

بررسی خواص ویسکوالاستیک ژل کازئین اسیدی شده در سیستم مدل

محبوبه صادقی^۱، محمد امین محمدی فر^۲، اصغر خسروشاهی^۳، اشکان مددلو^۴، مهرناز ملکی^۵

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
- ۲- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی پست الکترونیکی: mohamdif@ut.ac.ir
- ۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
- ۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی، پژوهشگاه فناوری‌های نوین، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی
- ۵- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۶

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۷

چکیده

سابقه و هدف: طی سال‌های گذشته ژل‌های لبنی حاصل از اسیدی کردن پروتئین‌های شیر کاربرد زیادی در صنعت داشته‌اند و در حال حاضر نیز پایه گسترده وسیعی از محصولات غذایی را تشکیل می‌دهند. از این‌رو توسعه درک بنیادی از تأثیر پارامترهای فرایند و اجزای تشکیل دهنده سیستم، بر ساز و کار تشکیل ژل و نیز ویژگی‌های ژل نهایی در سیستم‌های واقعی و یا سیستم‌های مدل مورد توجه محققان و نیز صنایع واقع شده است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر، دمای گرمخانه‌گذاری و حرارت‌دهی بر ویژگی‌های ویسکوالاستیک ژل نهایی در غالب یک سیستم مدل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: محلول تهیه‌شده از نسبت‌های مختلف کازئین به آب پنیر (۲/۷:۰/۳ و ۲/۴:۰/۶ و ۲/۱:۰/۹) به مدت یک شب در یخچال نگهداری شد. سپس نمونه‌ها در حمام آب در دماهای حرارت‌دهی مختلف (۹۰ و ۸۰ و ۷۰) به مدت زمان ۱۵ دقیقه حرارت داده شدند. پس از خنک کردن تا دمای گرمخانه‌گذاری (۴۵، ۳۵ و ۲۵)، گلوکونودلتا لاکتون افزوده شد و سرانجام نمونه‌ها به رنومتر منتقل شدند. فرایند ژل شدن با استفاده از آزمون نوسانی روبش زمان پایش گردید. سپس معادله چندجمله‌ای درجه دوم بر داده‌های به دست آمده از این آزمون برازش داده شد. در نهایت بهینه‌سازی پاسخ با نرم‌افزار Minitab₁₅ صورت گرفت.

یافته‌ها: با توجه به نتایج به دست آمده، دمای گرمخانه‌گذاری و دمای حرارت‌دهی بر میزان G'_{200} (مدول الاستیک ژل نهایی که ۲۰۰ دقیقه پس از افزودن گلوکونودلتا لاکتون اندازه‌گیری شد) به شکل معنی‌داری (به ترتیب $P < 0/01$ و $P < 0/01$) تأثیر داشتند ولی نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر بر میزان این پارامتر اثر معنی‌داری نداشت. میزان G'_{200} با افزایش دمای گرمخانه‌کاهش و با افزایش دمای حرارت‌دهی افزایش یافت. همچنین مقدار پایین محتوی کازئین و دمای بالا برای فرایندهای گرمخانه‌گذاری و حرارت‌دهی موجب شد تا زمان شروع تشکیل ژل کوتاه شود. فاکتور میرایی ($\tan \delta$) نیز با افزایش دمای گرمخانه‌گذاری و کاهش دمای حرارت‌دهی افزایش نشان داد. حداکثر میزان G'_{200} معادل با ۲۶۸/۹۳ Pa، در حضور میزان کازئین ۲/۷ w/w، دمای گرمخانه‌گذاری ۲۵ °C و دمای حرارت‌دهی ۹۰ °C به دست آمد.

نتیجه‌گیری: تأثیر پارامترهای مختلف فرایند و سیستم بر فرایند تشکیل ژل‌های لبنی و ویژگی‌های نهایی آن، به صورت کمی، به خوبی توسط آزمون‌های رئولوژیک نوسانی تعیین و توصیف می‌شوند. این مطالعه نشان داد در میان پارامترهای مورد مطالعه در این تحقیق دمای گرمخانه‌گذاری مؤثرترین عامل در کنترل ویژگی‌های ویسکوالاستیک ژل نهایی به دست آمده از فرایند اسیدی کردن کازئین است.

واژگان کلیدی: ژل کازئین، دمای گرمخانه‌گذاری، دمای حرارت‌دهی، خواص ویسکوالاستیک

• مقدمه

می‌روند (۱، ۲، ۳). از سوی دیگر این سیستم‌ها ابزار مناسبی برای مطالعه و تعیین ساز و کارهای دخیل در فرایندهای مختلف نظیر ژل شدن به‌شمار می‌روند (۴، ۵). با وجود این از نقاط ضعف عمده مدل‌ها نسبت به

ژل‌های تهیه‌شده از فرایند اسیدی کردن محلول کازئین، سیستم‌های ساده‌ای هستند که به‌عنوان مدل برای بررسی اثر متغیرهای مختلف بر ویژگی‌های بسیاری از محصولات لبنی تخمیری و به‌طور عمده انواع ماست به‌کار

هدف این مطالعه، با توجه به اهمیت سه فاکتور نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر، دمای گرمخانه‌گذاری و دمای حرارت‌دهی در تهیه ژل‌های ناشی از اسیدی کردن کازئین، بررسی تأثیر این سه فاکتور بر فرایند ژل شدن و نیز تعیین شرایط بهینه به منظور دستیابی به بیشینه مقدار مدول الاستیک برای ژل نهایی با استفاده از طرح روش سطح پاسخ (RSM) تعیین شد. با توجه به رابطه بین ویژگی‌های رئولوژیک با خصوصیات نظیر قابلیت نگهداری آب، ویژگی‌های حسی و یا آزاد شدن کنترل‌شده عطر و طعم محصول، نتایج این مطالعه می‌تواند بستری مناسب را برای مطالعات بعدی در این خصوص فراهم کند.

• مواد و روش‌ها

مواد: کازئین، گلوکونودلتالاکتون، سود و سدیم آزاید از شرکت Merck آلمان و کنسانتره پروتئین آب پنیر از شرکت DMV هلند خریداری شدند. کنسانتره پروتئین آب پنیر حاوی ۷۸٪ پروتئین، ۵٪ لاکتوز، ۶٪ چربی، ۴٪ خاکستر و ۵٪ رطوبت بود.

آماده‌سازی محلول‌ها و ژل‌ها: کازئین و کنسانتره پروتئین آب پنیر برای به‌دست آوردن نسبت‌های مختلف کازئین به پروتئین آب پنیر (۲/۷۰:۰/۳ و ۲/۴۰:۰/۶ و ۲/۱۰:۰/۹) در مقادیر مناسب مخلوط شدند، به‌صورتی که مقدار کل ماده خشک (w/w) ۳٪ بود. سپس مخلوط با آب دیونیزه هیدراته گردید. برای جلوگیری از رشد باکتریایی، سدیم آزاید (100 mg L^{-1}) افزوده شد. پس از تنظیم pH مخلوط با استفاده از سود یک نرمال در محدوده ۶/۹-۶/۷، با استفاده از همزن‌کننده اولتراتوراکس با سرعت ۶۵۰۰ rpm به‌مدت زمان ۶۰ دقیقه هم زده شد. جهت جلوگیری از تبخیر، در بشر حاوی نمونه با فویل آلومینیومی پوشانده شد و سپس جهت تکمیل فرایند هیدراته شدن به‌مدت یک شب در یخچال نگهداری شد. پس از خارج کردن محلول از یخچال، به‌مدت زمان ۱۵ دقیقه در حمام آب و در سه دمای مختلف (90°C و 80°C و 70°C) حرارت داده شد. پس از خنک کردن مخلوط تا دمای گرمخانه‌گذاری (45°C و 35°C و 25°C) توسط حمام آب یخ، گلوکونودلتالاکتون به میزان ۷٪ (w/w) افزوده شد.

آزمون‌های رئولوژیک: بلافاصله پس از افزودن گلوکونودلتالاکتون، محلول به‌مدت زمان ۱ دقیقه هم‌زده شد و سپس ۳۷ میلی‌لیتر از آن به رئومتر منتقل گردید.

سیستم‌های واقعی می‌توان به انحراف نتایج از مقادیر واقعی، به‌دلیل سادگی سیستم و در نتیجه چشم‌پوشی از میان‌کنش‌های بین اجزای تشکیل‌دهنده در سیستم‌های واقعی اشاره کرد (۸-۶).

فرایند ژل شدن پروتئین‌های شیر و نیز ویژگی‌های ژل نهایی موضوع مطالعات بسیاری قرار گرفته است که در این بین بررسی پارامترهای فرایند و نیز اثر اجزای تشکیل‌دهنده سیستم بر فرایند تشکیل ژل و کیفیت نهایی آن، بخش عمده‌ای از این مطالعات را به‌خود اختصاص داده است (۹، ۴، ۳). از دسته اول (پارامترهای فرایند) می‌توان به بررسی اثر پارامترهایی نظیر روش و ترتیب اختلاط (۱۰)، دمای پیش‌حرارت‌دهی (۱۱)، دمای گرمخانه‌گذاری (۴)، سرعت اسیدی کردن (۴) و سرعت گرم یا سرد کردن نمونه (۱۲) و از دسته دوم (اثر اجزای تشکیل‌دهنده سیستم) می‌توان به بررسی اثر پارامترهایی نظیر درصد چربی (۱۳)، مقدار ماده خشک (۱۴)، نسبت اجزای تشکیل‌دهنده (۱۵)، مقدار و نوع افزودنی‌ها (۱۳) و میزان سلول‌های سوماتیک در شیر (۱۶) و در نهایت نوع شیر (۱۷) اشاره کرد. اسیدی کردن می‌تواند توسط افزودن مایه کشت میکروبی یا به‌صورت شیمیایی با افزودن گلوکونودلتالاکتون صورت گیرد. استفاده از گلوکونودلتالاکتون دارای این مزیت است که از برخی مشکلات مرتبط با مایه کشت میکروبی مانند متفاوت بودن فعالیت میکروبی و یا متفاوت بودن نوع مایه کشت میکروبی، جلوگیری می‌کند (۳). فاکتورهای مورد مطالعه در خصوص ژل‌های ناشی از اسیدی کردن پروتئین‌های شیر، عمدتاً شامل مواردی نظیر pH و زمان تشکیل ژل، سرعت افزایش قوام یا قدرت ژل، نوع و قدرت ساختار و در نهایت مواردی نظیر میزان سینرسیس و قابلیت نگهداری آب ژل پس از مدت زمان معین از شروع ژل شدن بوده است (۱۸). در مطالعات مذکور، تکنیک‌های مختلفی مورد استفاده قرار گرفته است که در این میان پایش ویژگی‌های رئولوژیک با استفاده از آزمون‌های نوسانی با دامنه کوتاه (small-amplitude oscillatory shear test)، به دلیل حساسیت بالا و عدم تخریب ساختار ژل در طی فرایند ژل شدن، از اهمیت خاصی برخوردار بوده و کاربرد گسترده‌تری داشته است (۱۹، ۱۱، ۶). با وجود مطالعات فراوان در خصوص اثر پارامترهای مختلف فرایند و سیستم به‌صورت منفرد بر فاکتورهای مذکور، گزارش‌ها در مورد اثر هم‌زمان این پارامترها بر ویژگی‌های ژل بسیار محدود است.

طراحی آزمایش و آنالیز آماری: اثرات فرایند حرارتی، دمای گرمخانه‌گذاری و نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر بر پارامتر G'_{200} ژل‌ها با استفاده از روش سطح پاسخ مورد ارزیابی قرار گرفت. از این رو از طرح مرکب مرکزی CCD (Central Composite Design) نوع مرکز وجه برای طراحی آزمایش استفاده شد تا حداکثر اطلاعات با کمترین تعداد اجرا از طریق توزیع نقاط آزمایشی در محدوده مورد نظر استخراج شود. با توجه به ترکیب پروتئین‌های شیر و شرایط فرایندی که برای این نوع محصولات به کار می‌رود، برای هر یک از متغیرهای مؤثر سه سطح لحاظ شد. سه متغیر و سطوح انتخابی در جدول ۱ آورده شده است. به این ترتیب ۲۰ آزمایش با برنامه آماری طرح مرکب مرکزی و نرم افزار minitab15 انجام شد. آرایه‌ها با رعایت اصل تصادفی کردن و دو تکرار و به‌عنوان پاسخ‌های سیستم در نظر گرفته شدند.

آزمون‌های رئولوژی نوسانی در دستگاه رئومتر چرخشی MCR 301 (ساخت شرکت Anton Paar) و با استفاده از ژئومتری پره‌ای (vane St14) انجام شد. برای تنظیم دما سیستم Peltier Plate با حساسیت ± 0.1 مجهز به سیرکولاتور آب به کار گرفته شد. جهت جلوگیری از تبخیر از تله حلال (solvent trap) استفاده شد. آزمون روبش زمان طی فرایند ژل شدن در فرکانس ۱ Hz و کرنش ۱٪ انجام گردید. در طی آزمون هر ۱ دقیقه اندازه‌گیری‌ها (مقادیر مدول الاستیک و مدول ویسکوز) انجام می‌گرفت و ۲۰۰ دقیقه پس از افزودن گلوکونودلتا لاکتون، آزمون روبش زمان به پایان رسید. این آزمون برای تعیین G'_{200} (مدول الاستیک ژل نهایی که ۲۰۰ دقیقه پس از افزودن گلوکونودلتا لاکتون اندازه‌گیری می‌شود)، ضریب میرایی یا $\tan\delta$ (تانژانت افت) ژل نهایی و زمان ژل شدن (زمانی که مدول الاستیک به ۱ Pa یا بالاتر می‌رسد) انجام شد.

جدول ۱- نمایش طراحی آزمون‌ها بر اساس مدل طرح مرکب مرکزی با سه متغیر

شماره آزمون	میزان کازئین (%/w/w)	دمای گرمخانه‌گذاری (°C)	دمای حرارت‌دهی (°C)
۱	۲/۱	۲۵	۹۰
۲	۲/۴	۳۵	۸۰
۳	۲/۴	۳۵	۸۰
۴	۲/۴	۳۵	۹۰
۵	۲/۷	۴۵	۹۰
۶	۲/۱	۲۵	۷۰
۷	۲/۷	۲۵	۹۰
۸	۲/۴	۳۵	۸۰
۹	۲/۴	۳۵	۸۰
۱۰	۲/۱	۴۵	۹۰
۱۱	۲/۷	۲۵	۷۰
۱۲	۲/۷	۳۵	۸۰
۱۳	۲/۴	۳۵	۸۰
۱۴	۲/۱	۴۵	۷۰
۱۵	۲/۱	۳۵	۸۰
۱۶	۲/۴	۳۵	۷۰
۱۷	۲/۷	۴۵	۷۰
۱۸	۲/۴	۳۵	۸۰
۱۹	۲/۴	۴۵	۸۰
۲۰	۲/۴	۲۵	۸۰

• یافته‌ها

نتایج حاصل از طراحی CCD برای پارامتر $G'_{2..}$ در جدول ۲ آمده است. $G'_{2..}$ به دست آمده از ۲ مرتبه تکرار هر آزمایش، به عنوان متغیر وابسته یا پاسخ (Y) در نظر گرفته شد و نتایج آزمون بر اساس معادله درجه دوم زیر تحلیل گردید.

(۱)

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i \chi_i + \sum \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} \chi_i \chi_j + \varepsilon_{ij}$$

در این فرمول Y عبارت است از پاسخ پیش‌بینی شده و β_0 ضریب ثابت، β_i اثرات خطی، β_{ii} اثر مربعات و β_{ij} اثر متقابل، ε_{ij} خطای تصادفی، χ_i و χ_{ij} متغیرهای مستقل هستند (۲۰).

جدول ۲- نتایج به دست آمده برای پارامترهای $G'_{2..}$ tan δ و زمان آغاز تشکیل ژل پس از افزودن اسید

شماره آزمون	$G'_{2..}$ (Pa)	Tan δ	زمان آغاز تشکیل ژل پس از افزودن اسید (min)
۱	۲۶۳/۰	۰/۳۰۰۰	۱۰۴
۲	۷۰/۶	۰/۳۳۴۰	۷۲
۳	۷۴/۲	۰/۳۳۰۴	۷۳
۴	۷۹/۴	۰/۳۱۲۰	۶۸
۵	۲۵/۴	۰/۳۱۷۰	۳۶
۶	۱۹۰/۰	۰/۳۰۹۰	۱۱۳
۷	۲۶۹/۰	۰/۲۹۵۰	۱۰۸
۸	۶۶/۴	۰/۳۳۰۷	۷۴
۹	۶۸/۷	۰/۳۲۵۸	۷۴
۱۰	۲۵/۲	۰/۳۴۵۲	۳۵
۱۱	۲۰۵/۰	۰/۳۱۰۴	۱۱۶
۱۲	۶۶/۲	۰/۳۳۶۴	۷۱
۱۳	۷۳/۲	۰/۳۱۸۲	۷۲
۱۴	۱۶/۱	۰/۳۶۶۴	۴۰
۱۵	۶۸/۹	۰/۳۲۸۰	۷۰
۱۶	۵۰/۳	۰/۳۳۷۰	۸۰
۱۷	۱۶/۸	۰/۳۶۲۵	۴۰
۱۸	۶۸/۸	۰/۳۲۸۱	۷۳
۱۹	۲۰/۳	۰/۳۵۰۷	۳۸
۲۰	۲۴۰/۰	۰/۳۰۶۰	۱۱۱

تحلیل آماری برای سه متغیر مورد آزمایش پس از حذف پارامترهای غیرمؤثر در جدول ۳ ارائه شده است. در بخشی از آنالیز واریانس داده‌ها، پارامتر عدم تطابق یا Lack-of-fit (حاکمی از تناسب مدل) محاسبه شد (جدول ۴). همان‌طور که

در جدول ۴ ملاحظه می‌شود، میزان مقادیر F و P (پارامتر عدم تطابق یا Lack-of-fit) به ترتیب ۲/۵۶ و ۰/۱۶۳ بوده است که تأییدی بر مناسب بودن مدل محاسباتی محسوب می‌شود. به عبارت دیگر، مقادیر کوچک P و بزرگ F بیانگر نامناسب بودن مدل است. در مقدار P کوچک‌تر از ۰/۰۵ به طور کلی مدل کنار گذاشته می‌شود. مطابق نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) برای $G'_{2..}$ مقدار P به دست آمده ($P < ۰/۰۰۱$) نشان‌دهنده سطح بالای معنادار بودن دو متغیر مستقل به کار رفته بر میزان پاسخ حاصل ($G'_{2..}$) است. مقدار عددی R و R^2 نیز حاکی از این موضوع است که مدل رگرسیون تا چه حد می‌تواند تعیین‌کننده انحراف داده‌ها باشد و هر چه R^2 به واحد نزدیک باشد، پاسخ به دست آمده از مدل تجربی، به اعداد واقعی نزدیک‌تر است (۲۱). بنابراین با توجه به نزدیک بودن R^2 به ۱ (۰/۹۹۸۹) می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که رابطه Y به خوبی توانسته است ارتباط بین متغیرهای مورد آزمایش را نشان دهد.

مدل ارائه‌شده برای $G'_{2..}$ با توجه به ضرایب جدول ۳ به این صورت بود:

(۲)

$$Y = 145.710 + 129.682\chi_1 - 39.694\chi_2 + 14.196\chi_3 - 12.980\chi_1^2 + 0.614\chi_2^2 - 0.039\chi_3^2 - 0.837\chi_1\chi_2 - 0.396\chi_1\chi_3 - 0.149\chi_2\chi_3$$

در این رابطه Y پاسخ یا $G'_{2..}$ بوده و χ_1 ، χ_2 و χ_3 به ترتیب میزان کازئین، دمای گرمخانه‌گذاری و دمای حرارت‌دهی هستند. با توجه به ضرایب به دست آمده مشخص شد که بین متغیرهای مستقل دمای گرمخانه‌گذاری و دمای حرارت‌دهی و پاسخ رابطه خطی وجود دارد، به عبارت دیگر نشان داده شد که میزان $G'_{2..}$ با افزایش دمای گرمخانه‌گذاری کاهش و با افزایش دمای حرارت‌دهی افزایش می‌یابد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که اثر مربع دمای گرمخانه‌گذاری و اثر متقابل دو متغیر دمای گرمخانه‌گذاری و دمای حرارت‌دهی بر مقادیر مدول الاستیک برای ژل نهایی معنی‌دار است ($P < ۰/۰۰۱$). بنابراین به نظر می‌رسد که از بین سه متغیر مستقل (نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر، دمای گرمخانه‌گذاری و دمای حرارت‌دهی) دمای گرمخانه‌گذاری بر میزان پاسخ تأثیر بیشتری داشته باشد.

جدول ۳- تحلیل آماری اثر متغیرها بر $G'_{r..}$

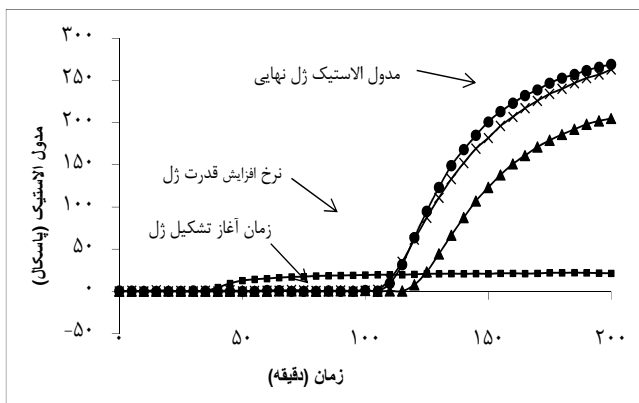
پارامترها	ضرایب	انحراف معیار ضرایب	t- value	P- value
دمای گرمخانه‌گذاری	-۳۹/۶۹۴	۲/۲۹۸	-۱۷/۲۷۰	۰/۰۰۰
دمای حرارت‌دهی	۱۴/۱۹۶	۴/۰۰۰	۳/۵۴۹	۰/۰۰۵
دمای گرمخانه‌گذاری × دمای گرمخانه‌گذاری	۰/۶۱۴	۰/۰۲۴	۲۵/۸۱۴	۰/۰۰۰
دمای حرارت‌دهی × دمای گرمخانه‌گذاری	-۰/۱۴۹	۰/۰۱۴	-۱۰/۶۸۸	۰/۰۰۰

R-Sq = 99.89% R-Sq(adj) = 99.78%

جدول ۴- آنالیز واریانس داده‌های مربوط به $G'_{r..}$

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F-value	P-value
رگرسیون	۹	۱۳۵۴۱۷/۱	۱۵۰۴۶/۳۵	۹۶۶/۰۷۸	۰/۰۰۰
خطی یا Linear	۳	۴۷۵۲/۶	۱۵۸۴/۲۱	۱۰۱/۷۲	۰/۰۰۰
توان دو یا Square	۳	۱۷۱۲۱/۷	۵۷۰۷/۲۴	۳۶۶/۴۴	۰/۰۰۰
اثر برهم‌کنش یا Interaction	۳	۱۸۴۰/۸	۶۱۳/۶۱	۳۹/۴۰	۰/۰۰۰
خطای باقی‌مانده یا Residual Error	۱۰	۱۵۵/۷	۱۵/۵۷		
عدم تطابق یا Lack-of-Fit	۵	۱۱۲/۰	۲۲/۴۰	۲/۵۶	۰/۱۶۳
خطای خالص یا Pure Error	۵	۴۳/۷	۸/۷۵		
کل	۱۹				

بررسی داشته است، به طوری که با کاهش دما از 45°C به 25°C مقدار مدول الاستیک ژل نهایی و مدت زمان لازم برای شروع تشکیل ژل، به ترتیب در حدود ۱۰ و ۳ برابر افزایش می‌یابند.



شکل ۱- نمودار مدول الاستیک در مقابل زمان برای

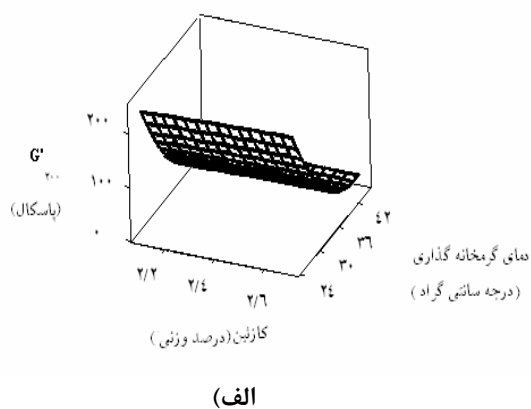
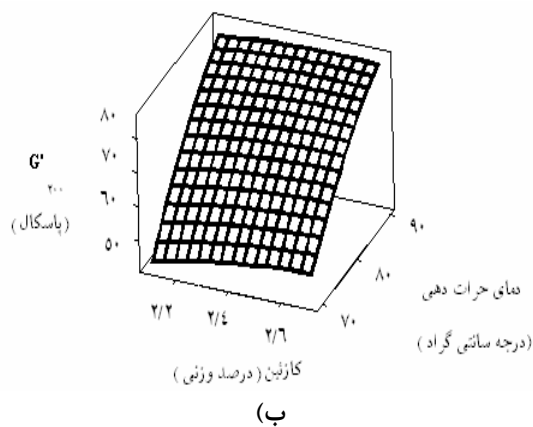
- : $2/7$ ٪ کازئین، 25°C دمای گرمخانه‌گذاری، 90°C دمای حرارت‌دهی
- ×: $2/1$ ٪ کازئین، 25°C دمای گرمخانه‌گذاری، 90°C دمای حرارت‌دهی
- ▲: $2/7$ ٪ کازئین، 25°C دمای گرمخانه‌گذاری، 70°C دمای حرارت‌دهی
- : $2/7$ ٪ کازئین، 45°C دمای گرمخانه‌گذاری، 90°C دمای حرارت‌دهی

در شکل ۱ پایش فرایند ژل شدن با تعیین مدول الاستیک تابع زمان نمایش داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود نمونه‌های مختلف که تحت تأثیر تیمارهای متفاوت بوده‌اند، در خصوص ویژگی‌هایی نظیر زمان آغاز تشکیل ژل، نرخ افزایش قدرت ژل (بلافاصله پس از تشکیل ژل) و قدرت ژل نهایی متفاوت هستند. پارامترهای به‌دست آمده از پایش فرایند ژل شدن برای نمونه‌های مختلف به صورت کمی در جدول ۲ ارائه شده‌اند. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که افزایش دمای گرمخانه‌گذاری موجب کاهش مدول الاستیک برای ژل نهایی، کوتاه شدن مدت زمان لازم برای شروع تشکیل ژل و در نهایت، مقادیر بالا برای فاکتور میرایی ($\tan \delta$) می‌گردد. همچنین بررسی دو متغیر مستقل دیگر نشان می‌دهد که مقادیر بالای مدول الاستیک ژل نهایی و مقادیر پایین فاکتور میرایی و زمان ژل شدن در دمای حرارت‌دهی بالا رخ می‌دهد و نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر تنها بر زمان ژل شدن مؤثر است. علاوه بر این، بررسی نمونه‌های مختلف در شکل ۱ نشان می‌دهد که دمای گرمخانه‌گذاری بیشترین اثر را بر پارامترهای مورد

معنی‌دار این متغیر بر میزان G'_{200} و شیب کم منحنی در پی تغییرات میزان کازئین حاکی از بی‌تأثیر بودن این متغیر بر میزان G'_{200} است. خطوط موازی این نمودار نیز بیانگر عدم وجود اثر برهم‌کنش بین این دو متغیر است. همان‌طور که مدل هم نشان می‌دهد، عامل برهم‌کنش میزان کازئین و دمای حرارت‌دهی به‌علت داشتن P-value بزرگ‌تر از ۰/۰۵، اثر معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. شکل ۲-ج بیانگر تأثیر معنی‌دار برهم‌کنش دمای گرمخانه‌گذاری و دمای حرارت‌دهی بر میزان G'_{200} است که این نکته با نتایج به‌دست آمده توسط مدل محاسباتی نیز مطابقت دارد.

بهینه‌سازی پاسخ: بهینه‌سازی پاسخ برای رسیدن به حداکثر خاصیت الاستیک با استفاده از نرم‌افزار Minitab15 انجام شد. حداکثر میزان G'_{200} معادل با ۲۶۸/۹۳ Pa، در حضور میزان کازئین ۲/۷ %w/w، دمای گرمخانه‌گذاری 25°C و دمای حرارت‌دهی 90°C به‌دست آمد.

نمودارهای رویه سه‌بعدی، تغییرات G'_{200} را در برابر متغیرهای مستقل نشان می‌دهند. این نمودارها میزان پاسخ یا الاستیسیته ژل نهایی را در برابر تغییر متغیرها به‌صورت سه‌بعدی ارائه می‌دهند. در این نمودارها متغیر سوم ثابت و در سطح متوسط خود در نظر گرفته شده است. همان‌طور که در شکل ۲-الف ملاحظه می‌شود، در پی تغییرات دمای گرمخانه‌گذاری شیب زیادی در منحنی دیده می‌شود که این موضوع حاکی از اثر معنی‌دار این متغیر بر میزان G'_{200} است و شیب کم منحنی در پی تغییرات میزان کازئین حاکی از بی‌تأثیر بودن این متغیر بر میزان G'_{200} است. خطوط موازی شکل (شیب مشابه نمودار در سطح کم و زیاد متغیرها) نشان‌دهنده بی‌تأثیر بودن برهم‌کنش این متغیرها با یکدیگر است. این نکته با نتایج به‌دست آمده توسط مدل محاسباتی (معادله ۲) تطابق دارد. در شکل ۲-ب شیب زیاد منحنی در پی تغییرات دمای حرارت‌دهی، نشان‌دهنده اثر



شکل ۲- نمودار رویه G'_{200} بر حسب تغییرات (الف) میزان کازئین و دمای گرمخانه‌گذاری، (ب) میزان کازئین و دمای حرارت‌دهی، (ج) دمای گرمخانه‌گذاری و دمای حرارت‌دهی

• بحث

ویژگی‌های ویسکوالاستیک ژل‌ها تحت تأثیر عوامل مختلفی هستند که در این میان دمای گرمخانه‌گذاری یکی از عوامل مهم تأثیرگذار بر ویژگی‌های ویسکوالاستیک ژل‌های کازئین اسیدی شده در سیستم‌های مدل و واقعی محسوب می‌شود (۲۳، ۲۲، ۱۸، ۶، ۴). مشخص شده است که در دماهای گرمخانه‌گذاری پایین، ذرات کازئین حجم بالایی دارند. این بدان معنا است که آنها می‌توانند پیوستگی بین مولکولی بزرگ‌تر یا قوی‌تری را با مولکول‌های پروتئین زیادی که در این نقاط تماس وجود دارند، ایجاد کنند. بازآرایی ذرات در طی تشکیل ژل در دماهای پایین ضعیف‌تر بوده و شبکه حاصل یکنواخت‌تر و سخت‌تر است. در دماهای بالا، حجم کوچک‌تر ذرات منجر به سطح تماس بین ذره‌ای کوچک‌تر و نقاط تماس ضعیف‌تر و در نتیجه بازآرایی موضعی شده و شبکه غیریکنواخت‌تری ایجاد می‌کند (۲۴، ۴). همچنین تفاوت در سرعت اسیدی شدن محلول‌های کازئین در دماهای گرمخانه‌گذاری متفاوت (ناشی از وابستگی سرعت هیدرولیز گلوکونودلتالاکتون به دمای گرمخانه‌گذاری) با تحت تأثیر قرار دادن ازهم‌گسیختگی کازئین‌ها، سرعت توده‌ای شدن آنها و زمان لازم برای بازآرایی ذرات پروتئین توده‌شده بر ویژگی‌های ژل نهایی تأثیرگذار خواهند بود (۶، ۴). با وجود این، گزارش‌های متناقضی از اثر دمای گرمخانه‌گذاری بر سختی ژل‌های به‌دست آمده از اسیدی شدن سیستم توسط مایه کشت میکروبی ارائه شده است (۲۵، ۲۳، ۶). Haque و همکاران (۲۵) دلیل اثر مثبت دمای گرمخانه‌گذاری بر الاستیسیته ژل‌های به‌دست آمده توسط اسیدی کردن را برهم‌کنش‌های هیدروفوبی گزارش کردند ولی Kristo و همکاران (۲۳) بیان کردند که با وجود نقش مهم برهم‌کنش‌های هیدروفوبی در توده‌ای شدن میسل‌های کازئین، سایر موارد مؤثر بر ویژگی‌های پروتئین‌ها نیز باید در نظر گرفته شوند. بنابراین تناقض مشاهده شده در بین نتایج گزارش‌های مختلف در خصوص اثر دمای گرمخانه‌گذاری را می‌توان به تفاوت در میزان ماده خشک، نوع ترکیب، تفاوت در دمای بهینه رشد سوش‌های مختلف میکروبی و قابلیت تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی توسط برخی از باکتری‌های اسیدلاکتیک نسبت داد (۲۶، ۲۵). با توجه به رابطه مدول الاستیک و ضریب میرایی

($\tan \delta$) که عبارت است از نسبت مدول ویسکوز به مدول الاستیک، افزایش $\tan \delta$ مشاهده شده با افزایش دمای گرمخانه‌گذاری در ژل نهایی قابل تفسیر است. علاوه بر این، افزایش دمای گرمخانه‌گذاری موجب افزایش هیدرولیز گلوکونودلتالاکتون و در نتیجه کاهش مدت زمان لازم برای آغاز تشکیل ژل می‌شود (۴). دمای حرارت‌دهی از دیگر عوامل تأثیرگذار بر ویژگی‌های ویسکوالاستیک ژل‌ها بوده و در بسیاری از مطالعات پیشین نشان داده شده است که افزایش دمای حرارت‌دهی منجر به افزایش سختی ژل نهایی می‌شود (۱۸، ۱۵). افزایش مدول ذخیره ژل، تحت تأثیر افزایش دمای حرارت‌دهی، می‌تواند به این موضوع نسبت داده شود که در دماهای حرارت‌دهی 80°C میزان بیشتری از دناتوراسیون β -لاکتوگلوبولین شیر نسبت به دمای 75°C وجود دارد (۲۷). حرارت‌دهی در دماهای بالاتر از 80°C موجب می‌شود که α -لاکتالبومین و β -لاکتوگلوبولین دناتوره شده و سپس توده تشکیل دهند و سرانجام در محدوده دمایی بین 95°C - 90°C به میسل پیوندند (۲۸). افزایش اتصالات عرضی دی‌سولفیدی بین پروتئین‌های آب پنیر دناتوره‌شده و کازئین که حاصل از افزایش اتصال پروتئین‌های آب پنیر به کازئین در نتیجه حرارت‌دهی است، نقش برجسته‌ای در افزایش الاستیسیته ژل‌های اسیدی ایفا می‌کنند (۲۹، ۶). کاهش اندک $\tan \delta$ (G''/G') در طی افزایش این اتصالات الاستیک نشان می‌دهد قدرت پیوندهای با ماهیت غیرالاستیک (G'') نیز در اثر فرایند حرارت‌دهی در ساختار ژل نهایی تا حدودی افزایش یافته است. علاوه بر این، با اتصال پروتئین‌های آب پنیر در سطح میسل‌های کازئین و افزایش pH ژل شدن، زمان لازم برای آغاز فرایند تشکیل ژل کاهش می‌یابد. عامل مورد بررسی دیگر که تاکنون گزارش‌های مختلفی در مورد اثر آن بر ویژگی‌های ویسکوالاستیک ژل‌های لبنی وجود دارد نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر است. نتایج گزارش شده توسط Küçükçetin (۱۵) در این زمینه افزایش سختی ژل با کاهش نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر را در ماست‌های تهیه شده از مخلوط شیر بدون چربی و پروتئین آب پنیر جدا شده با میزان ماده خشک کل ۱۱/۵٪ وزنی/وزنی و محتوی پروتئین کل ۴/۸-۴/۳٪ وزنی/وزنی نشان داد. این افزایش به بالاتر بودن میزان پروتئین کل در مخلوط‌های با

پروتئین‌های آب پنیر بیشتری برای اتصال به سطح میسل‌های کازئین موجود هستند. با اتصال پروتئین‌های آب پنیر دنا‌توره‌شده در سطح میسل کازئین، pH ژل شدن افزایش می‌یابد، زیرا پروتئین‌های آب پنیر دنا‌توره دارای pH ایزوالکتریک بالاتری نسبت به کازئین هستند (۳۲) و در نتیجه ژل شدن در زمان‌های پایین‌تری رخ می‌دهد. لازم به ذکر است که کیفیت ژل تولیدی در این شرایط (میزان بالای پروتئین محلول در غلظت کل ثابت) به دلیل تفاوت در نوع پیوندهای تشکیل‌شده متفاوت است.

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، تأثیر پارامترهای مختلف فرایند و سیستم بر فرایند تشکیل ژل‌های لبنی و ویژگی‌های نهایی آن به‌صورت کمی به‌خوبی توسط آزمون‌های رئولوژیک نوسانی تعیین و توصیف می‌شوند. همچنین مقایسه نتایج به‌دست آمده از این مطالعه و سایر مطالعات انجام‌شده بر روی سیستم‌های مدل و یا واقعی نشان می‌دهد که ویژگی ژل نهایی علاوه بر اینکه تحت تأثیر مستقیم دمای گرمخانه‌گذاری بر ویژگی‌های پروتئین‌ها قرار دارد، به شدت وابسته به سرعت اسیدی شدن محیط بوده و در این راه مواردی نظیر میزان و ترکیب ماده خشک، نوع و میزان سوش میکروبی، تکنیک و روش مطالعه نیز باید در نظر گرفته شود. بنابراین نتایج هر تحقیق تنها در محدوده شرایط مورد مطالعه در آن تحقیق معتبر است و اصولاً نمی‌توان یک ساز و کار معین برای این موضوع پیشنهاد کرد.

نسبت پایین‌تر کازئین به پروتئین آب پنیر نسبت داده شد. Damin و همکاران (۹) نیز برای تهیه ماست بدون چربی هم‌زده (stirred yogurt) به شیر بدون چربی با ماده خشک ۱۲٪ وزنی/وزنی کنسانتره پروتئین آب پنیر افزودند و گزارش کردند که با افزایش میزان کنسانتره پروتئین آب پنیر ماست تولیدشده سختی کمتری نشان داد. Kelly و O'Kennedy (۱۲) اثر این عامل را در یک سیستم مدل از ژل پنیر تازه بررسی کردند و نتیجه گرفتند که با افزایش میزان پروتئین آب پنیر جداشده پیش‌دنا‌توره به محلول فسفوکازئین تا میزان ماده خشک کل ۱۲٪ وزنی/وزنی مدول الاستیک تا یک غلظت خاص روند افزایشی و در غلظت‌های بالاتر روند کاهش‌ی دارد. آنها این افزایش و کاهش مدول الاستیک با افزایش میزان پروتئین آب پنیر جداشده را به ترتیب به برهم‌کنش پروتئین‌های آب پنیر پیش‌دنا‌توره با میسل‌های کازئین و خودتجمعی (self aggregation) پروتئین‌های آب پنیر توسط حرارت در غلظت‌های بالای پروتئین آب پنیر نسبت دادند. همچنین گزارش‌هایی حاکی از بی‌اثر یا کم‌اثر بودن نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر بر سختی ژل‌های ماست تهیه‌شده با کاربرد جایگزینی پاره‌ای شیر بدون چربی توسط کنسانتره پروتئین آب پنیر موجود است (۳۱، ۳۰) که از این نظر با وجود تفاوت‌هایی که در دو سیستم واقعی و مدل وجود دارد بین نتایج اخیر با یافته‌های این پژوهش هم‌خوانی وجود دارد. با توجه به اینکه نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر اثر معنی‌داری بر مدول الاستیک نشان نداد، عدم مؤثر بودن این فاکتور بر $\tan \delta$ قابل تفسیر است. همچنین با کاهش نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر،

• References

1. Madadlou A, Emam-Djomeh Z, Mousavi ME, Mohamadifar M, Ehsani M. Acid-induced gelation behavior of sonicated casein solutions. *J ultsonch* 2010; 17(1): 153-8.
2. O'Kennedy BT, Mounsey JS, Murphy F, Duggan E, Kelly PM. Factors affecting the acid gelation of sodium caseinate. *Int Dairy J* 2006; 16: 1132-1141.
3. Braga ALM, Menossi M, Cunha RL. The effect of the glucono- δ -lactone/caseinate ratio on sodium caseinate gelation. *Int Dairy J* 2006; 16: 389-398.
4. Lucey JA, van Vliet T, Grolle K, Geurts T, Walstra P. Properties of acid casein gels made by acidification with glucono- δ -lactone. 1. Rheological properties. *Int Dairy J* 1997b; 7: 381-388.
5. Tunick MH. Rheology of Dairy Foods that Gel, Stretch, and Fracture. 2000 *J Dairy Sci*; 83:1892-1898.
6. Lucey JA, Tamehana M, Singh H, Munro PA. A comparison of the formation, rheological properties and microstructure of acid skim milk gels made with a bacterial culture or glucono- δ - lactone. *Food Res Int* 1998; 31: 147-155.
7. Amice-Quemeneur N, Haluk JP, Hardy J, Kratchenko TP. Influence of the acidification process on the colloidal stability of acidic milk drinks prepared from reconstituted nonfat dry milk. *J Dairy Sci* 1995; 78: 2683-2690.

8. van Marle ME, Zoon P. Permeability and rheological properties of microbially and chemically acidified skim-milk gels. *Netherlands Milk Dairy J* 1995; 49: 47-65.
9. Damir MR, Alcântara MR, Nunes AP, Oliveira MN. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. *LWT-Food Sci Tech*; 42: 1744-1750.
10. Lucey JA, Munro PA, Singh H. Effects of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid skim milk gels. *Int Dairy J* 1999; 9: 275-279.
11. Lee WJ, Lucey JA. Impact of gelation conditions and structural breakdown on the physical and sensory properties of stirred yogurts. *J Dairy Sci* 2006; 89: 2374-2385.
12. Kelly PM, O'Kennedy BT. The effect of casein/whey protein ratio and minerals on the rheology of fresh cheese gels using a model system. *Int Dairy J* 2001; 11: 525-532.
13. Keogh MK, O'Kennedy BT. Rheology of Stirred Yogurt as Affected by Added Milk Fat, Protein and Hydrocolloids. *J Food Sc* 1998; 63 (1): 108-112.
14. Anema SG. Effect of milk solids concentration on the gels formed by the acidification of heated pH-adjusted skim milk. *Food Chem* 2008; 108: 110-118.
15. Küçükçetin A. Effect of heat treatment and casein to whey protein ratio of skim milk on graininess and roughness of stirred yoghurt. *Food Res Int* 2008; 41: 165-171.
16. Vivar-Quintana AM, De La Mano EB, Revilla I. Relationship between somatic cell counts and the properties of yoghurt made from ewes' milk. *Int Dairy J* 2006; 16: 262-267.
17. Park YW. Rheological characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res* 2007; 68: 73-87
18. Lee WJ, Lucey JA. Rheological properties, whey separation, and microstructure in set-style yogurt: Effects of heating temperature and incubation temperature. *J Texture Stud* 2004; 34: 515-536.
19. Guggisberg D, Eberhard P, Albrecht B. Rheological characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins. *Int Dairy J* 2007; 17: 1353-1359.
20. Madadlou A, Emam-Djomeh Z, Mousavi ME, Ehsani M, Javanmard M, Sheehan D. Response surface optimization of an artificial neural network for predicting the size of re-assembled casein micelles. *Comput Electron Agric* 2009; 68: 216-221.
21. Kronenberg HJ, Hang YD. Biochemical changes in Okara during metauza fermentation. *Nutr Reports Intl* 1984; 30: 439- 443.
22. Arshad M, Paulsson M, Dejmeck P. Rheology of buildup, breakdown and rebodding of acid casein gels. *J Dairy Sci* 1993; 76: 3310-3316.
23. Kristo E, Biliaderis CG, Tzanetakis N. Modelling of the acidification process and rheological properties of milk fermented with a yogurt starter culture using response surface methodology. *Food Chem* 2003; 83: 437-446.
24. Lucey JA, van Vliet T, Grolle K, Geurts T, Waistra P. Properties of acid casein gels made by acidification with glucono-delta-lactone. 2. Syneresis, permeability and micro structural properties. *Int Dairy J* 1997c; 7: 389-397.
25. Haque A, Richardson RK, Morris ER. Effect of temperature on the rheology of set and stirred yogurt. *Food Hydrocol* 2001; 15: 593-602.
26. Bouzar F, Cerning J, Desmazeaud M. Exopolysaccharide production and texture promoting abilities of mixed-strain starter cultures in yoghurt production. *J Dairy Sci* 1997; 80: 2310-2317.
27. Lucey JA, Teo CT, Munro PA, Singh H. Rheological properties at small (dynamic) and large (yield) deformations of acid gels made from heated milk. *J Dairy Res* 1997a; 64: 591-600.
28. Hallén E. Coagulation properties of milk-association with milk protein composition and genetic polymorphism. PhD Thesis, Uppsala, Sweden, Swedish University of Agricultural Sciences; 2008.
29. Graveland-Bikker JF, Anema SG. Effect of individual whey proteins on the rheological properties of acid gels prepared from heated skim milk. *Int Dairy J* 2003; 13: 401-408.
30. Jelen P, Buchheim W, Peters KH. Heat stability and use of milk with modified casein: Whey protein content in yoghurt and cultured milk products. *Milchwissen* 1987; 42: 418-421.
31. Morris HA, Ghaleb HM, Smith DE, Bastian ED. A comparison of yoghurts fortified with nonfat dry milk and whey protein concentrates. *Cultured Dairy Pro J* 1995; 30(1): 2-4, 31.
32. Phadungath C. The mechanism and properties of acid-coagulated milk gels. *Songklanakarin J Sci Tec* 2005; 27: 433-448.

Viscoelastic properties of acid-induced casein gel in a model system

Sadeghi M¹, Mohammadifar MA^{*2}, Khosrowshahi A³, Madadlou A⁴, Maleki M⁵

1- M.sc Student in Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

2- *Corresponding author: Assistant Prof, Dept of Food Science & Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: mohamdif@ut.ac.ir

3- Prof, Dept of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

4- Assistant Prof, Dept of Food Science & Technology, Institute of Chemical Engineering, Iranian Research Organization for Science & Technology (IROST), Tehran, Iran.

5- M.sc Student in Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran.

Received 27 Apr, 2010

Accepted 28 Sep, 2010

Background and Objectives: Nowadays, acid-induced milk protein gels are used extensively in the dairy industry and are the base of many food products. Therefore, a deeper fundamental understanding of the effects of process parameters and system components on the mechanisms of gel formation and final gel properties in real and model systems is important for researchers and industries. The present study was designed to investigate the effects of casein-to-whey protein ratio, incubation temperature, and heating temperature on viscoelastic properties of the final gel in a model system.

Materials and Methods: Samples of solutions with different casein-to-whey protein ratios (2.1:0.9, 2.4:0.6 and 2.7:0.3) were prepared and refrigerated overnight. This was followed by heating the samples at different temperatures (70, 80, or 90°C) for 15 minutes using a water bath and cooling to incubation temperatures (25, 35 or 45 °C). In the next step lucono- δ -lactone was added and the samples were transferred to a rheometer. The gelation process was monitored by the time sweep oscillatory test. A second-order polynomial model was fitted to the experimental data and the optimum response was determined using the Minitab15 software.

Results: Incubation and heating temperatures influenced significantly ($P < 0.001$ and $P < 0.01$, respectively) the G'200 value (storage modulus value of the final gel measured 200 minutes after addition of GDL). The casein-to-whey protein ratio had no significant influence on the G'200 value. Increasing the incubation temperature led to a decrease, whereas increasing the heating temperature led to an increase, in the G'200 value. The maximum value of G'200, 268/93 Pa, was obtained at the presence of 2.6152% (w/w) casein and at incubation and heating temperatures of 25 °C and 90 °C, respectively. Smaller quantities of casein and higher incubation and heating temperatures shortened the length of time required for gel formation. Finally, increased incubation temperatures and decreased heating temperatures led to increased the damping factor ($\tan \delta$).

Conclusion: The effects of different process parameters on the viscoelastic properties of dairy gels can be determined and characterized by oscillatory rheometry. The findings of this study show that incubation temperature is the most effective factor, whereas casein-to-whey protein ratio has no significant effect on the final gel strength.

Keywords: Acid-induced casein gel, Incubation temperature, Heating temperature, Viscoelastic properties