

تعیین شرایط بهینه فعالیت لخته‌کنندگی مایه پنیر قارچی به روش سطح پاسخ

حامد حسن زاده اوچتپه^۱، محمد علیزاده خالد آباد*^۲ و محمود رضازاد باری^۲

تاریخ دریافت: ۹۰/۱/۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲۶

^۱ کارشناس ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه ارومیه

^۲ استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه ارومیه

* مسئول مکاتبه: Email: m.alizadeh@urmia.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، اثر برخی فاکتورهای موثر بر انعقاد آنزیمی روی پارامترهای سینتیکی انعقاد شیر بررسی شده است. پارامترهای سینتیکی شامل فاز تاخیری، سرعت انعقاد و مدت زمانی که لازم است تا سرعت انعقاد به حداکثر برسد، به عنوان تابعی از میزان رنت مصرفی (۰/۰۱-۰/۰۳ گرم بر کیلو گرم)، پودر آب پنیر (۲/۸-۰/۷ درصد) و دمای لحظه افزودن رنت (۲۵-۴۵ °C) با کاربرد روش سطح پاسخ مدل‌سازی شدند. نتایج حاصله از آنالیز واریانس نشان داد که افزایش میزان رنت مصرفی و همچنین بالا بردن دمای افزودن رنت، سرعت انعقاد را افزایش داده اما فاز تاخیری و زمان لازم برای به حداکثر رسیدن سرعت انعقاد را کاهش می‌دهد در حالی که بالا بردن مقدار پودر آب پنیر نتایج عکسی را نشان می‌دهد. میزان رنت (۰/۰۲۵۰ گرم بر کیلو گرم)، پودر آب پنیر (۰/۹۳ درصد) و دمای افزودن رنت (۴۴/۹ °C)، نتایج بهینه پیشنهاد شده برای کمترین فاز تاخیری (۱/۰۰۹ دقیقه)، کمترین زمان برای رسیدن به ماکزیمم سرعت (۱/۷۹ دقیقه) و بیشترین سرعت انعقاد (۰/۰۰۹۲ بر دقیقه) هستند.

واژه‌های کلیدی: انعقاد، سینتیک، رنت، پودر آب پنیر، دما

Determination of the optimal conditions of fungal rennet clotting activity by response surface methodology

H Hassanzadeh Ochtapp¹, M Alizadeh Khaledabad^{2*} and M Rezazadbari²

Received: March 26, 2011

Accepted: May 15, 2012

1MSc, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

²Assistant Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding author: Email: m.alizadeh@urmia.ac.ir

Abstract

In this research, the effect of variable cheese making factors on rennet coagulation kinetic was studied. Three coagulation parameters—lag time, coagulation rate and inflexion time (time for reaching the point of maximum coagulation rate) were evaluated as a function rennet content (0.01–0.03 g/kg), whey protein powder (0.7–2.8 %) and renneting temperature (25–45 °C) using a response surface methodology. Data analysis showed that with a decrease in whey protein concentration or with an increase in rennet content and renneting temperature, coagulation rate increased while the lag time and time at inflection point decreased. The optimum conditions of milk coagulation were: rennet content, 0.025 g/kg of milk; whey protein powder, 0.93%; and renneting temperature, 44.9 °C. Under such conditions, the predicted coagulation rate, lag time and time at inflection point were 0.0092 min⁻¹, 1.009 min and 1.79 min, respectively.

Keywords: Coagulation rate, Whey protein, Rennet, Kinetic, Temperature

مقدمه

یکی از مهمترین مراحل تولید پنیر، انعقاد شیر بوسیله رنت است (بوفا و همکاران ۲۰۰۱). به دلیل اهمیت این مرحله در کیفیت نهایی پنیر، راههای زیادی برای مطالعه و کنترل پدیده ای که در انعقاد شیر روی می دهد در مقیاس آزمایشگاهی و صنعتی ارائه شده است. خواص انعقادی شیر قابلیت پنیرسازی، راندمان پنیرسازی و کیفیت پنیر را تحت تاثیر قرار می دهد (جانسون و همکاران ۲۰۰۱ و هانگ و همکاران ۱۹۸۹). فاکتورهای خارجی مثل فشار و دما می توانند بر روی خواص انعقادی شیر تاثیر گذار باشند (سچرادر و همکاران ۱۹۹۷). انعقاد شیر یک فرآیند پیچیده است که مکانیسم واقعی آن شامل تجمع میسل های کازئین است و نقش دقیق کلسیم بطور کامل مشخص نشده است. انعقاد شیر نه تنها بوسیله کلسیم بلکه بوسیله فسفات، قدرت یونی و دما نیز تحت تاثیر قرار می گیرد

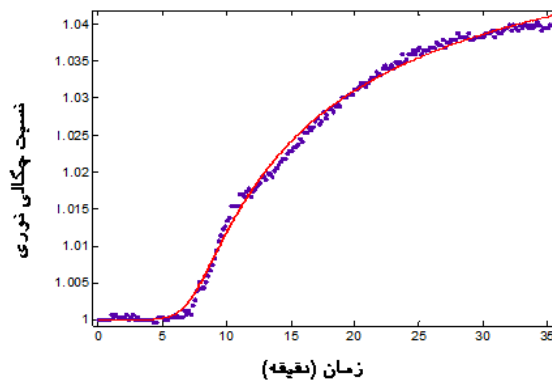
(یاموچی و همکاران ۱۹۷۸). همچنین فاکتورهای زیادی مثل تجمع پروتئین های آب پنیر بر روی میسل های کازئین، سن حیوان، دوره شیردهی و جیره غذایی حیوان می توانند بر روی انعقاد شیر تلقیح شده با رنت اثر گذار باشند (اولدیست و همکاران ۲۰۰۲، گوینه و همکاران ۲۰۰۱، اوسترسن و همکاران ۱۹۹۷ و تیریسوا و همکاران ۲۰۰۴). تغییر در ترکیب شیر از فاکتورهای موثر بر خواص انعقادی است (اولدیست و همکاران ۲۰۰۲، آیکونن و همکاران ۲۰۰۴ و دوهولم و همکاران ۲۰۰۶). آگاهی از تاثیر این فاکتورها بر روی خواص انعقادی شیر به منظور کسب کیفیتی قابل قبول در پنیر ضروری به نظر می رسد. انعقاد و زمان برش نامناسب می تواند منجر به کاهش کیفیت پنیر شود که این حالت به دلیل ورود ذرات دلمه به آب پنیر باعث زیان اقتصادی نیز می شود (اوسترسن و همکاران ۱۹۹۷). تولید کنندگان پنیر می خواهند زمان انعقاد را حداقل کنند

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌های شیر

ابتدا شیر را در دمای 65°C به مدت نیم ساعت پاستوریزه کرده و شیر را تا دمای 32°C خنک کرده و بوسیله حمام آبی دمای شیر ثابت نگه داشته شد. سپس شیر تا شروع هر آزمایش در دمای زیر 10°C نگهداری شد. به هر نمونه شیر (۱۰۰ گرمی) پودر آب پنیر (با درجه خلوص ۸۰ خریداری شده از شرکت کیان مشکات) در پنج سطح (۰/۷، ۱/۲۵، ۱/۷۵، ۲/۳۷ و ۲/۸۰ درصد) اضافه شد. همچنین استارتر (با اسم تجاری CHN22 حاوی باکتری‌های مزوفیل ساخت شرکت کریستین هانسن) و کلرید کلسیم (ساخت شرکت شارلوا از کشور اسپانیا) به ترتیب به میزان ۰/۰۱ و ۰/۲۵ گرم بر کیلو گرم به شیر اضافه شدند. در نهایت پس از حدود نیم ساعت فعالیت باکتری‌های آغازگر، رنت (با اسم تجاری Meito ساخت کشور ژاپن) در پنج سطح مختلف (۰/۰۱، ۰/۰۱۳۳، ۰/۰۲، ۰/۰۲۶ و ۰/۰۳ گرم بر کیلوگرم) در پنج دمای مختلف (۲۵، ۲۹، ۳۵، ۴۱ و ۴۵ درجه سانتیگراد) افزوده شد که ارتباط سطوح مختلف این سه فاکتور با کدهای مربوطه در جدول ۱ دیده می‌شود.

و سرعت انعقاد را حداکثر کنند که هر دو مورد زمان مورد نیاز برای پنیرسازی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. همچنین تمایل دارند که سفتی ژل را نیز حداکثر کنند چون سفتی ژل از خواص ساده انعقاد است که در کیفیت پنیر، بازده پنیر و وضعیت اقتصادی اثر گذار است. ژل سفت بوسیله حفظ بیشتر ترکیبات شیر در دلمه باعث بهبود راندمان می‌شود (کلارک و همکاران ۲۰۰۰). ساندر و همکاران (۲۰۱۱) اثر اولترافیلتراسیون را بر روی خواص انعقادی شیر را به روش اسپکتوسکوپی و استفاده از خصوصیات رئولوژیکی مطالعه کردند و گزارش کردند که این فرآیند اثر معنی داری بر روی زمان انعقاد و آزاد سازی کازئین ماکرو پپتید ندارد. هواگوارد و همکاران (۲۰۱۰) اثر دماهای مختلف پاستوریزاسیون را بر روی انعقاد رنتی، مطالعه کردند و گزارش کردند که با افزایش دمای پاستوریزاسیون، زمان انعقاد افزایش و سفتی دلمه کاهش پیدا می‌کند. همچنین آواد (۲۰۰۸) اثر pH و سدیم کلرید را بر روی انعقاد شیر و سفتی دلمه بررسی کرد و دریافت که شیر نمک زده شده با اسیدیته بالا دلمه بسیار ضعیفی را تولید می‌کند. هدف از انجام این مطالعه شناسایی فاکتورهای اثرگذار بر پارامترهای سینتیکی انعقاد شیر و تعیین میزان بهینه آنها برای کسب بهترین شرایط انعقاد شیر می‌باشد.



شکل ۱- تغییرات نسبت چگالی نوری بر حسب زمان حین انعقاد

جدول ۱- فاکتور های مطالعه شده و سطوح مختلف آنها

متغیر های مستقل	نماد	سطوح				
		۱/۶۸	۱	۰	۱	-۱/۶۸
میزان رنت	X _۱	۳	۲/۶	۲	۱/۴	۱
پودر آب پنیر	X _۲	۲/۸	۲/۳۷	۱/۷۵	۱/۱۲	۰/۷
دمای افزودن رنت	X _۳	۴۵	۴۱	۳۵	۲۹	۲۵

محاسبه پارامتر های سینتیکی انعقاد

بلافاصله بعد از افزودن رنت به نمونه های شیر، پس از هم زدن سریع نمونه حدود ۲ میلی لیتر از شیر تلقیح شده با رنت را در یک سل پلاستیکی ریخته و سریعاً به دستگاه اسپکتروفتومتر (فارماسیا LKB Biochrom Ltd، کمریج CB4 4FJ انگلستان) انتقال داده شد. میزان تغییرات جذب نمونه شیر طی فرآیند انعقاد به فواصل ۱۰ ثانیه ای در طول موج ۷۰۰ نانومتر به مدت حدود نیم ساعت ثبت شدند. نسبت چگالی نوری^۱ (ODR) از خارج قسمت میزان جذب در هر لحظه از فرآیند انعقاد تقسیم بر میانگین هفت عدد جذب اولیه یادداشت شده به دست می آید. در سال ۱۹۹۷ توسط کارون الگویی برای ODR پیشنهاد شده که در رابطه ۱ دیده می شود (ماهون و همکاران ۱۹۸۴، گلایس و همکاران ۱۹۹۳ و پاندی و همکاران ۲۰۰۳).

در این مرحله با فیت کردن داده های آزمایشی با الگوی پیشنهادی کارون با استفاده از نرم افزار MATLAB (ورژن (R2009a) 7.8.0 با مجوز شماره ۱۶۹۰۵۱ ساخت کشور آمریکا) و به روش عددی ضرایب رگرسیونی همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است محاسبه شدند.

در شکل ۱ نمونه ای از داده های فیت شده با الگوی پیشنهادی برای یک آزمایش نشان داده شده است. سپس با جایگذاری ضرایب محاسبه شده در فرمول های مربوط به پارامتر های سینتیکی انعقاد (فاز تاخیری، زمان لازم برای حداکثر شدن سرعت انعقاد و

سرعت انعقاد) که به ترتیب در رابطه های ۲، ۳ و ۴ مشاهده می شوند (پاندی و همکاران ۲۰۰۳)، مقادیر این پارامتر ها نیز تعیین شدند (جدول ۳).

$$ODR = \left[\frac{a-d}{1 + \left(\frac{t}{c}\right)^b} \right]^e + d \quad [1]$$

$$t_{lag} = \left[-1 + \left[\frac{(a-d)}{((a+0.001)-d)} \right]^{(1/e)} \right]^{(1/b)} \cdot c \quad [2]$$

$$t_{max} = \left[\frac{(b-1)}{(e \cdot b + 1)} \right]^{(1/b)} \cdot c \quad [3]$$

$$D_{max} = \frac{(-a+d)}{1 + \left[\left[\frac{(b-1)}{(e \cdot b + 1)} \right]^{(1/b)} \right]^e} \cdot e \cdot \left[\frac{(b-1)}{(e \cdot b + 1)} \right]^{(1/b)} \cdot b \cdot \left[\left[\left[\frac{(b-1)}{(e \cdot b + 1)} \right]^{(1/b)} \right] \cdot \left[c \cdot \left[1 + \left[\frac{(b-1)}{(e \cdot b + 1)} \right]^{(1/b)} \right]^b \right] \right] \quad [4]$$

فاز تاخیری (t_{lag}) عبارت است از مدت زمانی که میزان تغییرات نسبت چگالی نوری کمتر از ۰/۰۰۱ باشد در واقع می توان گفت که فاز تاخیری فاصله زمانی مابین لحظه افزودن رنت به نمونه شیر تا لحظه شروع تجمع می باشد. تجمع زمانی روی می دهد که هیدرولیز کاپا

کاهش می یابد. همچنین اثر دما بر روی سرعت واکنش‌های آنزیمی طبق معادله آرنیوس قابل توجیه است (رابطه شماره ۵). بر اساس این معادله افزایش دما سرعت انعقاد (که در فاز اولیه یک واکنش آنزیمی است) را افزایش می دهد و در نهایت باعث کاهش فاز تاخیری می شود.

$$\ln k = \ln A - \frac{Ea}{RT} \quad [5]$$

K ثابت سرعت واکنش، T دما بر حسب کلوین، Ea انرژی اکتیواسیون، A فاکتور پیش نمایی و R ثابت جهانی گازها می باشد.

همچنین با افزایش میزان پودر آب پنیر از ۰/۷ درصد به ۲/۸ درصد، فاز تاخیری از ۳/۵ دقیقه به ۴/۵ دقیقه افزایش پیدا می کند.

کازئین به مقدار کافی صورت گرفته باشد. t_{max}^3 لحظه ای است که در آن سرعت انعقاد حداکثر است. $a =$ کمترین نسبت چگالی نوری محاسبه شده، $b =$ ضریب رگرسیونی، $c =$ ضریب نقطه عطف، $d =$ حداکثر نسبت چگالی نوری محاسبه شده و $e =$ پارامتر تقارن هستند.

طراحی آزمایشات و آنالیز آماری

در این مطالعه اثر پودر آب پنیر در پنج سطح (۰/۷، ۱/۲۵، ۱/۷۵، ۲/۳۷ و ۲/۸ درصد)، میزان رنت در پنج سطح (۰/۰۱، ۰/۰۱۳۳، ۰/۰۲، ۰/۰۲۶ و ۰/۰۳ گرم بر کیلوگرم) و دمای افزودن رنت در پنج سطح (۲۵، ۲۹، ۳۵، ۴۱ و ۴۵ °C)، با استفاده از طرح مرکب مرکزی مطالعه شده است. طرح مرکب مرکزی ترکیبی از طرح فاکتوریل و یک سری نقاط ستاره‌ای می باشد که به منظور برآورد اثرات کوادراتیک فاکتورها به طرح افزوده می شوند. طراحی آزمون و آنالیز نهایی داده ها با استفاده از نرم افزار (SAS version 9) انجام گردید و در آنالیز واریانس احتمال خطای نوع اول $\alpha = 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

اثر فاکتورهای مطالعه شده بر روی فاز تاخیری نتایج حاصله از آنالیز واریانس انجام شده نشان داد که همه فاکتورهای مطالعه شده به صورت معنی داری بر روی فاز تاخیری اثر گذار بودند (جدول ۴). شکل ۲ نشان می دهد که فاز تاخیری با افزایش میزان رنت و دمای افزودن رنت یا میزان پودر آب پنیر، افزایش پیدا می کند. در کل با افزایش میزان رنت و دمای افزودن رنت به ترتیب از ۰/۰۱ گرم بر کیلوگرم و ۲۵ °C به ۰/۲۶ گرم بر کیلوگرم و دمای ۴۵ °C، فاز تاخیری از ۵ دقیقه به ۳ دقیقه کاهش می یابد. با افزایش میزان رنت، هیدرولیز کاپا کازئین سریعتر انجام گرفته و فاز اولیه (آنزیمی) انعقاد تسریع شده و در نتیجه فاز تاخیری

³ Time at inflection point

جدول ۲- ضرایب به دست آمده از منحنی انعقاد در آزمایشات انجام شده

مدل	ضرایب منحنی انعقاد					سطوح متغیرهای مستقل			شماره آزمایش
	e	d	c	b	a	X_1	X_2	X_3	
R^2									
۰/۹۹۹	۰/۱۱۴۴	۱/۰۵۶	۲/۱۳۵	۴/۰۰۳	۱/۰۰	۱	-۱	۱	۱
۰/۹۹۶	۰/۰۰۰۵	۱/۰۶۱	۴/۴۴۰	۱۱/۵۰	۱/۰۰				۲
۰/۹۹۸	۰/۰۹۳۰	۱/۰۵۵	۶/۵۳۵	۱۰/۱۹	۱/۰۰				۳
۰/۹۹۶	۰/۰۲۰۸	۱/۰۷۹	۵/۳۰۱	۲۰/۰۲	۱/۰۰		۱	۱	۴
۰/۹۹۷	۰/۰۵۹۲	۱/۰۶۰	۷/۳۸۰	۱۱/۱۶	۱/۰۰			-۱	۵
۰/۹۹۷	۰/۰۸۸۲	۱/۰۶۱	۷/۵۳۷	۸/۳۰۱	۱/۰۰		۱	-۱	۶
۰/۹۹۷	۰/۱۳۹۴	۱/۰۴۹	۴/۰۵۹	۷/۶۰۵	۱/۰۰			۱	۷
۰/۹۶۳	۰/۰۶۷۸	۱/۰۵۳	۲/۸۹۰	۱۲/۸۷	۱/۰۰				۸
۰/۹۹۷	۰/۰۲۷۶	۱/۰۹۳	۳/۳۳۹	۸/۲۴۲	۱/۰۰				۹
۰/۹۹۶	۰/۱۵۲۰	۱/۰۴۶	۴/۴۷۴	۶/۶۶۴	۱/۰۰	-۱	-۱	-۱	۱۰
۰/۹۹۵	۰/۲۴۲۰	۱/۰۵۱	۵/۵۵۰	۳/۹۰۶	۱/۰۰			۱/۶۸	۱۱
۰/۹۹۳	۰/۲۱۶۹	۱/۰۵۴	۸/۸۲۶	۵/۲۶۵	۱/۰۰			۱/۶۸	۱۲
۰/۹۹۳	۰/۲۴۹۳	۱/۰۴۸	۶/۲۴۷	۳/۵۱۶	۱/۰۰				۱۳
۰/۹۹۶	۰/۱۵۳۳	۱/۰۵۳	۳/۱۹۸	۴/۸۳۹	۱/۰۰				۱۴
۰/۹۹۵	۰/۱۳۰۱	۱/۰۶۲	۵/۳۳۰	۵/۵۴۲	۱/۰۰	-۱	-۱	۱	۱۵
۰/۹۹۷	۰/۰۹۳۴	۱/۰۶۶	۶/۱۴۷	۷/۰۰۸	۱/۰۰				۱۶
۰/۹۹۴	۰/۰۵۲۱	۱/۲۰۳	۱۰/۱۲	۲/۷۹۹	۱/۰۰	-۱	۱	-۱	۱۷
۰/۹۹۸	۰/۰۸۱۶	۱/۰۵۲	۳/۲۶۶	۱۱/۱۶	۱/۰۰	۱	-۱	-۱	۱۸
۰/۹۹۸	۰/۰۴۴۸	۱/۱۰۴	۴/۷۴۰	۷/۰۱۴	۱/۰۰	۱	۱	۱	۱۹
۰/۹۹۶	۰/۸۳۳۲	۱/۰۵۲	۱۵/۵۸	۳/۵۳۶	۱/۰۰		۱/۶۸		۲۰
۰/۹۹۹	۰/۵۴۴۸	۱/۰۵۸	۸/۷۴۷	۲/۹۱۶	۱/۰۰		۱/۶۸		۲۱
۰/۹۹۷	۰/۸۷۵۵	۱/۰۷۶	۳/۲۳۷	۵/۳۴۸	۱/۰۰			-۱/۶۸	۲۲
۰/۹۹۶	۰/۱۴۹۹	۱/۰۶۶	۴/۱۰۰	۴/۷۷۵	۱/۰۰			۱/۶۸	۲۳
۰/۹۹۶	۰/۱۲۲۹	۱/۰۶۷	۳/۸۷۱	۵/۳۶۳	۱/۰۰				۲۴
						-۱/۶۸			
							۱/۶۸		
						۱/۶۸			
							-۱/۶۸		

a, b, c, d و e به ترتیب حداقل نسبت چگالی نوری، ضریب رگرسیون، ضریب نقطه عطف، نسبت چگالی نوری در بی نهایت و پارامتر تقارن هستند.

جدول ۳- پارامترهای سینتیکی محاسبه شده در آزمایشات انجام شده

شماره آزمایش	سطوح متغیرهای مستقل		
	Y_3	Y_2	Y_1
۱	۱	-۱	۱
۲	۰	۰	۰
۳	-۱	۱	۱
۴	۱	۱	-۱
۵	۰	۰	۰
۶	-۱	-۱	-۱
۷	۰	۰	۱/۶۸
۸	۰	۰	۱/۶۸
۹	۰	۰	۰
۱۰	-۱	-۱	۱
۱۱	۰	۰	۰
۱۲	-۱	۱	-۱
۱۳	۱	-۱	-۱
۱۴	۱	۱	۱
۱۵	۰	۱/۶۸	۰
۱۶	۰	۱/۶۸	۰
۱۷	۰	۰	-۱/۶۸
۱۸	۰	۰	۱/۶۸
۱۹	۰	۰	۰
۲۰	-۱/۶۸	۰	۰
۲۱	۰	۱/۶۸	۰
۲۲	۱/۶۸	۰	۰
۲۳	۰	-۱/۶۸	۰
۲۴	۰	۰	۰

Y_1 ، Y_2 و Y_3 به ترتیب فاز تاخیری، زمان لازم برای رسیدن به ماکزیمم سرعت انعقاد و سرعت انعقاد هستند

و همکاران (۱۹۸۷). حال آنکه کارون و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند میزان بالای پروتئین در شیر باعث طولانی شدن زمان انعقاد و تضعیف خواص انعقادی شیر می شود. همچنین گلیس و همکاران (۲۰۰۴) عنوان کردند افزودن بتا کازئین به شیر باعث تضعیف خواص انعقادی می شود و اشاره کردند که جهت قضاوت قاطعانه در این زمینه و معین کردن ارتباط بین خواص انعقادی شیر و ترکیب شیر مصرفی، انجام تحقیقات بیشتر ضروری به نظر می رسد. شکل ۳ نشان می دهد که با تغییر دما از ۲۵ به ۳۴ °C، سرعت انعقاد تغییرات معنی داری نداشته است. در حالی که با افزایش دما از

اثر فاکتورهای مطالعه شده بر روی سرعت انعقاد نتایج نشان داد که تمامی فاکتورهای مطالعه شده بر روی سرعت انعقاد نیز اثرگذار بودند (جدول ۴). همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است با افزایش پودر آب پنیر از ۱ درصد به ۳ درصد، سرعت انعقاد به میزان کمی کاهش می یابد. در این زمینه محققان دیگری هم مطالعاتی انجام داده و گزارشات مختلفی عنوان کرده اند. عده ای از محققین گزارش کردند که افزایش میزان پروتئین کل (کازئین بعلاوه پروتئین های محلول در آب موجود در شیر) باعث انعقاد سریعتر و سفت شدن دلمه می شود (لوکیسانو و همکاران ۱۹۸۵ و وان

در شکل ۸ و ۹ اثر همزمان دو فاکتور با ثابت نگهداشتن فاکتور سوم بر روی زمان لازم برای حداکثر شدن سرعت انعقاد بصورت نمودارهای کانتورپلات نمایش داده شده است. شکل ۳ (الف) اثر پودر آب پنیر و دمای افزودن رنت (با میزان ثابت ۰/۰۲ گرم بر کیلوگرم) بر روی زمان لازم برای حداکثر شدن انعقاد را نشان می‌دهد. در غلظت‌های پایین پودر آب پنیر با افزایش دما از ۲۵ به ۴۵ °C، زمان لازم برای حداکثر شدن سرعت انعقاد از ۱۰ به ۳ دقیقه کاهش می‌یابد در حالی که در نواحی با میزان بالاتر پودر آب پنیر، میزان تغییرات زمان لازم برای حداکثر شدن سرعت انعقاد کمتر است. کمترین زمان لازم برای حداکثر شدن سرعت انعقاد در میزان پایین پودر آب پنیر و دماهای بالاتر مشاهده شده است (شکل ۸).

۳۴ به ۴۱ °C، سرعت انعقاد به ۰/۰۰۶۳ بر دقیقه افزایش می‌یابد. با افزایش میزان رنت تا ۰/۰۲۵ گرم بر کیلوگرم، سرعت انعقاد افزایش پیدا می‌کند اما در میزان بالاتر رنت سرعت انعقاد روند کاهشی خواهد داشت که نشان می‌دهد که افزایش میزان رنت تا حد مشخصی باعث افزایش سرعت انعقاد شده و بیشتر از آن مقدار تاثیری بر روی سرعت انعقاد ندارد.

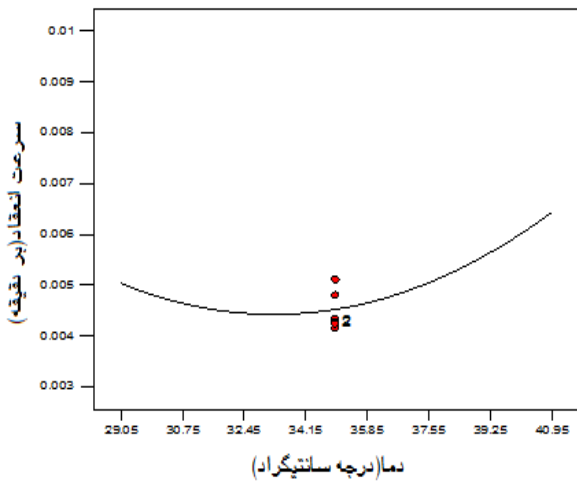
اثر فاکتورهای مطالعه شده بر روی زمان لازم برای رسیدن به ماکزیمم سرعت انعقاد

آنالیز آماری نشان می‌دهد که تمامی فاکتورهای مطالعه شده و همچنین اثرات متقابل آنها (به جز میزان رنت و پودر آب پنیر) بصورت معنی داری بر روی زمان لازم برای رسیدن به ماکزیمم سرعت انعقاد اثرگذار بودند (جدول ۴).

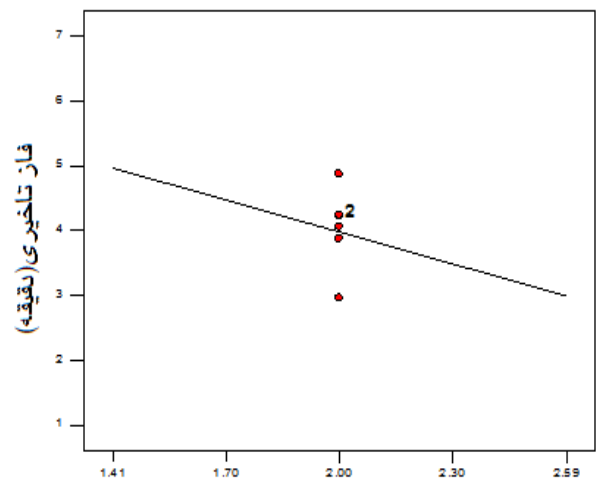
جدول ۴- آنالیز واریانس فاکتورهای مطالعه شده و اثرات متقابل آنها برای پارامترهای سینتیکی مطالعه شده

t _{max}			t _{lag}			Coag.rate			DF	فاکتور ها
MS	SS	p-value	MS	SS	p-value	MS	SS	p-value		
۱/۳۵	۱/۳۵	<۰/۰۰۱**	۱۳/۲۷	۱۳/۲۷	<۰/۰۰۱**	۲/۳×۱۰ ^{-۶}	۲/۳×۱۰ ^{-۶}	۰/۰۰۲۸**	۱	X _۱
۰/۲۷	۰/۲۷	<۰/۰۰۱**	۳/۴۷	۳/۴۷	<۰/۰۰۳**	۱/۱×۱۰ ^{-۶}	۱/۱×۱۰ ^{-۶}	۰/۰۲۲۶*	۱	X _۲
۱/۵۴	۱/۵۴	<۰/۰۰۱**	۱۲/۵۶	۱۲/۵۶	۰/۰۰۱**	۳/۱×۱۰ ^{-۶}	۳/۱×۱۰ ^{-۶}	۰/۰۰۱۱**	۱	X _۳
۰/۰۸۸	۰/۰۸۸	۰/۰۰۶۱**			> ۰/۱ ^{ns}	۲/۴×۱۰ ^{-۶}	۲/۴×۱۰ ^{-۶}	۰/۰۰۲۷**	۱	X _۱ .X _۱
۰/۰۴۹	۰/۰۴۹	۰/۰۲۹۷*			> ۰/۱ ^{ns}			> ۰/۱ ^{ns}	۱	X _۳ .X _۱
۰/۰۷۳	۰/۰۷۳	۰/۰۱۰۶*			> ۰/۱ ^{ns}			> ۰/۱ ^{ns}	۱	X _۳ .X _۳
۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۴۸۲*			> ۰/۱ ^{ns}			<۰/۰۰۱**	۱	X _۳ .X _۳
۰/۰۰۸۰	۰/۱۲		۰/۲۹	۴/۹۲		۱/۷×۱۰ ^{-۷}	۲/۵×۱۰ ^{-۶}		۱۲	Residual
۰/۰۰۶۶	۰/۰۳۳		۰/۳۱	۱/۵۴		۱/۷×۱۰ ^{-۷}	۷/۴×۱۰ ^{-۷}		۵	Pure error

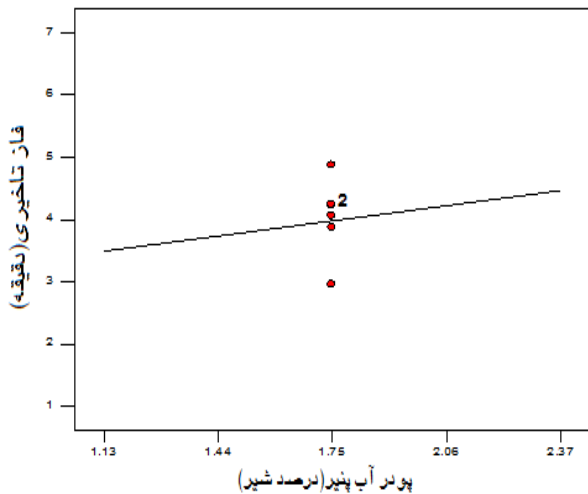
* و ** به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد ns: غیر معنی دار



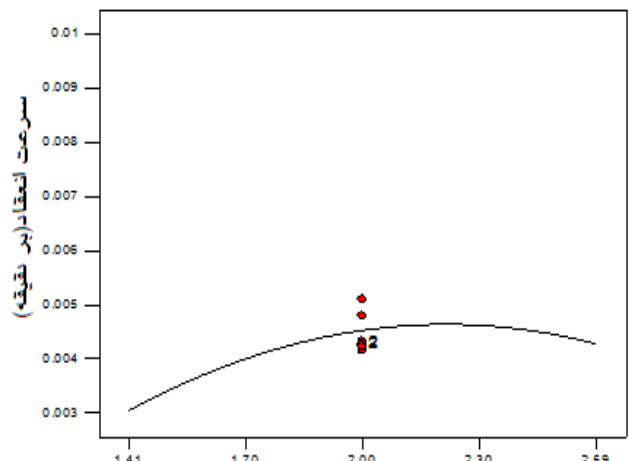
شکل ۵- اثر دمای افزودن رنت بر روی سرعت انعقاد



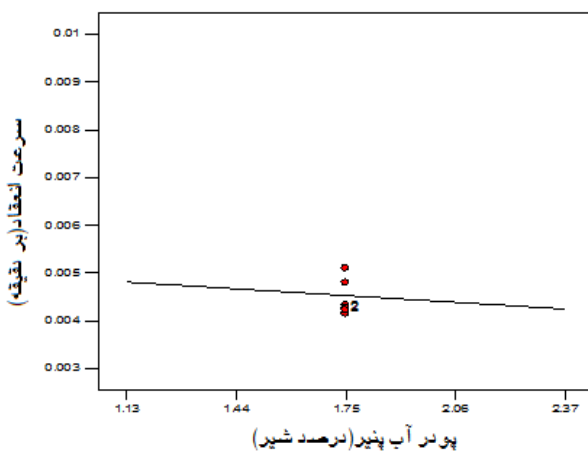
شکل ۲- اثر میزان رنت بر روی فاز تاخیری (گرم بر کیلو گرم)



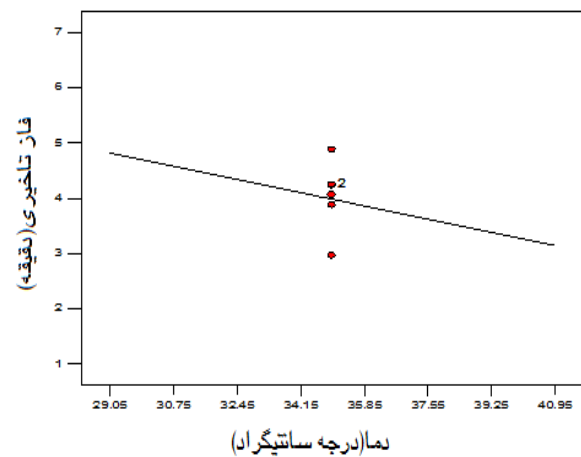
شکل ۶- اثر پودر آب پنیر بر روی فاز تاخیری



شکل ۳- اثر میزان رنت بر روی سرعت انعقاد (گرم بر کیلو گرم)



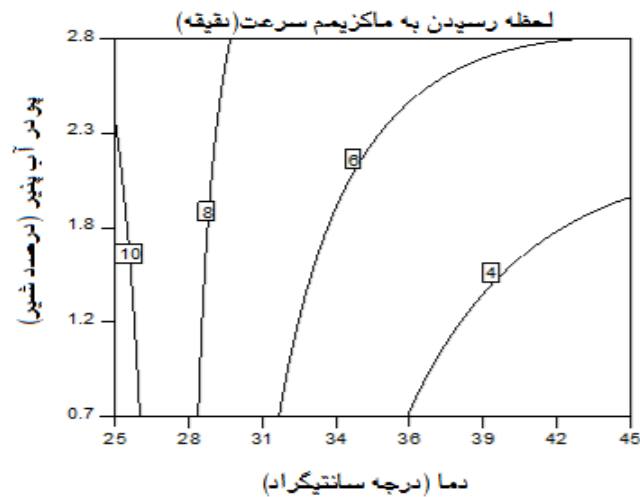
شکل ۷- اثر پودر آب پنیر بر روی سرعت انعقاد



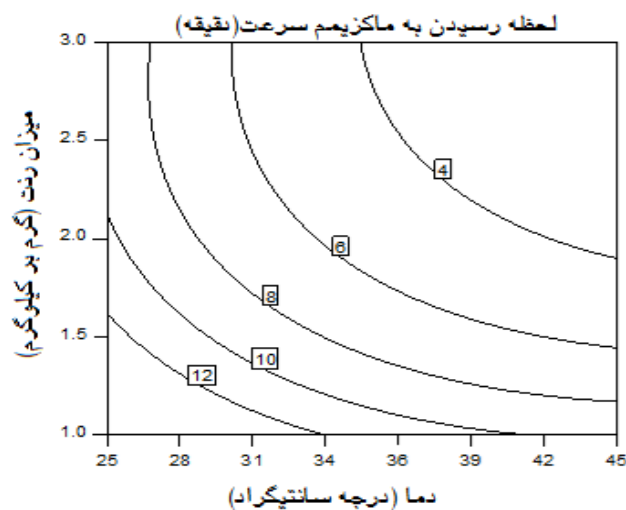
شکل ۴- اثر دمای افزودن رنت بر روی فاز تاخیری (گرم بر کیلو گرم)

۲۵ به 45°C و افزایش میزان رنت از ۰/۱ به ۰/۳ گرم بر کیلوگرم، زمان لازم برای حداکثر شدن سرعت انعقاد از ۱۲ به ۴ دقیقه می‌رسد.

اثر همزمان میزان رنت و دمای افزودن رنت بر روی زمان لازم برای حداکثر شدن سرعت انعقاد در شکل ۹ نشان داده شده است. با افزایش دمای افزودن رنت از



شکل ۸- اثر همزمان دمای افزودن رنت و درصد پودر آب پنیر بر روی لحظه ماکزیمم شدن سرعت انعقاد



شکل ۹- اثر همزمان دمای افزودن رنت و میزان رنت بر روی لحظه ماکزیمم شدن سرعت انعقاد

نظر گرفتن چندین شاخص کیفی باشد، بکار گرفته می‌شود.

بهینه سازی

بر مبنای مدل‌های به دست آمده و بکارگیری روش تابع مطلوبیت شرایط بهینه برای کمینه سازی فاز تاخیری و بیشینه سازی سرعت انعقاد محاسبه شدند. روش تابع مطلوبیت یک روش چند منظوره برای بهینه سازی است و موقعیکه هدف بهینه سازی فرآیند با در

$$Y_1 = ۳/۹۸ - ۰/۹۹X_1 + ۰/۴۹X_۲ - ۰/۸۴X_۳ \quad R^۲ = ۰/۸۵ \quad [۶]$$

$$\begin{aligned} \ln(Y_۲) = ۶/۶۲ - ۰/۶۰۶X_1 - ۰/۷۰۴X_۲ - ۰/۱۴X_۳ + ۰/۰۲۶X_۲X_۳ - ۰/۰۲۲X_1X_۳ \\ + ۰/۲۱۴X_1^۲ + ۱/۲۵ \times ۱۰^{-۳} X_۲^۲ \quad R^۲ = ۰/۹۷ \quad [۷] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Y_۳ = ۴/۵۳ \times ۱۰^{-۳} + ۶/۱۴ \times ۱۰^{-۳} X_1 - ۲/۸۲ \times ۱۰^{-۴} X_۲ + ۶/۹۹ \times ۱۰^{-۴} X_۳ - ۸/۶۴ \\ \times ۱۰^{-۴} X_1^۲ + ۱/۲۱ \times ۱۰^{-۴} X_۲^۲ \quad R^۲ = ۰/۹۶ \quad [۸] \end{aligned}$$

نتیجه‌گیری کلی

همه فاکتورهای مطالعه شده در این تحقیق به طور معنی داری بر روی پارامترهای سینتیکی انعقاد رنت (فاز تاخیری، سرعت انعقاد و زمان لازم برای حداکثر شدن سرعت انعقاد) اثر گذار بودند. پارامترهای به دست آمده از منحنی‌های جذب بر حسب زمان نشان دادند که سطوح بالاتر رنت و دماهای بالاتر به صورت معنی داری سرعت انعقاد را افزایش داده در حالی که فاز تاخیری و زمان لازم برای رسیدن ماکزیمم سرعت انعقاد را کاهش می‌دهند و بدین ترتیب باعث بهبود خواص انعقادی می‌شوند. همچنین با افزایش میزان پودر آب پنیر سرعت انعقاد کاهش پیدا کرده و پارامترهای فاز تاخیری و زمان لازم برای رسیدن ماکزیمم سرعت انعقاد را افزایش می‌دهد.

که در رابطه های ۶، ۷ و ۸: X_1 ، $X_۲$ و $X_۳$ به ترتیب میزان رنت، میزان پودر آب پنیر و دمای افزودن رنت هستند همچنین Y_1 ، $Y_۲$ و $Y_۳$ به ترتیب فاز تاخیری، زمان لازم برای رسیدن به ماکزیمم سرعت انعقاد و سرعت انعقاد هستند.

غلظت پروتئین آب پنیر حدود ۰/۹۳ درصد و رنت به میزان ۰/۰۲۵۵ گرم بر کیلوگرم در دمای $۴۴/۹^\circ\text{C}$ سطوح بهینه برای کسب حداقل فاز تاخیری (۱/۰۰۹ دقیقه) هستند. همچنین غلظت پروتئین آب پنیر به میزان ۰/۹۴ درصد و رنت به میزان ۰/۰۲۳۳ گرم بر کیلوگرم در دمای $۴۴/۹^\circ\text{C}$ سطوح بهینه برای کسب بیشترین سرعت انعقاد (۰/۰۰۹۵ بر دقیقه) هستند.

منابع مورد استفاده

- Auldust M, Mullins C, O'Brien B, O'Kennedy BT and Guinee T, 2002. Effect of cow breed on milk coagulation properties. *Milchwissenschaft: Milk Science International*, 57: 140–143.
- Buffa M, Trujillo AJ and Guamis B, 2001. Rennet coagulation properties of raw, pasteurised and high pressure-treated goat milk. *Milchwissenschaft: Milk Science International*, 56: 243–246.
- Caron A, St-Gelais, D and Pouliot Y, 1997. Coagulation of milk enriched with ultrafiltrated or diafiltered milk retentate powders. *International Dairy Journal*, 7: 445–451.

- Clark S and Sherbon J W, 2000. Alpha_{s1}-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research*, 38: 123-134.
- Guinee T P, Mulholland E O, O'Brien B and Murphy J, 2001. Effect of diet quality on the suitability of mid-lactation bovine milk for cheddar cheese manufacture. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 56: 3-8.
- Hougaard AB, Ardo Y, Ipsen RH, 2010. Cheese made from instant infusion pasturized milk: Rennet coagulation, cheese composition, texture and ripening. *International Dairy Journal*, 20: 449-458.
- Ikonen T, Morry S, Tyriseva A M, Routtinen O, and Ojala M, 2004. Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content and pH of milk. *Journal of Dairy Science*, 87: 458-467.
- International Dairy Federation 1997. Calf rennet and adult bovine rennet. Determination of total milk clotting activity. IDF Standard 157A. IDF, Brussels, Belgium.
- Johnson ME, Cen CM and Jaeggi J, 2001. Effect of rennet coagulation time on composition, yield, and quality of reduced-fat cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 84: 1027-1033.
- Lucisano M, Peri C and Donati E, 1985. Studies on coagulation of milk ultrafiltration retentates. 1 - coagulation kinetics. *Milchwissenschaft: Milk Science International*, 40: 600-604.
- McMahon DJ, Brown RJ, Richardson G H and Ernstrom CA, 1984. Effects of calcium phosphate, and bulk culture media on- milk coagulation properties. *Journal of Dairy Science*, 67: 930-938.
- Ng-Kwai-Hang KF, Politis I, Cue RI and Marziali A S, 1989. Correlations between coagulation properties of milk and cheese yielding capacity and cheese composition. *Journal of Canadian Institute of Food Science and Technology*, 22: 291-294.
- Ostensen S, Foldager J & Hermansen J E, 1997. Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *Journal of Dairy Research*, 64: 207-219.
- Pandey PK, Ramaswamy H S and St-Gelais D, 2003. Effect of high pressure processing on rennet coagulation properties of milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4: 245-256.
- SAS (1999) Statistical Analysis System software version 8.0. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Sandra S, Cooper C, Alexander M, and Corredig M, 2011. Coagulation properties of ultrafiltered milk retentates measured using rheology and diffusing wave spectroscopy. *Food Research International*, 44: 951-956
- Schrader K, Buchheim W and Morr C V, 1997. High-pressure effect on the colloidal calcium phosphate and the structural integrity of the micellar casein in milk. Part 1. High-pressure dissolution of colloidal calcium phosphate in heated milk systems. *Food/Nahrung*, 41: 133-138.
- St-Gelais D and Savoie L, 1993. Coagulation of milk enriched with low mineral retentate powders. *Milchwissenschaft: Milk Science International*, 48: 603-606.
- Tyriseva AM, Vahlsten T, Ruottinen O and Ojala M, 2004. Noncoagulation of milk in Finnish Ayrshire and Holstein-Friesian cows and effect of herd on milk coagulation ability. *Journal of Dairy Science*, 87: 3958-3966.

- Van Hooydonk ACM and Walstra P, 1987. Interpretation of the kinetics of the renneting reaction in milk. *Netherland Milk Dairy Journal*, 41: 19–47.
- Wedholm A, Hallen E, Larsen L B, Lindmark-Mansson H Karlsson AH and Allmere T, 2006. Comparison of milk protein composition in a Swedish and a Danish dairy herd using reversed phase HPLC. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section A, Animal Science*, 56: 8–15.
- Wedholm A, Larsen LB, Lindmark-Mansson H, Karlsson AH and Andre´ N A, 2006. Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89: 3296–3305.
- Yamauchi K and Yoneda Y, 1978. Effect of dephosphorylation of casein on its coagulation and proteolysis by chymosin. *Agricultural and Biological Chemistry*, 42: 1031–1035.