تاثیر نمک های امولسیون کننده بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و زمان تشکیل لخته آنزیمی شیر بدون چربی

مهدخت سادات احتشامی[a]، حمید عزت پناه[b*]، سلیمان عباسی[c]، محمد هادی گیویان راد[d]

[a] دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
[b] دانشیار گروه تخصصی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
[c] دانشیار آزمایشگاه کلوئیدهای غذایی و رئولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران
[d] استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه شیمی تجزیه، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۹/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۲/۲۱

چکیده

مقدمه: پروتئین‌های شیر تحت اثر عوامل مختلفی مانند حرارت دادن، اسیدی کردن، افزودن آنزیم و نمک‌های امولسیون کننده قادر به تشکیل ژل می‌باشند. در این پژوهش اثر افزودن نمک های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و زمان تشکیل لخته آنزیمی شیر بدون چربی حرارت ندیده و حرارت دیده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: به شیر بدون چربی بازساخته حرارت ندیده و حرارت دیده ، نمک های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات در غلظت های ۲ تا۱۰ میلی مولار به طور جداگانه اضافه شدند. pH، هدایت الکتریکی و کدورت نمونه ها اندازه گیری شد. سپس به نمونه ها آنزیم مایه پنیر جهت تشکیل لخته اضافه گردید. ظرفیت نگهداری آب ژل‌ها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری‌سدیم سیترات سبب افزایش pH و هدایت الکتریکی و کاهش کدورت نمونه‌ها شدند. در ضمن، افزودن این نمک‌ها سبب به تاخیرانداختن زمان تشکیل ژل آنزیمی کازئین شد، بطوریکه فقط در نمونه‌های حاوی ۲ و ۴ میلی مولار تری سدیم سیترات و ۴ و۶ و ۸ میلی مولار تتراسدیم پیروفسفات ژل تشکیل گردید. نتایج حاصل از اندازه گیری ظرفیت نگهداری آب نیز بیانگر افزایش ظرفیت نگهداری آب نمونه‌ها بود.

نتیجه‌گیری: نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات سبب پراکنش کازئین و ایجاد ساختارهای ژل جدید می‌شوند که می‌توان از آن ها در بهبود خصوصیات بسیاری از محصولات شیری استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: *تترا سدیم پیروفسفات، تری سدیم سیترات، ژل آنزیمی کازئین، زمان تشکیل ژل، نمک های امولسیون کننده*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: hamidezzatpanah@yahoo.com

jftn.srbiau.ac.ir

مقدمه

تشکیل ژل بوسیله پروتئین‌های شیر اساس تهیه بسیاری از مواد غذایی مانند پنیر و ماست می‌باشد. این ژل‌ها پس از تشکیل بر خلاف ژل‌های ایجاد شده بوسیله بسیاری از پلی ساکاریدها تحت تاثیر تغییرات دما قرار نمی‌گیرند و برگشت ناپذیر[1] هستند. این ژل‌ها به طرق گوناگون از جمله حرارت دادن (ژل های تشکیل شده بوسیله پروتئین‌های آب پنیر)، آنزیمی (ژل‌های کازئین) و اسیدی کردن (ژل های تشکیل شده بوسیله کازئین‌ها و پروتئین‌های محلول پس از دناتوراسیون) تشکیل می‌گردند (Lucey & Horne, 2009).

پایداری میسل‌های کازئین به دلیل وجود نیروهای دافعه الکترواستاتیکی و ممانعت فضایی بخش مومانند گلیکوماکروپپتیدی κ کازئین ایجاد می‌شود. در اثر افزودن آنزیم رنت و جدا شدن بخش مومانند کاپاکازئین، دافعه الکترواستاتیکی و ممانعت فضایی میسل کازئین کاهش می‌یابد که در نهایت سبب ناپایداری سیستم و تشکیل ژل آنزیمی کازئین[2] می‌گردد (Walstra *et al*., 2006; Lucey & Horne, 2009).

تشکیل ژل آنزیمی کازئین، در دو مرحله صورت می‌گیرد: مرحله اول، مرحله آنزیمی است که طی آن آنزیم رنت سبب شکسته شدن پیوندهای ۱۰۶- ۱۰۵ بین متیونین- فنیل آلانین شده و پس از جدا شدن بخش گلیکوماکروپپتیدی موجب ناپایدار شدن کازئین‌ها می شود، در مرحله دوم، متجمع شدن ذرات کازئین و تشکیل ژل اتفاق می افتد که حضور یون کلسیم نقش مهمی در این مرحله دارد. در ضمن، عوامل مختلفی مانند دما، غلظت یون کلسیم و pH روی این مراحل تاثیرگذار می‌باشند (Fox *et al*., 2004; Walstra *et al*., 2006). بر اساس مطالعات انجام شده زمانی که میزان کلسیم فسفات کلوئیدی در ساختار به کمتر از ۳۰٪ کاهش یابد، ژل آنزیمی کازئین تشکیل نمی گردد (Shalabi and Fox, 1982). همچنین برخی از محققین معتقدند که در pH برابر ۷ حداقل ۸۰٪ تا ۹۰٪ کاپا کازئین باید توسط آنزیم رنت تجزیه شود تا تجمع میسل‌های کازئین رخ دهد (Dalgleish, 1979).

سیترات‌ها و فسفات‌ها گروهی از نمک‌های امولسیون کننده[3] هستند که با یون‌های چند ظرفیتی مانند Ca^{2+} و Mg^{2+} تشکیل کمپلکس فلزی محلول می‌دهند. اضافه کردن این نمک‌ها به شیر سبب پراکندگی میسل‌های کازئین از طریق کاهش میزان کلسیم یونیزه و کلسیم فسفات کلوئیدی می‌گردند(Munyuna and Larsson-Raznikiewiez, 1980; Visser *et al*., 1986; Udabage *et al*., 2000.) برخی محققین معتقدند اگرچه فسفات‌ها و سیترات‌ها گروهی از نمک‌های امولسیون کننده هستند اما این دسته از نمک‌ها، امولسیون کننده واقعی نیستند بلکه با تغییراتی که در ساختمان کازئین بوجود می‌آورند سبب تغییراتی در ظرفیت نگهداری آب پروتئین در ساختمان ژل و همچنین قابلیت امولسیون کنندگی چربی بوسیله کازئین می‌شوند. تاکنون تحقیقات محدودی در زمینه اثر نمک‌های تری سدیم سیترات و تتراسدیم پیروفسفات بر میزان پراکنش کازئین و همچنین تاثیر این نمک‌ها بر خصوصیات ژل ماست صورت گرفته است. که نتایج برخی از آن‌ها بیانگر این موضوع هستند که نمک تتراسدیم پیرو فسفات قادر به تشکیل ژل به تنهایی در مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد می باشد (Mizuno *et al*., 2005; Mizuno & Horne, 2007; Ozcan-Yilsay *et al*., 2007).

اما با توجه به مطالعات نگارندگان، تاکنون تحقیقی در مورد تاثیر این نمک‌ها به صورت منفرد و همراه با فرآیند حرارتی بر سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی شیر و زمان انعقاد شیر توسط آنزیم مایه پنیر صورت نگرفته است، لذا در این پژوهش تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های تترا سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و زمان تشکیل لخته آنزیمی شیر بدون چربی حرارت ندیده و حرارت دیده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

- مواد

نمک های تری سدیم سیترات و تترا سدیم پیروفسفات از شرکت سیگما آلدریچ[4]، آنزیم رنت با فعالیت برابر ۲۲۳۵ IMCU/g[5] از شرکت کریستین هنسن[6] دانمارک، شیر

[1] Heat Irreversible [2] Enzyme Induced Casein Gel
[3] Emulsifying Salts [4] Sigma Aldrich
[5] International Milk Coagulating Unit [6] Christian Hansen

jftn.srbiau.ac.ir

خشک بی چربی متوسط حرارت دیده[1] از شرکت فونترا[2] نیوزلند و سدیم آزاید از شرکت مرک[3] آلمان تهیه شدند.

- **آماده سازی نمونه‌ها**

شیر خشک بی‌چربی در آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ حل گردید و در دمای محیط بوسیله همزن[4] معمول آزمایشگاهی هم زده شد تا شیر بازساخته حاصل گردد. به نمونه‌های شیر به میزان ۰/۰۲٪ وزنی/ وزنی سدیم آزاید به منظور جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها افزوده شد. نمک‌های ترا سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات به صورت محلول‌های نمکی با غلظت ۰/۱ مولار تهیه گردیدند، سپس نمونه‌های مورد نظر با قدرت‌های یونی ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی مولار از نمک‌های فوق تهیه شدند.

تعدادی از نمونه‌ها تحت تیمار حرارتی قرار گرفته (Anema *et al*., 2007; Lucey, 1995)، بدین ترتیب که نمونه‌های مورد نظر در بن ماری دیجیتال ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند و پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای اتاق نمک‌های فوق با غلظت‌های ذکر شده به نمونه‌ها اضافه شدند.

برای تهیه ژل آنزیمی کازئین نیز به نمونه‌های مورد نظر آنزیم (مایه پنیر به میزان توصیه شده توسط شرکت تولید کننده) افزوده شد. سپس نمونه‌ها به گرم خانه ۴۳ درجه سانتیگراد انتقال داده شدند تا لخته‌های آنزیمی تشکیل گردند (Byland, 2003; Fox *et al*., 2004).

- **اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های شیر**
- **اندازه گیری pH**

pH نمونه های تیمار دهی شده با غلظت ها مختلف نمک های مذکور بر اساس استاندارد AOAC 947-05 با pH متر ساخت شرکت متروم سوئیس[5] مورد سنجش قرار گرفتند.

- **اندازه گیری هدایت الکتریکی**

هدایت الکتریکی بیانگر قابلیت یک محلول در عبور دادن جریان الکتریکی می‌باشد و معیاری از غلظت یون‌های موجود در محلول می‌باشد. میزان هدایت الکتریکی نمونه‌های فوق توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی ساخت شرکت کرایسون[6] مدل GIP32 تعیین گردید.

- **اندازه گیری کدورت**

کدورت نمونه‌ها نیز توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis مدل Varian Cary 50 مورد سنجش قرار گرفت. بدین منظور ابتدا رقت‌های۱۰٪ از تمام نمونه‌ها تهیه گردید و پس از اختلاط کامل، نمونه‌ها در داخل کوت ریخته شده و جذب نوری در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد (Mizuno and Lucey, 2005).

- **اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب در ژل آنزیمی شیر**

زمان تشکیل لخته‌ها تا رؤیت شبکه ژل در فواصل زمانی ۱۵ دقیقه بررسی شد. لخته‌های آنزیمی تهیه شده در فالکون‌های ۵۰ میلی لیتری، در دستگاه سانتریفوژ (g ۱۲۵۰ در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه) ساخت شرکت Kokusan قرار داده شد تا عمل جداسازی آب صورت گیرد. پس از جداسازی فاز رویی، فالکون محتوی لخته، که اکنون آب درون خود را از دست داده، توزین گردید (Auty *et al*., 2005). ظرفیت نگهداری لخته ها از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$WHC\% = 100 \times (Y - WE)/ Y$$

WHC = ظرفیت نگهداری آب

WE = وزن آب پنیر جدا شده از درون شبکه لخته

Y= وزن اولیه نمونه (لخته)

- **تجزیه و تحلیل آماری**

این پژوهش در قالب طرح فاکتوریل کاملا تصادفی انجام گرفت و از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. تمامی آزمایشات در ۳ تکرار انجام گرفت، و تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزارSPSS و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel انجام شد.

یافته‌ها

- تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های ترا سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر pH نمونه‌های شیر بی چربی حرارت ندیده و حرارت دیده

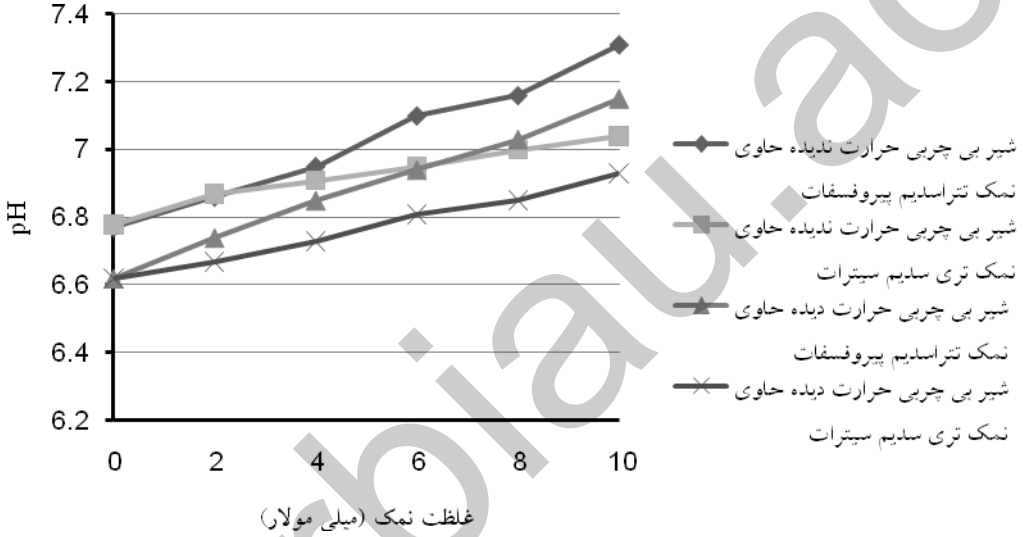
[1] Medium Heat Skim Milk Powder [2] Fonterra [3] Merck [4] Shaker [5] Metrohm [6] Crison

ifn.srbiau.ac.ir

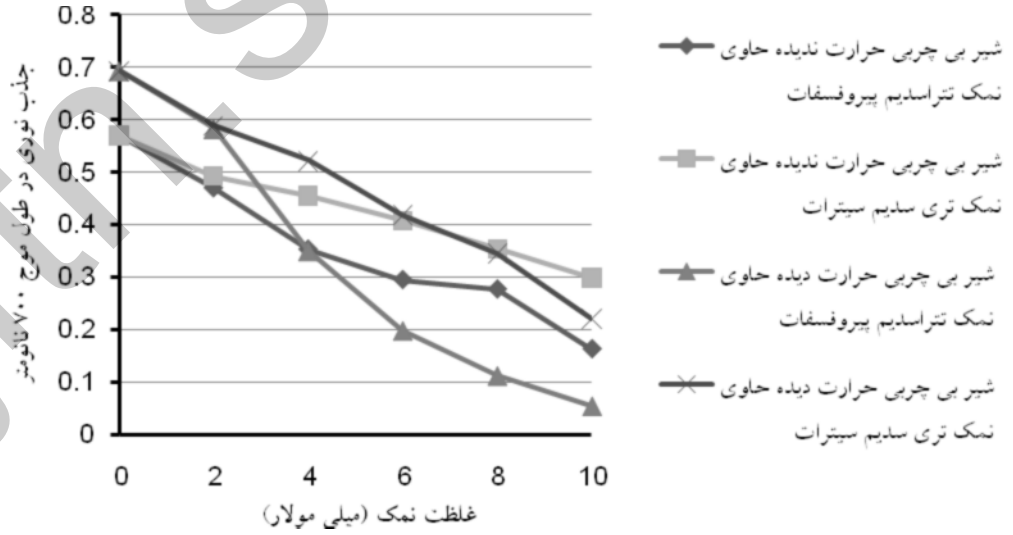
در نمودار ۱ روند تغییر pH در نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات نشان داده شده است. همانطور که در نمودار مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت این نمک‌ها pH در نمونه‌های حرارت ندیده و حرارت دیده به صورت معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) افزایش پیدا کرده است.

همانطور که در نمودار پایین مشاهده می‌گردد، روند تغییرات pH در نمونه‌های حرارت ندیده حاوی غلظت های بیش از ۴ میلی مولار نمک تترا سدیم پیروفسفات بسیار چشمگیرتر از نمونه‌های مشابه تری سدیم سیترات می‌باشد. در نمونه‌هایی که تحت تیمار حرارتی قرار گرفته‌اند نیز روند تغییرات pH در نمونه‌های نمک تترا سدیم پیروفسفات بیشتر از نمونه‌های مشابه تری سدیم سیترات می‌باشد ($p < ۰/۰۵$).

همچنین با توجه به آنالیزهای صورت گرفته بین نمونه‌های حرارت دیده و نمونه‌هایی که بدون فرآیند حرارتی با نمک‌های تترا سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات تیماردهی شده‌اند تفاوت معنی داری در میزان pH مشاهده می‌شود ($p < ۰/۰۵$)، بطوریکه در نمونه‌های که تحت تیمار حرارتی قرارگرفته‌اند نسبت به نمونه‌های حرارت ندیده، pH میزان کمتری بوده است.



نمودار ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات برpH شیر بی چربی حرارت ندیده و حرارت دیده



نمودار ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر کدورت نمونه‌های شیر بی چربی حرارت ندیده و حرارت دیده

jftn.srbiau.ac.ir

- تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری‌سدیم سیترات بر کدورت نمونه‌های شیر بی‌چربی حرارت ندیده و حرارت دیده

نمودار ۲ روند تغییرات میزان کدورت نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف نمک‌های تترا سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات را نشان می‌دهد. همانطور که در نمودار مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت این نمک‌ها کدورت در نمونه‌های حرارت ندیده و حرارت دیده به صورت معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) کاهش پیدا کرده است.

با توجه به این نمودار، نمک تتراسدیم پیروفسفات تاثیر بیشتری در کاهش کدورت هم در نمونه‌های معمولی و هم در نمونه‌های حرارت دیده داشته است، بطوریکه تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های حرارت دیده و حرارت ندیده مشاهده می‌شود ($p < ۰/۰۵$)، و این روند کاهشی در نمونه های حرارت دیده شدیدتر می باشد.

- تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری‌سدیم سیترات بر هدایت الکتریکی شیر بی چربی

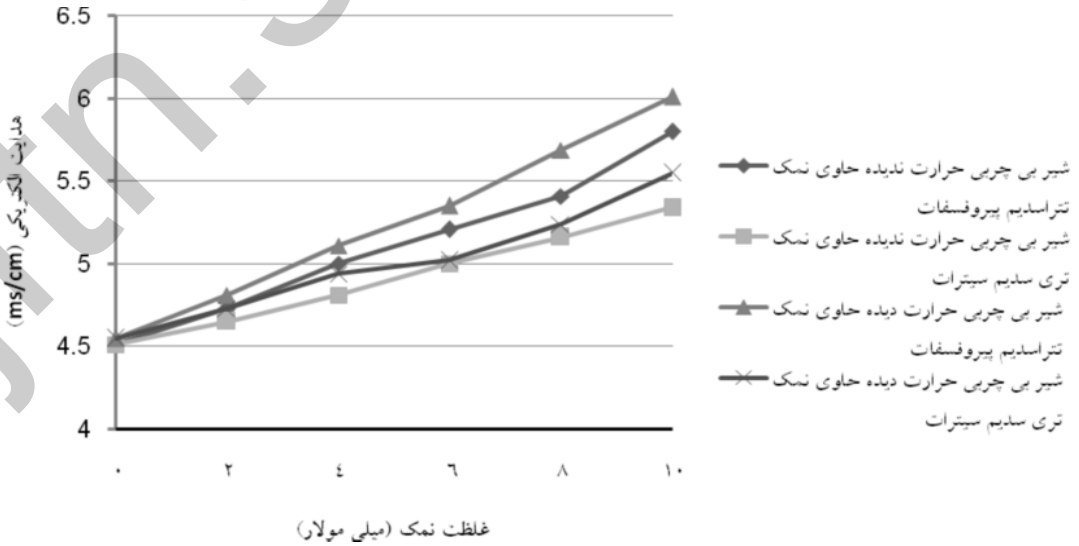
نمودار ۳، تغییرات هدایت الکتریکی در نمونه‌ها با افزایش غلظت نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات را نشان می‌دهد.

بطور کلی نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات سبب افزایش معنی‌داری در میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها شدند($p < ۰/۰۵$). البته در نمونه‌های حاوی نمک تترا سدیم پیروفسفات تفاوت معنی‌داری بین نمونه ۲ میلی مولار این نمک با شاهد و همچنین بین غلظت ۲ و ۴ این نمک مشاهده نشد ($p \geq ۰/۰۵$). همچنین تنها در غلظت ۱۰ میلی مولار از این نمک‌ها تفاوت معنی داری در میزان هدایت الکتریکی، بین نمونه‌های حاوی نمک تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات مشاهده شد.

- تاثیر فرآیند حرارتی و غلظت‌های مختلف نمک‌های سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر زمان تشکیل لخته توسط آنزیم مایه پنیر

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، افزودن این نمک‌ها سبب ایجاد تغییراتی در زمان تشکیل لخته توسط آنزیم مایه پنیر گردیده‌اند.

در ابتدا، در غلظت ۲ میلی مولار، با افزودن نمک تترا سدیم پیروفسفات حتی پس از ۴ ساعت لخته‌ای تشکیل نگردید، اما با افزایش غلظت نمک به ۴ میلی مولار پس از گذشت ۲ ساعت لخته تشکیل شد. زمان تشکیل لخته با افزایش غلظت نمک به ۶ و ۸ میلی مولار همانطور که در جدول دیده می‌شود، کاهش پیدا کرد ، اما با افزایش غلظت نمک به ۱۰ میلی مولار هیچ لخته‌ای پس از گذشت ۴ ساعت تشکیل نشد. در اینجا، اشاره به این نکته ضروری است که در نمونه‌های حاوی ۴، ۶ و ۸ میلی مولار تتراسدیم پیروفسفات که به آن‌ها نمک تتراسدیم پیروفسفات اضافه نشد، در این دما و بازه زمانی ژلی تشکیل نشد.

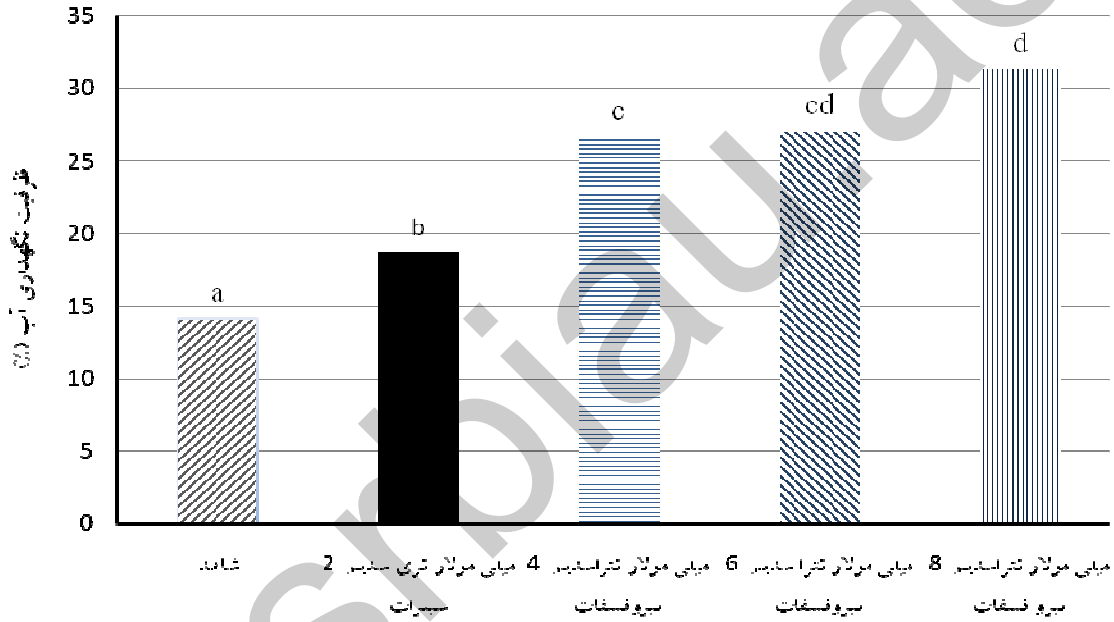


نمودار ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر هدایت الکتریکی شیر بی چربی

jftn.srbiau.ac.ir

جدول ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر زمان تشکیل ژل آنزیمی کازئین

	زمان تشکیل لخته (دقیقه)					
	حرارت ندیده			حرارت دیده		
نوع نمک/ غلظت نمک (میلی مولار)	شاهد	تترا سدیم پیروفسفات	تری سدیم سیترات	شاهد	تترا سدیم پیروفسفات	تری سدیم سیترات
شاهد	۴۵	–	–	۷۰	–	–
۲	–	۲۴۰>	۱۲۰	–	۲۴۰>	۲۴۰>
۴	–	۱۲۰	۲۴۰	–	۲۴۰>	۲۴۰>
۶	–	۹۰	۲۴۰>	–	۲۴۰>	۲۴۰>
۸	–	۹۰	۲۴۰>	–	۲۴۰>	۲۴۰>
۱۰	–	۲۴۰>	۲۴۰>	–	۲۴۰>	۲۴۰>



نمودار٤- تاثیر نمک‌های تترا سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر ظرفیت نگهداری آب ژل‌های آنزیمی شیر حرارت ندیده

نمک تری سدیم سیترات نیز سبب به تاخیر انداختن زمان تشکیل لخته شد بطوریکه در غلظت ۴ میلی مولار این نمک انعقاد بطور کامل در شیر صورت نگرفت و لخته بدست آمده نیز بسیار نرم و از نظر بافتی نامناسب بود و با افزایش غلظت این نمک به ۶ میلی مولار پس از گذشت ۴ ساعت دیگر لخته‌ای تشکیل نگردید.

در نمونه‌هایی که تحت فرآیند حرارتی قرار گرفته بودند نیز فقط در نمونه شاهد لخته تشکیل گردید اگرچه لخته حاصل از نظر بافت مناسب نبود. در نمونه‌های حاوی غلظت‌های ۲ میلی مولار تری سدیم سیترات و۲ و ۴ مولار تتراسدیم پیروفسفات هم فقط یک حالت دلمه کوچک در وسط ظرف تشکیل گردید.

- تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر ظرفیت نگهداری آب ژل آنزیمی کازئین

نمودار ۴ تغییرات میانگین ظرفیت نگهداری آب ژل‌های آنزیمی کازئین را در نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف نمک‌های تری سدیم سیترات و تتراسدیم پیروفسفات که امکان تشکیل لخته وجود داشت را نشان می‌دهد.

ifn.srbiau.ac.ir

همان گونه که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود، افزودن هر دو نمک سبب افزایش ظرفیت نگهداری آب نمونه‌های لخته تشکیل شده با رنت شده است و بالاترین میزان ظرفیت نگهداری آب مربوط به نمونه حاوی غلظت‌های ۶ و ۸ میلی مولار نمک تتراسدیم پیروفسفات و پایین‌ترین ظرفیت نگهداری آب مربوط به نمونه شاهد (فاقد نمک) می‌باشد. بین ظرفیت نگهداری آب تمامی نمونه‌ها با شاهد تفاوت معنی داری مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$)، در حالیکه بین نمونه‌های حاوی ۴ و۶ میلی مولار تتراسدیم پیروفسفات و همچنین ۶ و ۸ میلی مولار تتراسدیم پیروفسفات تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p \geq ۰/۰۵$).

بحث

افزایش غلظت نمک های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات سبب تغییر قدرت یونی محیط و تعادل یون‌ها می شود بطوریکه pH محیط افزایش یافته است. همچنین pH در نمونه فاقد نمک که تحت تیمار حرارتی قرار گرفته است نسبت به نمونه مشابه حرارت ندیده عدد کمتری را نشان می‌دهد. دلیل این امر می تواند خروج دی اکسیدکربن از شیر، کاهش میزان فسفات کلسیم کلوئیدی و افزایش کلسیم یونیزه در محیط، تجزیه نسبی لاکتوز به اسیدهای آلی و همچنین شکستن فسفولیپیدها و افزایش فسفات های غیرآلی در محیط در اثر فرآیند حرارتی اعمال شده باشد (Walstra *et al*., 2006).

در نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف نمک تری سدیم سیترات و تترا سدیم پیروفسفات، به نظر می رسد که این نمک‌ها به عنوان عامل چنگالی کننده سبب جدا شدن کلسیم کلوئیدی از ساختار میسل گردیده و همانطور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت این نمک‌ها، کدورت در نمونه‌ها کاهش یافته است؛ بطوریکه در غلظت‌های بالای این نمک ها (۶ تا ۱۰ میلی مولار تتراسدیم پیروفسفات و ۸ تا ۱۰ تری سدیم سیترات) شاهد بوجود آمدن رنگ سبز در نمونه‌ها بودیم، که این پدیده خود بیانگر از هم پاشیدن ساختمان میسلی می‌باشد. این نتایج با یافته‌های محققین پیشین که اعلام کرده‌اند اضافه کردن عوامل چنگالی کننده به شیر سبب پراکنده شدن میسل های کازئین از طریق کاهش میزان کلسیم یونیزه و بویژه فسفات کلسیم کلوئیدی می‌شود، مطابقت دارد(Munyua *& Larsson-Raznikiewicz*, 1980; Visser *et al*., 1986; Udabage *et al*., 2000). در ضمن، این تغییر بیانگر این مطلب نیز می‌تواند باشد که احتمالا با افزایش غلظت این دو نمک در محیط، میزان بیشتری از کلسیم از ساختار میسل خارج گردیده و خارج شدن کلسیم و در معرض قرار گرفتن گروه‌های فسفوسرین، سبب افزایش دافعه الکترواستاتیکی بین کازئین‌ها شده و بروز این تغییرات مانع نزدیک شدن کازئین‌ها و کاهش کدورت در نمونه‌ها گردیده است (Lucey, 1995).

روند تغییرات در کدورت نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف نمک تترا سدیم پیروفسفات چشمگیرتر بوده است که این امر به دلیل قدرت بیشتر نمک‌های پیرو فسفات نسبت به نمک‌های سیترات در تشکیل کمپلکس با کلسیم و جدا کردن آن از ساختار میسل می باشد (Van Wazer *& Cali*, 1958).

همان گونه که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، کدورت در نمونه حرارت دیده فاقد نمک بیشتر از نمونه حرارت ندیده دارای نمک می باشد، اما با افزایش غلظت نمک‌ها به خصوص نمک تتراسدیم پیروفسفات، کدورت نمونه‌ها به شدت کاهش یافته است بطوریکه در نمونه‌های حرارت دیده، کدورت کمتر از نمونه‌های مشابه حرارت ندیده می‌باشد. اعمال فرآیند حرارتی (۸۵°C به مدت ۳۰ دقیقه) سبب تشکیل کمپلکس کاپا کازئین و بتا لاکتوگلوبولین بر سطح میسل می‌گردد (Walstra *et al*., 2006)؛ که احتمالابه همین دلیل در ابتدا با اعمال فرآیند حرارتی شاهد افزایش کدورت در نمونه‌ها بودیم چرا که تشکیل این کمپلکس سبب بزرگ شدن اندازه ذرات می‌گردد. همچنین، افزایش pH در نمونه‌هایی که تحت فرآیند حرارتی قرار گرفته بودند، سبب جدا شدن کملکس کاپا کازئین – β لاکتوگلوبولین از سطح میسل می‌گردد این پدیده سبب کاهش اندازه ذرات در نمونه‌های حرارت دیده می‌شود (Anema *et al*., 2007). افزودن نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری‌سدیم سیترات سبب افزایش pH نمونه‌ها و همچنین جدا شدن کلسیم از ساختار میسل می‌گردد؛ این دو پدیده با هم سبب کاهش بیشتر کدورت در نمونه‌های حرارت دیده حاوی غلظت‌های مختلف این نمک‌ها در مقایسه با نمونه‌های مشابه حرارت ندیده می‌گردد.

jfn.srbiau.ac.ir

هدایت الکتریکی شیر به میزان زیادی بستگی به حضور یون‌های سدیم و کلر در محیط دارد (Hui, 1993; Walstra & Lucey, 2006). به همین دلیل، افزودن نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات به نمونه‌ها سبب افزایش هدایت الکتریکی در نمونه‌ها شده است. این دو نمک مانند عوامل چنگالی کننده سبب جدا شدن کلسیم از ساختار میسل می‌شوند، با جدا کردن کلسیم، این عوامل یون سدیم موجود در ساختار خود را در محیط آزاد می‌کنند که در نتیجه هدایت الکتریکی محیط افزایش می‌یابد.

تشکیل ژل توسط پروتئین‌ها از طریق ایجاد تعادل بین نیروهای جاذبه و دافعه انجام می‌گیرد. نیروهای مختلفی در پایداری میسل کازئینی نقش دارند. نیروهای جاذب شامل پیوندهای هیدروژنی، پیوندهای عرضی کلسیم فسفات، و برهم کنش‌های الکتریکی هستند، در حالیکه نیروهای دافعه شامل دافعه الکترواستاتیکی می‌باشند که تحت تاثیر بار سطح کازئین و قدرت یونی محیط قرار می‌گیرند (Mizuno & Lucey, 2007). در نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف نمک تری سدیم سیترات، این نمک به عنوان عامل چنگالی کننده سبب جدا شدن کلسیم کلوئیدی از ساختار میسل گردید که این تغییر احتمالا بیانگر این مطلب می‌باشد که با افزایش غلظت تری سدیم سیترات در محیط، میزان بیشتری از کلسیم از ساختار میسل خارج و دافعه الکترواستاتیکی بین میسل‌ها افزایش می‌یابد (Lucey, 1995) ،که مانع نزدیک شدن میسل‌ها و در نتیجه سبب اختلال در متجمع شدن میسل‌ها می‌گردند. احتمالا به همین دلیل در نمونه‌هایی که حاوی بیش از ۴ میلی مولار نمک تری سدیم سیترات بودند حتی بعد از ۴ ساعت هیچ لخته‌ای مشاهده نگردید.

در نمونه حاوی ۲ میلی مولار از نمک پس از گذشت ۴ ساعت هیچ لخته‌ای مشاهده نگردید، اما با افزایش غلظت نمک به ۶ میلی مولار در مدت زمان کمتری شاهد تشکیل لخته بودیم و با افزایش غلظت به ۱۰ میلی مولار، دوباره سرعت تشکیل لخته به طور چشمگیری کاهش پیدا کرد. دلیل این امر را می‌توان این طور توضیح داد که چون نمک تترا سدیم پیرو فسفات نسبت به تری سدیم سیترات از قدرت بیشتری برای تشکیل کمپلکس با کلسیم بر خوردار است، بنابراین در غلظت ۲ میلی مولار از این نمک، کلسیم بیشتری از ساختار خارج گردیده است، بنابراین تشکیل لخته با سرعت بسیار کمی صورت می‌گیرد. با افزایش غلظت نمک به ۴ میلی مولار، شاهد افزایش سرعت تشکیل لخته بودیم که دلیل این پدیده را نیز می‌توان به تشکیل پیوند کمپلکس‌های کلسیم پیروفسفات با کازئین‌های پراکنده شده نسبت داد. این امر سبب کاهش دافعه الکترو استاتیکی و نزدیک شدن میسل‌ها به یکدیگر و برقراری پیوند عرضی کلسیم فسفات از یک سو، و تسهیل برقراری پیوندهای هیدروفوبی بین قسمت های هیدروفوب کازئین می‌گردد (Mizuno & Lucey, 2007). با افزایش غلظت تترا سدیم پیروفسفات به ۱۰ میلی مولار، دافعه الکترواستاتیکی ایجاد شده توسط گروه های فسفوسرین به اندازه ای زیاد است که مانع تشکیل پیوند عرضی کلسیم فسفات می‌گردد، در نتیجه سبب کاهش دوباره سرعت تشکیل لخته در نمونه‌ها می‌شود.

همچنین در نمونه‌هایی که تحت فرآیند حرارتی قرار گرفته اند، شاهد تاخیر در زمان تشکیل لخته آنزیمی بودیم، همان گونه که در منابع مختلف اشاره شده است، فرآیند حرارتی سبب به تاخیر انداختن زمان تشکیل لخته بوسیله رنت می‌گردد که گروهی از محققین برهمکنش بین پروتئین‌های سرمی دناتوره شده با کاپا کازئین را دلیل ممانعت فعالیت کیموزین بر کاپا کازئین و در نتیجه افزایش زمان تشکیل لخته می‌دانند. (Dalgeleish, 1992; Walstra & Jamess, 1984) در حالیکه گروهی دیگر کاهش فعالیت یون کلسیم و حضور پروتئین‌های سرمی دناتوره شده را که سبب ایجاد ممانعت فضایی و جلوگیری از متجمع شدن کازئین‌ها می‌شوند را دلیل اصلی افزایش زمان تشکیل لخته در اثر فرآیند حرارتی می‌دانند (Marshall, 1986; Schreiber, 2001).

نمک های تترا سدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات سبب افزایش ظرفیت نگهداری آب نمونه‌ها شدند، دلیل این امر را می توان به خاصیت آبگرایی گروه‌های سیترات و فسفات نسبت داد. به دلیل آبدوست بودن نمک‌های فسفات و سیترات، با افزودن آن‌ها به شیر و تشکیل ژل آنزیمی کازئین، ظرفیت نگهداری آب ژل‌های حاصله نیز بواسطه حضور گروه‌های آبدوست این نمک‌ها افزایش پیدا می‌کند. از سوی دیگر، با افزایش قدرت یونی محیط اندازه منافذ ژل‌ها کوچکتر می‌شود که این امر نیز سبب افزایش ظرفیت

ifstn.srbiau.ac.ir

نگهداری آب در ژل‌ها می‌گردد (Lucey, 1995; Auty *et al.*, 2005). همچنین با افزودن نمک تترا سدیم پیروفسفات در غلظت های ۶ و ۸ میلی مولار نوعی پیوند جدید بدلیل ایجاد کمپلکس کلسیم‌پیروفسفات ایجاد می‌شود (Mizuno & Lucey, 2007)، که به شکل‌گیری یک شبکه ژلی جدید بین مولکول‌های کازئین و انحصار بیشتر آب درون ژل کمک می کند.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش تاثیر متغیرهای مختلف مانند فرآیند حرارتی، غلظت‌های مختلف نمک‌های تتراسدیم پیروفسفات و تری سدیم سیترات بر شیر بدون چربی و ژل آنزیمی کازئین مورد بررسی قرار گرفت. تاثیر افزایش غلظت نمک تتراسدیم پیروفسفات بر مقدار pH نمونه‌ها به مراتب از نمک تری سدیم سیترات بیشتر بود؛ در ضمن، حرارت دهی نمونه‌ها موجب کاهش اولیه pH و افزایش قابل توجه در میزان کدورت گردید. شدت افزایش کدورت در نمونه‌های حاوی تتراسدیم پیروفسفات بیشتر از نمونه‌های حاوی تری سدیم سیترات و در نمونه‌های حرارت دیده شدت کاهش کدورت بیش از نمونه‌های حرارت ندیده بود. همچنین، تاثیر افزایش غلظت تتراسدیم پیروفسفات بر میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها به مراتب بیش از تری سدیم سیترات بود، در حالیکه این ویژگی در نمونه‌های فاقد نمک تحت تاثیر عملیات حرارتی قرار نگرفت. عملیات حرارتی بطور مشخصی زمان تشکیل لخته آنزیمی را افزایش داد و در بسیاری موارد در حضور نمک‌های امولسیون کننده عملاً لخته‌ای تشکیل نشد. در نمونه‌های حرارت ندیده نیز افزایش غلظت تری سدیم سیترات بر زمان تشکیل لخته روند افزاینده داشت، در حالیکه نمک تتراسدیم پیروفسفات تغییرات متفاوتی را موجب شد. بطور مثال غلظت ۲ میلی مولار این نمک زمان تشکیل لخته را حدود ۶ برابر نسبت به نمونه شاهد افزایش داد در حالیکه با افزایش غلظت نمک به ۴ میلی مولار این زمان نسبت به غلظت ۲ میلی مولار نصف شد و در غلظت‌های ۶ و ۸ میلی مولار به ۹۰ دقیقه کاهش یافت، در غلظت ۱۰ میلی مولار این نمک نیز ژل تشکیل نشد. همچنین در مورد ظرفیت نگهداری آب ژل‌های تشکیل شده مشاهده گردید که این نمک‌ها تاثیر زیادی در افزایش میزان این ویژگی داشتند؛ بطوریکه در غلظت ۸ میلی مولار تتراسدیم پیروفسفات، ظرفیت نگهداری آب ژل آنزیمی شیر حرارت ندیده به ۲ برابر افزایش یافت. بنابراین،به نظر می رسد که با غلظت هایی از نمک های تری سدیم سیترات و تترا سدیم پیروفسفات می توان زمان تشکیل ژل را با آنزیم رنت در نمونه های شیر حرارت ندیده تا حدودی تحت تاثیر قرار داده و کنترل نمود؛ شاید بتوان از این طریق روند تشکیل ژل را به منظور تولید تجمعات پروتئینی تحت کنترل درآورد. همچنین بررسی بیشتر ساختار میکروسکوپی و اندازه ذرات ژل‌های تشکیل شده حاوی نمک تترا سدیم پیروفسفات می‌تواند در شناسایی ساختارهای جدیدی که بتوان از آن‌ها برای بهبود خصوصیات بسیاری از محصولات شیری استفاده کرد، کمک کند.

منابع

Anema, S. H., Lee, S. K. & Klostermeyer, H. (2007). Effect of pH at heat treatment on the hydrolysis of κ-casein and the gelation of skim milk by chymosin. LWT, 40: 99-106.

Auty, M. A. E., O'Kenedy, B. T., Allen-Woijtas, P. & Mulvihill, D. M. (2005). The application of microscopy and rheology to study the effect of milk salt concentration on the structure of acidified micellar casein systems. Food Hydrocolloids, 19: 101-109.

Dalgleish, D. G. (1979). Proteolysis and aggregation of casein miselles treated with immobilized or soluble chymosin. J. Dairy Res, 46: 653-661.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2000). Fundamentals of Cheese Science. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, MD.

Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M. C. & Guinee, T. P. (2004). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier Ltd.

Hui, Y. H. (1993). Dairy Science and Technology Handbook. Wiley-VCH, Inc.

Lucey, J. A. & Horne, D. S. (2009). Milk Salts: Technological Significance in P. F. Fox and P. L. H. Mcsweeney (ed). Advanced Dairy Chemistry. vol. 3: Lactose, Water, Salts and Minor constituents. Springer Science and Business Media , LLc.

ifrsriau.ac.ir

Li, J. & Dalgleish, D. G. (2006). Controlled proteolysis and the propertoes of milk gels. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 54: 4687-4695.

Marshall, R. J. (1986). Increasing cheese yields by high treatment milk. Journal of Dairy Research, 53: 513-522.

Mizuno, R. & Lucey, J. A. (2005). Effects of Emulsifying Salts on the Turbidity and Calcium-Phosphate-Protein Interactions in Casein Micelles. J. Dairy Sci, 88:3070-3078.

Mizuno, R. & Lucey, J. A. (2007). Properties of Milk Protein Gels Formed by Phosphates. J. Dairy Sci, 90: 4524-4531.

Morr. C. V. (1967). Some Effects of pyrophosphate and citrate ions upon the colloidal caseinate-phosphate micelles and ultrafiltrate of raw and heated skim milk. Journal of Dairy science, 50: 1038-1044.

Munyua, J. K. & Larsson-Raznikiewicz, M. (1980). The influence of Ca2+ on the size and light scattering properties of caSsein micelles. 1. Ca2+ removal. Milchwissenschaft, 55: 604-606.

Ozcan-Yilsay, T., Lee, W-J., Horne, D. S. & Lucey, J. A. (2007). Effect of Trisodium Citrate on Rheological and Physical Properties and Microstructure of Yogurt. J. Dairy Sci, 90:1644-1652.

Ozcan-Yilsay, T., Lucey, J. A. & Horne, D. S. (2008). Effect of Tetrasodium Pyrophosphate on the Physicochemical Properties of Yoghurt Gels. J. Dairy Sci, 91:4482-4500.

Payens, T. A. J. (1976). On the enzyme-triggered clotting of casein: a preliminary account. Neth. Milk Dairy J, 30: 55-59.

Reddy, I. M. & Kinsella, J. E. (1990). Interaction of β-lactoglobulin with κ-casein in micelles as assessed by chymosin hydrolysis: effect of temperature, heating time, of β-lactoglobulin concentration, and pH. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 38: 50-58.

Rollema, H. S. (1992). Casein Association and Micelle Formation in P. F. Fox. Advanced Dairy Chemistry. Vol. 1. Elsevier Ltd.

Schreiber, R. (2001). Heat-induced modifications in casein dispersions affecting their rennetability. International Dairy Journal, 11: 553–558.

Shalabi, S. I. & Fox, P. F. (1982). Influence of pH on the rennet coagulation of milk. J. Dairy Res, 49: 153–157.

Udabage, P., McKinnon, I. R. & Augustin, M. A. (2000). Mineral and casein equilibria in milk: effect of added salts and calcium-chelating agents. J. Dairy Res, 67: 361-370.

Udabage, P., McKinnon, I. R. & Augustin, M. A. (2001). Effect of Mineral Salts and Calcium Chelating Agents on the Gelation of Rennet Skim milk. J. Dairy Sci, 84:1569-1575.

Van Wazer, J. R. & Callis, C. F. (1958). Metal complexing by phosphates. Chem. Rev, 58: 1011–1046.

Vasbinder, A. J., Rollema, H. S. & de Kruif, C, G. (2003). Impaired rennetability of heated milk; study of enzymatic hydrolysis and gelation kinetics. Journal of Dairy Science, 86: 1548–1555.

Visser, J., Minihan, A., Smits, P., Tyan, S. B. & Heertje, I. (1986). Effect of pH and temperature on the milk salt system. Neth. Milk Dairy J, 40: 351-368.

Walstra, P. & Jenness, R. (1984). Casein micelles in Dairy chemistry and Physics. New York: John.

Walstra, P. (1999). Casein sub micelles: do they exist? International Dairy Journal, 9: 189-192.

Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006). Dairy Science and Technology. Taylor & Francis Group, LLC.

Wong, N. P. (1988). Fundamental of Dairy Chemistry, 3rd ed. Van Nostrand Reinhold, New York.

Yland, G. (2003). Dairy processing handbook. Tetra Pak Processing System AB. 2nd Edition.

jftn.srbiau.ac.ir