷۶
۶	۱/۵۹	۷/۹۷	۱۲/۷۶
۷	۰/۴	۷/۹۷	۱۲/۷۶
۸	۱	۵	۸
۹	۱	۵	۸
۱۰	۱	۵	۱۶
۱۱	۰/۴	۲/۰۳	۳/۲۴
۱۲	۱	۵	۸
۱۳	۰/۴	۷/۹۷	۳/۲۴
۱۴	۲	۵	۸
۱۵	۱/۵۹	۱/۵۹	۳/۲۴
۱۶	۱	۱	۸
۱۷	۱/۵۹	۱/۵۹	۳/۲۴
۱۸	۱	۱	۸
۱۹	۱	۱	۸
۲۰	۰	۰	۸

جدول ۳- ضرایب رگرسیون مدل‌های چند جمله‌ی برای پاسخ‌های مختلف

ضرایب	رطوبت	سفیدی	رنگ و ظاهر	بافت	عطر و طعم	مقبولیت	سفتی	چسبندگی	الاستیسیته	پیوستگی
مدل	۶۸/۷۰**	۸۴/۴۴**	۷/۴۸**	۸/۳۱**	۸/۰۴**	۸۰/۹۳**	۰/۳۷**	-۰/۰۸**	۸/۸۴**	۰/۴۸**
اثر خطی										
β_1	-۰/۵۶*	-۰/۷۷**	ns	۰/۳۶	-۰/۴۱	ns	۰/۰۲*	-۰/۰۰۷**	۰/۵۹**	۰/۰۲**
β_2	-۱/۰۶**	۰/۷۴**	۱/۳۳**	۰/۵۰*	۱/۱۵**	۹/۰۵**	-۰/۰۴**	۰/۰۳**	-۰/۴۸*	ns
β_3	۰/۵۷*	۰/۸۳**	ns	۰/۵۰*	۰/۴۱	۴/۴۸**	-۰/۰۴**	۰/۰۱**	-۰/۴۹*	-۰/۰۱**
اثر متقابل										
β_{12}	ns	ns	ns	ns	-۰/۴۲	ns	ns	-۰/۰۰۵**	ns	ns
β_{13}	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	۰/۰۰۳	ns	ns
β_{23}	ns	ns	۱/۲۹*	ns	۱/۰۰**	۶/۱۹*	ns	ns	ns	ns
اثر درجه دوم										
β_{11}	ns	ns	-۰/۶۰	-۰/۴۶*	-۰/۶۵**	-۵/۶۹**	ns	۰/۰۰۲	ns	۰/۰۱*
β_{22}	ns	ns	-۱/۲۲**	-۰/۸۲**	-۰/۷۵**	-۸/۲۵**	-۰/۰۲*	ns	-۰/۲۵	-۰/۰۱*
β_{33}	ns	ns	ns	-۰/۶۸**	-۱/۴۹**	-۱۰/۲۳**	-۰/۰۳**	۰/۰۰۴*	-۰/۵۷**	-۰/۰۲**
R^2	۰/۸۱۹۹	۰/۹۴۸۹	۰/۹۰۴۷	۰/۹۰۰۳	۰/۹۶۷۳	۰/۹۶۰۸	۰/۹۵۷۵	۰/۹۹۰۸	۰/۹۰۵۹	۰/۹۲۷۴
Adj-R^2	۰/۷۸۶۲	۰/۹۳۹۴	۰/۸۱۸۹	۰/۸۱۰۵	۰/۹۳۷۹	۰/۹۲۵۵	۰/۹۲۰۱	۰/۹۸۲۶	۰/۸۲۱۲	۰/۸۶۲۰
احتمالضعف برازش	۰/۱۳	۰/۵۵	۰/۹۲	۰/۳۴	۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۰۸	۰/۹۰	۰/۰۷	۰/۰۵۹
ضریب پراکندگی	۰/۸۴	۰/۳۴	۱۳/۷۱	۷/۵۴	۸/۲۰	۶/۴۸	۵/۹۵	۵/۵۷	۵/۱۳	۳/۱۴

بدون ستاره ($p \leq ۰/۰۵$)، یک ستاره ($p \leq ۰/۰۱$) دو ستاره ($p \leq ۰/۰۰۱$)، ns در سطح ۹۵ درصد معنی دار نمی باشد

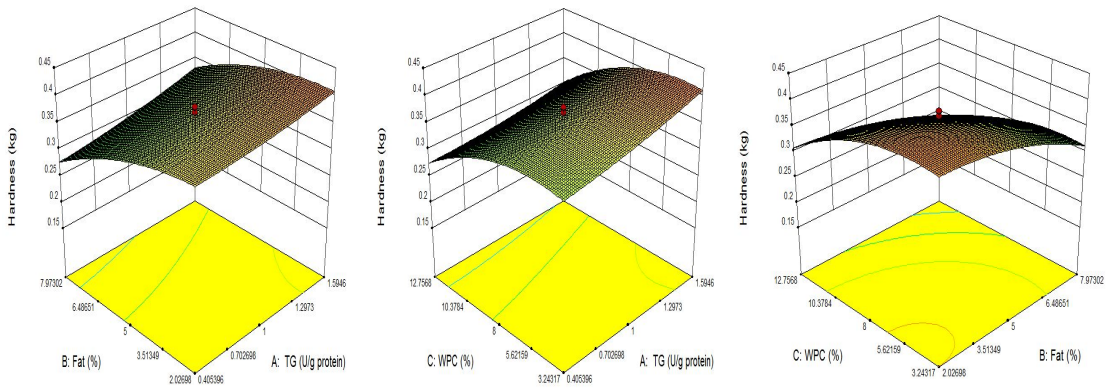
آزمون بافت

سفتی

از نقطه نظر حسی، سفتی نیروی لازم برای نفوذ دندان‌های آسیاب به داخل نمونه و از نظر مکانیکی، نیروی لازم برای رسیدن به یک تغییر شکل می‌باشد (Gunasekaran & Mehmet، ۲۰۰۳). سفتی نمونه‌های پنیر بر اساس بیشترین نیرو در گاز زدن اول تعریف می‌شود. بررسی نمودار حاصل از آزمون TPA نشان داد که با افزایش مقدار آنزیم، سفتی پنیر به‌صورت معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. عملکرد اصلی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در پنیر تشکیل پیوندهای ایزوپپتیدی بیشتر می‌باشد که منجر به تشکیل یک شبکه ژل با اندازه ذرات و خلل و فرج کوچکتر می‌شود (Imm و همکاران، ۲۰۰۰). این عمل در نهایت منجر به انقباض محدود شبکه و متعاقب آن سینرزیس می‌شود. چون ماتریس پنیر از تعامل مولکول‌های پروتئین ساخته شده است، با افزایش مقدار پروتئین یا نقاط تماس بیشتر در ماتریس پنیر بافت سخت‌تری پیش‌بینی می‌شود (Ozer و همکاران، ۲۰۰۳). در تحقیق حاضر، افزایش مقدار آنزیم موجب افزایش پیوندهای بین میسل‌های پروتئینی شد و به این ترتیب مقدار مقاومت به تغییر شکل افزایش یافت. Di Pierro و همکاران (۲۰۱۰) و Mleko و همکاران (۲۰۰۴) در یافته‌های مشابه نشان دادند آنزیم ترانس گلوتامیناز خصوصیات مکانیکی پنیر دانبو را تغییر می‌دهد و با افزایش غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، زمان و میزان انرژی لازم برای فرورفتگی پنیر افزایش می‌یابد. (شکل ۱، نمودارهای الف و ب).

با افزایش چربی پنیر تا سطح ۵٪، سفتی نمونه‌ها با شیب کمی کاهش پیدا کرد اما با بیشتر شدن چربی سفتی پنیر با شیب بیشتری کاهش پیدا کرد. وجود چربی در بین شبکه پروتئینی، اتصالات عرضی را کاهش داده و در نتیجه سختی بافت پنیر را کاهش می‌دهد (Imeson، ۲۰۰۰). Romeih و همکاران (۲۰۰۲) و Rudan و همکاران (۱۹۹۹)، سفت تر شدن بافت در پنیر کم چرب را به عدم جایگزینی مساوی رطوبت با چربی به همان میزان چربی کاهش یافته و در نتیجه کاهش فاز پراکنده در ماتریس پنیر (که منجر به متراکم شدن شبکه می‌شود) نسبت داده‌اند (شکل ۱ الف و ج).

پروتئین‌های آب پنیر با تقلید کردن نقش چربی و افزایش سهم جز نرم‌کننده، بافت پنیر کم‌چرب را که اغلب خیلی سفت می‌شود بهبود می‌بخشد (Zalazar و همکاران، ۲۰۰۲). در تحقیق حاضر، افزودن کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر دناتوره شده به داخل پنیر سفتی نمونه‌های پنیر را کاهش داد و با افزایش هرچه بیشتر آن میزان سفتی بیشتر کاهش یافت و در مقادیر ۱۶٪ جایگزینی با رتنتیت پنیری با بافت بسیار نرم حاصل شد. نتایج این تحقیق منطبق با گزارشات Lee و همکاران (۲۰۱۳) بود که ثابت کردند افزودن آب‌پنیر به پنیر پروسس میزان سفتی پنیر را کاهش می‌دهد و در صورت دناتوره شدن اولیه آب پنیر این مقدار کاهش سفتی به دلیل قابلیت جذب آب بالای آب پنیر دناتوره شده بیشتر است. با توجه به نتایج تحقیق، اثرات متقابل سه متغیر مورد بررسی معنی‌دار نبود (شکل ۱، نمودارهای ب و ج).



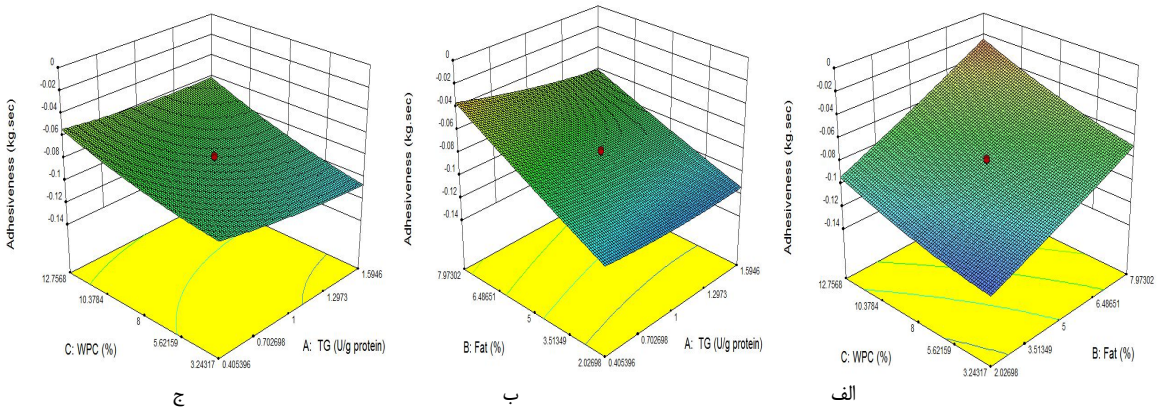
الف ب ج

شکل ۱- نمودارهای رویه سه بعدی برهمکنش متغیرهای مستقل بر سفتی نمونه‌های پنیر

چسبندگی

از نقطه نظر حسی میزان نیروی لازم برای جداکردن غذا از سقف دهان در حین خوردن و از نظر مکانیکی کار لازم برای غلبه بر نیروهای چسبندگی بین سطح غذا و سطح سایر موادی که غذا با آن‌ها در تماس است را چسبندگی گویند (Fox و همکاران، ۲۰۰۰). پنیرهای با چربی بیشتر، ساختار ماتریس پروتئینی بازتر و ضعیف‌تری دارند که موجب افزایش چسپندگی می‌شود (Dimitreli & Thomareis، ۲۰۰۷). در تحقیق انجام شده، افزایش چربی در

نمونه‌های پنیر همواره باعث افزایش چسبندگی شده است که با نتایج Koca وMetin (۲۰۰۴) و Saint و همکـــاران (۲۰۰۹) مطابقـــت داشت. بررسی اثر کنسانتره پروتئینی آب پنیر بر چسبندگی نمونه‌های پنیر نشان داد که افزایش میزان کنسانتره پروتئینـی آب‌پنیـر موجـب بیشتر شدن چسبندگی شده است که دلیل آن را می‌توان به نرم بودن و بافت سست پنیر تولید شده با کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر نسبت داد. Jooyandeh (۲۰۰۹) در بررسی اثر افزودن کنسـانتره تخمیـری آب پنیر به دلمه پنیر سفید ایرانی عنوان کرد که چسـبندگی بـا افـزایش مقدار کنسانتره تخمیـری آب پنیـر بیشـتر مـی‌شـود. آنـزیم تـرانس گلوتامیناز تأثیر کمی بر چسبندگی نمونه‌ها داشت. با افزایش آنزیم تا ۱ واحد به دلیل پیوندهای محکم‌تـر و بسـته شـدن فضـاهای خـالی چسبندگی به مقدار کمی کاهش ولی با افزایش بیشتر آنزیم چسبندگی تغییری پیدا نکرد (شکل ۲، نمودارهای الف و ب و ج).

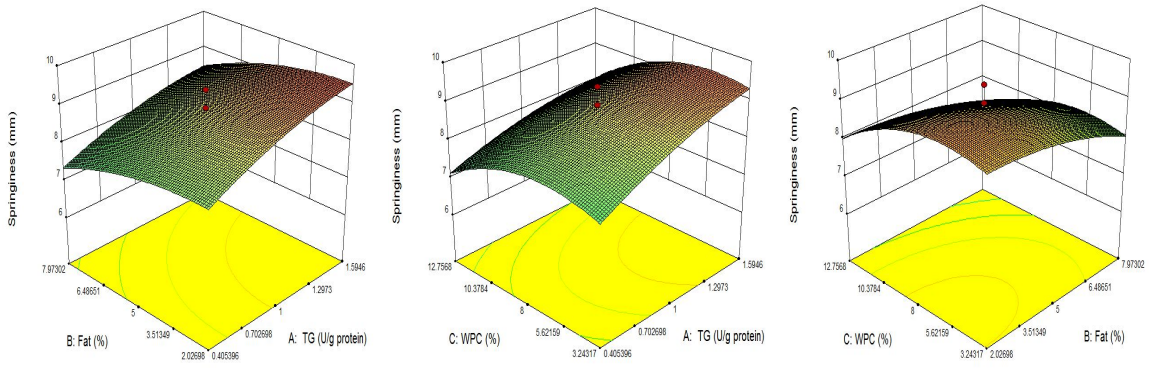


ج ب الف

شکل ۲- نمودارهای رویه سه‌بعدی برهمکنش متغییرهای مستقل بر چسبندگی نمونه‌های پنیر

ارتجاع‌پذیری

ارتجاع‌پذیری یا الاستیسیته از نظر حسی درجه یا شدت بازگشت به حالت اولیه بعد از فشار جزئی در دهان مـی‌باشـد و از نقطـه نظـر مکانیکی مقدار تغییر شکلی است که یک نمونه تغییر شکل یافته بعد از برداشتن نیرو بـه حالـت اولیـه‌ش برمـی‌گـردد (Fox و همکـاران، ۲۰۰۰). در تحقیق حاضر الاستیسیته نمونه‌های پنیر با افزایش درصد چربی به صورت خطی کاهش معنی‌داری پیدا کرد. در تطابق با نتایج این تحقیق، Koca و Metin (۲۰۰۴) اعلام کردند که پنیر کم‌چرب الاستیسیته بیشتری نسبت به پنیر پرچرب دارد و دلیل آن را به ساختار ماتریس پروتئین محکم در پنیر کم‌چرب نسبت دادند.



ج ب الف

شکل ۳- نمودارهای رویه سه بعدی برهمکنش متغییرهای مستقل بر الاستیسیته نمونه‌های پنیر

آنزیم ترانس گلوتامیناز به‌صورت خطی الاستیسیته نمونه‌های پنیر را افزایش داد و تـأثیر آن در مقایسـه بـا چربـی بیشـتر بـود. آنـزیم ترانس‌گلوتامیناز بـا ایجـاد سـاختار پروتئینـی محکـم و پیونـد دادن پروتئین‌ها بافت پنیر را به طرف سـفتی مـی‌بـرد و الاستیسـیته نیـز هماهنگ با آن افزایش پیدا می‌کرد. نتایج این تحقیق با نتایج Ozer و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت. آنها اعلام کردنـد کـه الاستیسـیته

نمونه تیمار شده با آنزیم ترانس گلوتامیناز بیشتر از نمونه شاهد می‌باشد. افزایش WPC تا سطح ۸٪ تأثیر معنی‌داری بر الاستیسیته تیمارهای پنیر نداشت در حالی که افزایش بیشتر آن از ۸ تا ۱۶٪ الاستیسیته را کاهش داد. Jooyandeh (۲۰۰۹) با اضافه کردن کنسانتره تخمیری آب پنیر الاستیسیته نمونه‌های پنیر سفید ایرانی را کاهش داد. وارد کردن پروتئین‌های آب پنیر باعث افزایش جذب آب و سست شدن بافت پنیر و کاهش برگشت‌پذیری به حالت اولیه بعد از اعمال فشار می‌شود (شکل ۳، نمودارهای الف، ب و ج).

پیوستگی

قدرت پیوندهای داخلی سازنده پیکره یک ماده غذایی را پیوستگی می‌گویند. پیوستگی نمونه‌های پنیر تا افزایش آنزیم به ۱ واحد با شیب کمی افزایش پیدا کرد اما با بیشتر شدن مقدار آنزیم شیب افزایش پیوستگی نیز بیشتر شد. Ozer و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که پیوستگی نمونه‌های تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بیشتر از نمونه‌های شاهد می‌باشد. این نشان می‌دهد که تعداد و قدرت پیوندهای پروتئینی در پنیر توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تحت تأثیر قرار می‌گیرد. با افزایش جایگزینی WPC، پیوستگی نمونه‌های پنیر کاهش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۳). با افزایش رطوبت در داخل پنیر بافت آن نرم شده و پیوندهای داخلی ضعیف می‌شود که در نتیجه در برابر فشار وارده توسط دستگاه تحلیل‌گر بافت به آسانی و به‌صورت غیرقابل برگشت تغییر شکل می‌دهد (Zisu *et al*., 2005). درهرحال، Koca و Metin (۲۰۰۴) برخلاف نتایج این تحقیق گزارش نمودند که کاهش میزان چربی اثر معنی‌داری بر میزان پیوستگی نمونه‌های پنیر ندارد.

ارزیابی حسی

ظاهر و رنگ

بررسی نتایج حاصل از ارزیابی حسی توسط ارزیاب‌ها نشان داد که افزایش چربی بطور قابل ملاحظه‌ایی میزان مقبولیت از نظر رنگ و ظاهر را افزایش می‌دهد که منطبق با نتایج Mistry (۲۰۰۱) بود. به‌جز اثر متقابل چربی و WPC بر رنگ و ظاهر نمونه‌های پنیر، سایر اثرات متقابل معنی‌دار نگردید.

بافت و قوام

افزایش آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تا مقدار ۱ واحد موجب بهبود بافت پنیر شد اما استفاده بیشتر آنزیم به دلیل افزایش اتصالات درون و برون مولکولی پروتئین‌های شبکه کازئین (Imm و همکاران، ۲۰۰۰) سبب سفتی نامطلوب پنیر گردید. نتایج حاصل از مطالعه Zalazar و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که کاهش چربی باعث بافتی لاستیکی می‌شود و پنیرهای با چربی کمتر بافت نامطلوب‌تری از نظر پانلیست‌ها دارند که در مطابقت با تحقیق حاضر بود به طوری که نمونه‌های با چربی کمتر، کمترین امتیاز را از نظر بافت بدست آوردند. نتایج حاصل از پژوهش Koca و Metin (۲۰۰۴) هم دلالت بر کاهش امتیاز بافت با کاهش چربی دارد. با افزایش کنسانتره پروتئینی آب پنیر تا ۸ ٪ امتیاز بافت نمونه‌های پنیر افزایش معنی‌داری یافت اما افزایش بیشتر آن تأثیر خاصی بر امتیاز بافت نمونه‌های پنیر نداشت.

عطر و طعم

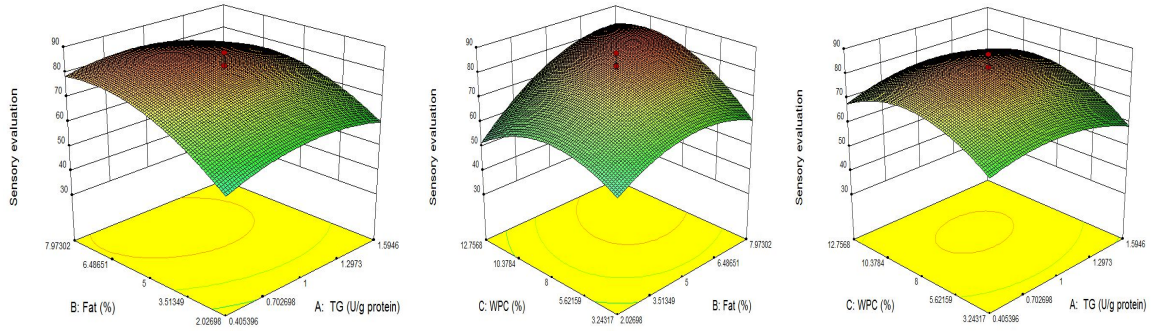
عطر و طعم نمونه‌های پنیر مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد افزایش چربی بیشترین تأثیر را بر عطر و طعم داشته و همواره افزایش چربی باعث کسب امتیاز بیشتر شده است که این نتایج مطابق با نتایج Koca و Metin (۲۰۰۴)، Mistry (۲۰۰۱) و Sipahioglu و همکاران (۱۹۹۹) می‌باشد. افزایش کنسانتره پروتئینی آب پنیر تا حدود ۸٪ موجب اصلاح طعم گردید اما استفاده از مقادیر بالای آنزیم کاهش امتیاز عطر و طعم نمونه های پنیر را به‌همراه داشت.

پذیرش کلی

بررسی نتایج حاصل از پذیرش کلی نمونه‌های پنیر نشان داد که افزایش چربی امتیاز پذیرش کلی را بطور معنی‌داری افزایش داده است. همچنین WPC اثر دوگانه‌ای بر پذیرش کلی داشت و با افزایش آن تا ۸٪ پذیرش کلی افزایش معنی‌داری یافت اما از ۸ تا ۱۶٪ مقبولیت کلی نمونه‌هاکاهش یافت. اثرات متقابل این دو فاکتور نیز معنی‌دار بود. در این میان آنزیم ترانس گلوتامیناز اثر معنی‌داری بر روی پذیرش کلی نمونه‌های پنیر نداشت. (شکل ۴ الف و ب و ج)

بهینه‌سازی

با استفاده از این روش آماری برای هر پاسخ یک معادله درجه دوم بدست آمد. جدول ۳ ضرایب رگرسیون مدل‌ها برای پاسخ‌های مختلف و سایر خصوصیات مدل ارائه شده را نشان می‌دهد. با جایگزینی متغییرهای مستقل x_1: واحد آنزیم ترانس گلوتامیناز، x_2: درصد چربی و x_3: مقدارکنسانتره پروتئینی آب پنیر در معادله هر پاسخ می‌توان مقدار آن را پیشگویی کرد. به‌منظور بهینه‌سازی فرمولاسیون پنیر فراپالایش کم‌چرب حد بالا و پایین و مطلوب هر یک از ویژگی-های اندازه‌گیری شده (پاسخ‌ها) و اهمیت آن‌ها تعیین شد. نتایج حاصل از بهینه‌سازی نشان داد که با بکارگیری مقدار ۰/۵۶ واحد آنزیم به ازاء هر گرم پروتئین ناتراوه، جایگزینی ۸/۷۹ ٪ محلول WPC با رتنتیت و مقدار ۵/۹۵ ٪ چربی می‌توان پنیر کم‌چربی با ویژگی‌های نزدیک به پنیر پرچرب تولید نمود.



ج ب الف

شکل ٤- نمودارهای رویه سه‌بعدی برهمکنش متغییرهای مستقل بر امتیاز کلی نمونه‌های پنیر

تیمار پیشنهادی با شرایط یکسان همانند سایر تیمارها تولید و نتایج حاصل از آن با نتایج پیشگویی شده توسط مدل مقایسه گردید (جدول ۴). عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵٪ بین نتایج پیشگویی شده و نتایج بدست آمده از تیمار پیشنهادی کارایی مدل‌ها را به‌خوبی اثبات نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از آنالیز سطح پاسخ مربوط به طرح مرکب مرکزی با سه متغییر مستقل (آنزیم ترانس گلوتامیناز، چربی و کنسانتره پروتئینی آب پنیر) نشان دادکه با تلفیق کنسانتره پروتئینی آب پنیر به‌همراه تیمار آنزیمی می‌توان محصولی با چربی پایین و خصوصیات تغذیه‌ای مفید تولید کرد که ویژگی‌های شبیه به پنیر پرچرب و مورد پسند مصرف‌کنندگان دارد. مدل‌های پیشنهادی در این پژوهش از R^2 و $Adj\text{-}R^2$ بالا و معنی‌داری برخوردار بودند و همچنین آزمون عدم برازش در هیچ یک از آن‌ها معنی‌دار نبوده که نشان‌دهنده‌ی کارایی مدل‌های ارئه شده در پیش بینی پارامترهای مورد ارزیابی است. با استفاده از این مدل‌ها می‌توان با توجه به فرمولاسیون پنیر کم‌چرب تولید شده، خصوصیات مورد نظر را پیش‌بینی و اصلاح نمود.

جدول ٤- مقایسه نتایج حاصل از آزمایش و نتایج پیش‌بینی شده نمونه بهینه

	مقبولیت	سفتی (kg)	چسبندگی(kg.s)	الاستیسیته (mm)	پیوستگی	سفیدی(L)	مطلوبیت نتایج پیش بینی[1]
نتایج پیش بینی	۸۸/۷۳	۰/۳۴۲	-۰/۰۷۰	۸/۵۸	۰/۴۷۴	۸۴/۷۷	۰/۹۲۲
نتایج آزمایشی	۹۰±۲/۰۶	۰/۳۴۵±۰/۰۰۳	-۰/۰۷۱±۰	۸/۶۰±۰/۰۶	۰/۴۶۲±۰/۰۱	۸۴±۱/۰۶	----------

منابع

Alizadeh, M., Hamedi, M. & Khosroshahi, A., 2006, Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese, *Food Chemistry*, 97(2), 294-301.

AOAC, 2000, Official Methods of Analysis. 17th ed, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, USA.

Broadbent, J., McMahon, D., Oberg, C. & Welke, D., 2001, Use of exopolysaccharide-producingcultures to improve the functionality of low fat cheese, *International Dairy Journal*, 11, 433–439.

Cooke, D. R., Khosrowshahi, A. & McSweeney, P. L., 2013, Effect of gum tragacanth on the rheological and functional properties of full-fat and half-fat Cheddar cheese, *Dairy Science & Technology*, 93(1), 45-62

Dimitreli, G. & Thomareis, A. S., 2007, Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity, *Journal of Food Engineering*, 79, 1364-1373.

Di Pierro, P., Mariniello, L., Sorrentino, A., Giosafatto, L. C., Chianese, L. & Porta, R., 2010, Transglutaminase-induced chemical and rheological properties of cheese, *Food Biotechnology*, 24,107-120.

El-Sheikh, M. M., Farrag, A. F., Shahein, N. M. & El-Shibiny, S., 2001, Low fat Domiati cheese with particulated whey protein concentrate (PWPC), *Egyptian Journal of Dairy Science*, 29(2), 331-342.

1 Desirability

Egan, H., Kirk, R. S. & Sawyer, R., 1981, Pearson's Chemical Analysis of Foods. pp 497-499. eighth edition, *Longman Scientific and Technical Bath Press*, Avon, UK.

Fernandes-DE Sa, E. M., & Bordignon-Luiz, M. T., 2010, The effect of transglutaminase on the properties of milk gels and processed cheese, *International journal of dairy technology*, 63(2), 243-251.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, M. T. & McSweeney, P. L. H., 2000, Fundamentals of cheese science, Aspen publication.

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

Goudarzi, M., Madadlou, A., Mousavi, M. E. & Emam-Djomeh, Z., 2015, Formulation of apple juice beverages containing whey protein isolate or whey protein hydrolysate based on sensory and physicochemical analysis, *International Journal of Dairy Technology*, 68 (1), 70-78.

Gunasekaran, S. & Mehmet, A. k. M., 2003, Cheese rheology and texture, CRC Press.

IDF, 1987, Sensory evaluation of dairy products. Standard 99A, International Dairy Federation, Brussels.

Imeson, A. P., 2000, Carrageenan. Hand book of Hydrocolloids. Edited by Phillips,G.O and Williams, P. A.Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.

Imm, J. Y., Lian, P. & Lee, C. M., 2000, Gelation and water binding properties of transglutaminase-treated skim milk powder, *Journal of Food Science*, 65,200-205.

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

Karami, M., Ehsani, M. R., Mousavi, M. E., Rezaei, K. & Safari, M., 2008, Microstructural changes in fat during the ripening of Iranian ultrafiltered Feta cheese, *Journal of dairy science*, 91(11), 4147-4154.

Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P., Kondyli, E. & Alichanidis, E., 2002, Flavour enhancement of low-fat Feta-type cheese using a commercial adjunct culture, *Food chemistry*, 79(2), 193-198.

Koca, N. & 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.

Lee, S. K., Huss, M., Klostermeyer, H. & Anema, S. G., 2013, The effect of pre-denatured whey proteins on the textural and micro-structural properties of model processed cheese spreads, *International Dairy Journal*, 32(2), 79-88.

Lobato-Calleros, C., Robles-Martinez, J. C., Caballero-Perez, J. F., Vernon-Carter, E. J. & Aguirre-Mandujano, E., 2001, Fat Replacers in Low-Fat Mexican Manchego Cheese, *Journal of Texture Studies*, 32(1), 1-14.

Lo, C. G. & Bastian, E. D., 1998, Incorporation of native and denatured whey proteins into cheese curd for manufacture of reduced fat, Havarti-type cheese, *Journal of dairy science*, 81(1), 16-24.

Madadlou, A., Khosroshahi, A. & Mousavi, M. E., 2005, Rheology, microstructure, functionality of low-fat Iranian White cheese made with different concentrations of rennet. *Journal Dairy Science*, 88, 3052–3062.

Michaelidou, A., Katsiari, M., Kondyli, E., Voutsinas, L. & Alishanidis, E., 2003, Effect of a commercial adjunct culture on proteolysis in low-fat Feta-type cheese, *International Dairy Journal*, 13, 179-189.

Mistry, V., 2001, Low fat cheese technology, *International Dairy Journal*, 11, 413–422.

Mleko, S., Gustaw, W., Glibowski, P. & Pielecki, J., 2004, Stress relaxation study of UF-milk cheese with transglutaminase, *Egyptian Journal of Dairy Science*, 32, 237-244.

Özer, B. H., Robinson, R. K. & Grandison, A. S., 2003, Textural and microstructural properties of Urfa cheese (a white-brined Turkish cheese), *International Journal of Dairy Technology*, 56,171-176.

Ozer, B., Adnan Hayaloglu, A., Yaman, H., Gürsoy, A. & Sener, L, 2013, Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production, *International Dairy Journal*, 33, 129-134.

Rahimi, J., Khosrowshahi, A., Madadlou, A. & Aziznia, S., 2007, Texture of Low-Fat Iranian White Cheese as Influenced by Gum Tragacanth as a Fat Replacer, American Dairy Science Association, 90, 4058–4070.

Ritvanen, T., Lampolahti, S., Lilleberg, L., Tupasela, T., Isoniemi, M., Appelbye, U. & Uusi-Rauva, E., 2005, Sensory evaluation, chemical composition and consumer acceptance of full fat and reduced fat cheeses in the Finnish market, *Food quality and preference*, 16(6), 479-492.

Romeih, EA, Michaelidou, A., Biliaderis, CG. & Zerfiridis, G., 2002, Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes, *International Dairy Journal*, 12(6), 525-540.

Rudan, M. A., Barbano, D. M., Yun, J. J. & Kindstedt, P. S., 1999, Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality, and yield of Mozzarella cheese, Journal of dairy science, 82(4), 661-672.

Saint-Eve, A., Lauverjat, C., Magnan, C., Deleris I. & Souchon, I., 2009, Reducing salt and fat content: impact of composition, texture and cognitive interaction on the perception of flavored model cheeses, *Food Chemistry*, 116, 167-175.

Sayadi, A., Madadlou, A. & Khosrowshahi, A., 2013, Enzymatic cross-linking of whey proteins in low fat Iranian white cheese, *International Dairy Journal*. 29: 88-92.

Sipahioglu, O., Alvarez, V. B. & Solano Lopez, C., 1999, Structure, physicochemical and sensory properties of Feta cheese made with Tapioca starch and lecithin as fat mimetic, *International -Dairy Journal*, 9, 783-789.

Ye, A. & Taylor, S., 2009, Characterization of cold-set gels produced from heated emulsions stabilized by whey protein, *International Dairy Journal*, 19, 721–727.

Zalazar, C. A., Zalazar, C. S., Bernal, S., Bertola, N., Bevilacqua, A. & Zaritzky, N., 2002, Effect of moisture level and fat replacer on physicochemical, rheological and sensory properties of low fat soft cheeses, I*nternational Dairy Journal*, 12(1), 45-50.

Zisu, B. & Shah, N. P., 2005, Textural and functional changes in low-fat Mozzarella cheese in relation to proteolysis and microstructure as influenced by the use of fat replacers, pre-acidification and EPS starter, *International Dairy Journal*, 15, 957-972.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 2, June. July. 2017, p. 282- 294

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۳۹۶ ص.۲۹۴-۲۸۲

Effect of enzymatic transglutaminase treatment on textural and sensory properties of low-fat UF-Feta cheese incorporated with whey proteins using response surface optimization

E. Danesh[1], H. Jooyandeh[2*], V.Samavati[3], M. Goudarzi[4]

Received: 2015.04.15
Accepted: 2015.07.16

Introduction: Scientific evidence has demonstrated that consumption of high-fat foods has direct connection with increasing incidences of various diseases such as obesity, diabetes, hardening of the artery walls and blood pressure. Thus, demand for low-fat foods has increasingly been promoted by health-conscious consumers. However, development of low-fat foods is challenging as fat makes a major contribution to sensory attributes of many foods. Low-fat cheeses are usually characterized as having a flat taste, more translucency and a rubbery and gummy texture. A common strategy for improving the properties of low-fat cheeses is to increase its moisture content sufficiently to provide moisture to protein ratio which is greater than or equal to its full-fat counterpart. The addition of denatured whey proteins, which are known for their high water-holding capacity, to cheese milk is one method used to achieve this objective. Likewise, transglutaminase treatment of cheeses milk has been shown to increase the moisture content of the resultant cheese. Enzyme transglutaminase (MTGase; protein-glutamine gamma glutamyl transferase, EC 2.3.2.13) catalyzes acyl transfer reactions between protein intra- or inter- chain glutamine (acyl donor) and lysine (acyl acceptor) peptide residues. UF-Feta cheese has the highest per capita consumption amongst cheese varieties in Iran. However, UF-Feta cheese is also perceived as being high in fat, discouraging some consumers from including it in their diets. The objective of this study was enzymatic incorporation of whey proteins into the formulation of UF-Feta cheese by TGase in order to obtain a low-fat product with desirable textural and sensory properties.

Materials and methods: The experiments were designed according to a 5-level-3-factor central composite design using response surface methodology (RSM). The independent variable were formulation ingredients including TGase enzyme (0-2 units/g protein), whey protein concentrate (WPC) (0-16 % w/w) and fat (0-10 % w/w) and the responses of interest were the physicochemical (moisture content and lightness (L*)), textural (hardness, adhesiveness, cohesiveness and springiness) and sensory properties (flavor and odor, color and appearance, texture and total acceptability) of UF-Feta cheese.

Results and discussion: The results indicated that fat reduction caused significant increment in the moisture content of UF-Feta cheese. The whey protein addition showed the same effect on moisture content as fat reduction whereas transglutaminase treatment decreased the moisture of UF-Feta cheese. As expected, fat reduction was accompanied by an increase in hardness and elasticity of UF-Feta cheese. Fat and moisture act as fillers in the casein matrix of cheese texture. When the fat content is decreased, the moisture does not replace the fat on an equal basis, so the total filler volume is decreased, resulting in lower moisture to protein ratio. This in turn increases possibilities of cross-linking between protein chains, resulting in a more compact cheese matrix with harder and chewier texture. Similarly, the increasing effect of TGase treatment on hardness and elasticity may be attributed to formation of a more compact protein matrix because of cross-linking action of enzyme on milk proteins. The whey proteins, however, decreased the hardness and elasticity of UF-Feta cheese. It seems that the added whey proteins increased the moisture content of cheese as sufficiently as to offset the decrease in the total filler volume caused by fat reduction, preventing the protein matrix to be more compact and elastic.

2. MSc, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2 and 3. Associate and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
4. MSc, Department of Food Science & Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(*- Corresponding Author Email: hosjooy@yahoo.com)

Promoted protein-protein interactions of the cheese matrix resulting from fat reduction or TGase treatment might also account for our observation on decreased adhesiveness and increased cohesiveness. As the protein matrix becomes more compact, the cheese loses its adhesiveness. Conversely, as the number or strength of protein interactions increases, the structural integrity of cheese matrix called cohesiveness increases. Apart from fat, water can also create more open conformation for protein molecules, resulting in increased adhesiveness and decreased cohesiveness. This may justify our observation on higher adhesiveness and lower cohesiveness of whey protein-fortified low-fat cheeses with high moisture content. Not surprisingly, all the sensory attributes of UF-Feta cheese were adversely influenced by fat reduction. On the other hand, whey proteins improved the flavor and texture of low-fat UF-Feta cheeses. They, however, showed no effect on appearance score of cheese samples in spite of the fact that they somewhat compensated for lost lightness (L*) of low-fat cheeses. Similarly, TGase treatment did not affect the appearance acceptability of UF-Feta cheeses despite having significant effect on their L* value. The sensory panel did not appreciate the flavor of TGase-treated samples; however, they scored the samples treated with enzyme concentration lower than 1 U/g protein as having desirable texture. RSM suggested that the optimum formulation of 5.95% (w/w) fat, 0.56 unit TGase per gram protein and 8.79% (w/w) WPC could produce a low-fat cheese sample with desired textural (hardness 0.342 kg; elasticity 8.58 mm; adhesiveness -0.070 kg.s; cohesiveness 0.474) and sensory (overall sensory score 88.73 out of 100) attributes.

Keywords: Low fat ultra-filtrated cheese, Transglutaminase enzyme, Whey protein concentrate, Response surface method.