تأثیر تغییر نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین و چربی بر دناتوراسیون حرارتی پروتئین‌های سرم

سمیه پاک‌سرشت[۱]، مصطفی مظاهری طهرانی[۲*]، سید محمدعلی رضوی[۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم و صنایع‌غذایی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع‌غذایی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه فردوسی

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۳/۱٦ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۸/۲۲)

چکیده

تیمار حرارتی یک مرحله‌ی مهم در فرآیند تولید محصولات تخمیری شیر است که منجر به دناتوراسیون پروتئین‌های سرم و درنتیجه تغییرات قابل‌توجه در خواص عملکردی آن‌ها می‌شود. پروتئین‌های سرم دناتوره شده که در زمان فرایند حرارتی به سطح میسل‌های کازئین متصل شده‌اند، فاکتور بسیار مهمی در افزایش سفتی در ژل‌های ماست تهیه‌شده از شیر حرارت دیده هستند. ازاین‌رو در این پژوهش اثر تغییر نسبت طبیعی پروتئین‌های سرم به کازئین در شیر گاو (۰/۲۲) به ۰/٤٦ و ۰/۷ و درصد چربی ۰/۵، ۱/۰ و ۱/۵ بر دناتوراسیون پروتئین‌های سرم طی فرآیند حرارتی ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه بررسی شد. ازت پروتئینی نامحلول در آمیخته‌های تهیه‌شده قبل و بعد از فرآیند حرارتی رسوب داده شد. محتوای نیتروژن پروتئینی محلول به روش semi-micro Kjeldahl اندازه‌گیری و درصد دناتوراسیون حرارتی ایجادشده در پروتئین‌های سرم محاسبه شد. نتایج نشان داد که افزایش نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین، تأثیر معنی‌دار ($P<0/05$) در افزایش درصد دناتوراسیون حرارتی پروتئین‌های سرم داشت. دناتوراسیون پروتئین‌های سرم با افزایش درصد چربی کاهش یافت ($P<0/05$). تأثیر متقابل درصد چربی و نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین بر دناتوراسیون حرارتی معنی‌دار شناخته شد. دناتوراسیون منجر به بهبود خواص عملکردی پروتئین، افزایش استحکام و کاهش سینرزیس ژل اسیدی تهیه‌شده می‌گردد. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند در جهت تولید ماست‌های فاقد چربی و کم‌چرب با هدف کاهش هزینه تولید و ارزش غذایی بالا مورد استفاده واقع شود.

کلید واژگان: دناتوراسیون، نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین، چربی شیر

* مسئول مکاتبات: mmtehrani@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

۱- مقدمه

ماست و پنیر از رایج‌ترین محصولات لبنی هستند. این محصولات بر اساس توانایی پروتئین‌های شیر در تشکیل ژل تولید می‌شوند. از این خاصیت پروتئین‌های شیر امروزه در تولید اسپردها و دسرها استفاده می‌شود. در مورد بسیاری از این محصولات تشکیل ژل با اسیدی شدن انجام می‌گیرد [۱].

فرآیند حرارتی، یک مرحله مهم در تولید صنعتی محصولات لبنی مختلف است که به‌منظور دستیابی به سلامتی، زمان ماندگاری محصول نهایی و نیز بهبود خصوصیات عملکردی پروتئین‌ها (در محصولاتی مثل ماست و کوآرگ) اعمال می‌شود [۲]. به‌عنوان‌مثال در تولید ماست، حرارت دهی در دمای بالای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، منجر به pH انعقاد بالاتر، افزایش استحکام و کاهش سینرزیس ژل اسیدی در مقایسه با نمونه تهیه‌شده از شیر حرارت داده نشده می‌شود [۳]. بررسی محققان نشان داده است که دناتوراسیون باید در ضمن فرایند حرارتی مورد استفاده در تولید فراورده‌های لبنی روی دهد تا بتواند خواص عملکردی مطلوب را ایجاد کند، درواقع از بین پارامترهای مختلف تولید، فرایند حرارتی نقشی تعیین‌کننده در خواص عملکردی پروتئین‌های سرم بازی می‌کند. پودر شیر پس‌چرخ مورد استفاده برای تهیه شیر بازساخته در تولید ماست باید از نوع کم‌حرارت دیده[1] باشد تا بتواند خواص عملکردی مورد نظر را ایجاد کند. در فرایند تولید این نوع پودر شیر، در مرحله پیش‌گرم‌کردن، حرارت پایین (۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه) به شیر ورودی داده می‌شود تا پروتئین‌های سرم کمتری دناتوره شوند [٤]. در مورد پودر کنسانتره پروتئین آب‌پنیر[2] نیز بررسی‌ها نشان داده‌اند که تیمار حرارتی ملایم طی فرایند سرم جهت تولید پودر WPC، در تولید ماست، مطلوب‌تر است و سطح بالای دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در ازنظر خواص عملکردی این پودر در ماست مضر می‌باشد [۵]. اختلاف در میزان دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در WPC، با اختلاف در خصوصیات عملکردی آن مرتبط است [٦]. بررسی تأثیر پروتئین‌های سرم بسیار ریز شده[3] با میزان دناتوراسیون مختلف، بر خواص رئولوژیکی و ویژگی‌های حسی ماست کم‌چرب نشان داد که نسبت بالای پروتئین‌های سرم طبیعی به دناتوره شده ماست‌هایی با ویژگی خامه‌ای و ویسکوزیته بالا، ذوب شدن کند در دهان و نیز طعم خامه‌ای و سینرزیس پایین ایجاد کرد [۷]. افزودن پروتئین آب‌پنیر طبیعی[4] پس از تیمار حرارتی شیر مورداستفاده در تهیه ماست، منجر به کاهش قابل‌توجه قوام باوجود افزایش ماده‌ی خشک شد [۸]. در بررسی دیگر وجود پروتئین‌های سرم دناتوره شده قبل از مخلوط شدن با کازئین، در مقایسه با سیستم‌هایی که در آن‌ها پروتئین‌های سرم در حضور کازئین‌ها دناتوره گردیدند، منجر به ایجاد ژل‌هایی با یکنواختی کمتر و با ساختار بازتر شد. محققان عنوان کردند که دناتوراسیون اولیه پروتئین‌های سرم منجر به آسیب به ساختار ژل به دلیل ایجاد برخی از تجمعات بزرگ پروتئین‌های سرم دناتوره شده می‌شود که قادر به پوشش میسل‌های کازئین نیستند [۹].

در شیر حرارت داده نشده، عمدتاً میسل‌های کازئین رفتار انعقادی سیستم را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۱۰]. درحالی‌که حرارت دهی دارای تأثیر مشخص روی پروتئین‌های سرم شیر که عمدتاً شامل بتالاکتوگلوبولین و آلفالاکتالبومین هستند، می‌باشد [۱۱]. تیمار حرارتی در دماهای بالاتر از حدود ۷۰ درجه سانتی‌گراد، به دلیل دناتوراسیون پروتئین‌های سرم، منجر به تغییرات ساختاری و خواص عملکردی میسل‌های کازئین می‌شود. پروتئین‌های سرم دناتوره با یکدیگر و با کاپاکازئین موجود در سطح میسل کمپلکس تشکیل می‌دهند. بخشی از این کمپلکس‌ها در سطح میسل‌های کازئین قرار دارند و بخشی در سرم به‌صورت ذرات کوچک پراکنده شده‌اند که به‌اصطلاح "کمپلکس‌های محلول" نامیده می‌شوند [۱۰]. کمپلکس اصلی تشکیل‌شده طی فرآیند حرارتی، کمپلکس بتالاکتوگلوبولین با کاپاکازئین است [۱۲]. تحت تأثیر تیمار حرارتی، گروه واکنش‌پذیر تیول موجود در

1. Low heat
2. Whey Protein Concentrate (WPC)
3. Microparticulated whey proteins
4. Native whey protein

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

بتالاکتوگلوبولین به دلیل تغییرات ساختاری مولکول تحت تأثیر قرار می‌گیرد. این گروه تیول فعال می‌تواند با سایر پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوند دی‌سولفید با گروه‌های تیول فعال یا برهمکنش‌های مبادله تیول-دی‌سولفید اتصال برقرار کند. واکنش باعث برگشت‌ناپذیری فرایند دناتوراسیون می‌شود، در مقابل دناتوراسیون بتالاکتوگلوبولین خوک که فاقد گروه‌های تیول آزاد است، برگشت‌پذیر می‌باشد. درمجموع، تیمار حرارتی شیر منجر به تشکیل مخلوط‌های کمپلکس از پروتئین‌های سرم طبیعی، تجمعات پروتئین سرم و میسل‌های کازئین پوشیده شده با پروتئین‌های سرم می‌شود [۱۱]. با ایزوله کردن تجمعات پروتئین سرم ایجادشده در اثر حرارت و بررسی خواص ساختاری و سطحی آن‌ها توسط جین و همکاران [۱۳] مشخص شد که این تجمعات ذرات تقریبا کروی به قطر تقریبی ۷۰-۲۵ نانومتر و عمدتاً شامل کاپاکازئین و پروتئین‌های سرم دناتوره شده بودند که با پیوندهای دی‌سولفید به هم متصل شده‌اند. نقطه ایزوالکتریک این تجمعات در شیر اولترافیلتر شده‌ی استاندارد تقریبا ٤/٥ بود. آب‌گریزی سطحی این تجمعات به‌طور معنی‌دار بیشتر از بتالاکتوگلوبولین و کازئین میسلی استاندارد بود. نتایج پژوهش این محققان نشان داد که تجمعات پروتئین سرم-کاپاکازئین ایجادشده در اثر حرارت، به دلیل تعادل خاص نیروهای پایدارکننده / ناپایدار کننده، می‌توانند در pH اسیدی شدن بالا رسوب کنند. مقدار تقریبی پروتئین‌های سرم دناتوره شده و تجمع یافته به چندین فاکتور مثل شرایط فرآیند، نوع مبدل حرارتی و طراحی آن، ویژگی‌های سطح انتقال حرارت [١٤]، کلسیم، pH ، ماده خشک، لاکتوز [١٥]، قدرت یونی، ترکیب یونی، نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین، مدت‌زمان و دمای فرآیند حرارتی [١٦] بستگی دارد.

چربی یکی از مشخص‌ترین پارامترهایی است که موجب تفاوت در ترکیب شیر می‌شود [۱۷]. چربی‌ها استر اسیدهای چرب و ترکیبات وابسته هستند که در حلال‌های قطبی محلول‌اند. مقدار چربی شیر گاو بین ۳۳ تا ٤۷ گرم در لیتر است. چربی شیر گاو شامل ۹۸ درصد تری‌گلیسرید، تقریبا یک درصد فسفولیپید، مقادیر کمی دی‌گلیسرید و مونوگلیسرید، کلسترول، استرهای کلستریل و مقادیر کمی از ویتامین‌های محلول در چربی و سایر لیپیدها است [۱۸]. در شیر تازه، چربی به‌صورت گلوبول‌هایی است که به‌وسیله غشا پوشیده و تثبیت شده‌اند [۱۷]. تری‌گلیسریدها در مرکز گلوبول‌های چربی شیر قرار دارند [۱۹]. غشاء گلوبول چربی شیر[1] شامل ترکیبی از پروتئین‌ها، ازجمله آنزیم‌ها، فسفولیپیدها، تری گلیسریدها و سایر ترکیبات جزئی است. غشاء یک امولسیون کننده طبیعی است که گلوبول چربی را در برابر انعقاد، تجمع و فعالیت آنزیم‌ها محافظت می‌کند [۱۷].

تجزیه حرارتی لیپیدها در شیر معمولاً مشاهده نشده است، چراکه دمای موردنیاز برای تجزیه غیر اکسیداسیونی اسیدهای چرب (بالای ۲۰۰ درجه) خارج از محدوده حرارتی مورداستفاده در تولید محصولات لبنی است [۱۸]. بااین‌حال تیمار حرارتی منجر به ایجاد تغییراتی در غشاء گلوبول چربی شیر می‌شود که شامل دناتوراسیون و برهمکنش با پروتئین‌های سرم از طریق واکنش‌های مبادله سولفیدریل-دی‌سولفید است. بررسی‌ها نشان داده که فرایند حرارتی شیر منجر به اتصال بتالاکتوگلوبولین و آلفالاکتالبومین به گلوبول چربی می‌شود؛ اما مکانیسم برهمکنش این پروتئین‌ها با گلوبول چربی مشخص نیست. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که غشاء گلوبول چربی شیر در برهمکنش‌های ایجادشده در اثر حرارت با ترکیبات شیر پس‌چرخ، خصوصاً بتالاکتوگلوبولین و کاپاکازئین، دخالت دارد و مقدار اتصال این ترکیبات به غشاء به مقدار تیمار حرارتی وابسته است [۲۰].

واکنش پروتئین‌های سرم با میسل‌های کازئین در شیر حرارت داده‌شده به‌طور غیرمستقیم با استفاده از روش‌های کدورت سنجی و گرانروی یا به‌طور مستقیم با سانتریفیوژ و خارج کردن میسل‌های کازئین و پروتئین‌های سرم متصل شده و اندازه‌گیری مقدار پروتئین‌های سرم موجود در مایع باقیمانده تخمین زده می‌شود [۲۱]. در رسوب ایجادشده به‌وسیله اسید تنها پروتئین‌های طبیعی (دناتوره‌نشده) در سرم باقی می‌مانند و تمام

1. Milk Fat Globule Membrane (MFGM)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

پروتئین‌های دناتوره‌شده در رسوب تجمع می‌کنند [۱۱]. روش semi-micro Kjeldahl می‌تواند به‌منظور تعیین توزیع نیتروژن در بسیاری از شیرهای طبیعی و غیرطبیعی استفاده شود و ازنظر صرفه‌جویی در مواد، سرعت و راحتی کار مزیت دارد [۲۲].

بررسی‌های زیاد درزمینه تأثیر تیمار حرارتی و pH شیر بر دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در شیر طبیعی و بازساخته [۳، ۵، ۱۱، ۱۲، ۱۵، ۲۱، ۲۳، ۲٤، ۲۵، ۲٦ و ۲۷] و برهمکنش پروتئین‌های سرم و کازئین در اثر حرارت [۱، ۲، ۱۰، ۱۳و ۲۸] انجام شده‌است. ارزش تغذیه‌ای بالا، ویژگی‌های عملکردی مطلوب و نقش پروتئین‌های سرم دناتوره‌شده در کیفیت فرآورده‌های تخمیری شیر همراه با قیمت کمتر پودر کنسانتره پروتئین آب‌پنیر، زمینه را برای استفاده بیشتر از این فراورده در تولید محصولات لبنی فراهم کرده است. با توجه به اهمیت دناتوراسیون حرارتی پروتئین‌های سرم در کیفیت ماست که یکی از پرمصرف‌ترین فراورده‌های لبنی در ایران است، لذا هدف از این پژوهش بررسی دناتوراسیون حرارتی پروتئین‌های سرم در شیرهایی با نسبت‌های مختلف پروتئین‌های سرم به کازئین با درصد چربی متفاوت در شرایط فرایند حرارتی معمول مورداستفاده در تهیه ماست بوده است.

۲- مواد و روش‌ها

پودر شیر پس‌چرخ[1] و پودر کنسانتره پروتئین آب‌پنیر از شرکت صنایع شیر مشهد (مولتی) و پودر کنسانتره پروتئین شیر[2] از شرکت شیر پاستوریزه پگاه خراسان تهیه شد. خامه فرادما از شرکت فراورده‌های لبنی کاله آمل خریداری گردید. ویژگی‌های پودرهای لبنی در جداول شماره ۱ تا ۳ آورده شده است.

بروموکروزول گرین، متیل رد، اسید بوریک، اسید استیک، استات سدیم، اسید تری کلرو استیک، اسید کلریدریک، سولفات آمونیوم آهن ۲ ظرفیتی ($(NH4)_2Fe(SO4)_2.6H_2O$)، الکل ایزو آمیلیک، استات روی و متیلن بلو ساخت شرکت مرک آلمان بودند. سود کاستیک پرک از تولیدات شرکت تابش شیمی پویا و اسیدسولفوریک تولید شرکت قطران شیمی تجهیز-ایران بود. پودر کاتالیزور کجلدال که ترکیبی از سولفات پتاسیم (حدود ۹٦/۵ درصد)، سولفات مس ۵ آبه (حدود ۱/۵ درصد) و اکسید سلنیم (حدود ۲ درصد) بود محصولی از شرکت SERVA Electrophoresis آلمان بود. کاغذ صافی واتمن شماره ٤۰ محصول شرکت Watman International Ltd Maidstone انگلستان بود.

تهیه آمیخته

پودر شیر پس‌چرخ تهیه‌شده از شرکت صنایع شیر مشهد (مولتی) جهت تهیه شیر بازساخته به نسبت ۱ به ۱۰ با آب‌مقطر مخلوط شد. نسبت پروتئین سرم به کازئین این مخلوط ۰/۲۲ بود. مقادیر لازم از پودرهای WPC و MPC به‌منظور رسیدن به نسبت‌های ۰/٤٦ و ۰/۷ پروتئین سرم به کازئین به آن اضافه و در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد) به‌وسیله همزن برقی به مدت ۳۰ دقیقه در شیر، پراکنده شدند. درصد چربی آمیخته با استفاده از خامه در مقادیر ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد تنظیم شد. مخلوط‌های تهیه‌شده به مدت یک‌شب (۱۲ ساعت) در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند تا تمام ذرات پودر کاملاً هیدراته شوند. سپس عمل هموژنیزاسیون به مدت ۲ دقیقه در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از یک دستگاه هموژنایزر آزمایشگاهی اولتراتراکس IKA (Ultraturrax, T25, Freiburg, Germany) homogenizer انجام شد. مخلوط‌های تهیه‌شده در یک حمام آب‌گرم آزمایشگاهی تحت تیمار حرارتی ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند.

1. Skim Milk Powder (SMP)
2. Milk Protein Concentrate (MPC)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

Table 1 Physicochemical and bacteriological properties of Skim Milk Powder (SMP)

Bacteriological	Results	Method of analysis	Chemical / physical	Results	Method of analysis
Scorched	A	ISIRI2284	Taste/Color	OK	ISIRI2012
TPC 30 ˚c (cfu/g)	100>	ISIRI5484	Moisture (%)	3.0	ISIRI8781
Yeast/Mold (cfu/g)	10>	ISIRI10154	Fat (%)	<1.5	ISIRI1531
Coliform (cfu/g)	10>	ISIRI5486-1, 5486-2	pH	6.6	ISIRI2852
E.coli (cfu/g)	Negative	ISIRI5234	Ash	7.76	ISIRI1755
Coagulase positive Staphylococcae (cfu/g)	10>	ISIRI6806-3	Protein (%)	33	ISIRI639

Table 2 Physicochemical properties of Milk Protein Concentrate (MPC)

Chemical / physical	Results	Method of analysis	Chemical / physical	Results	Method of analysis
Protein in MSNF (%)	66.7	ISIRI639	Color	OK	ISIRI16033
Solubility Index	0.1	ISIRI2090	Odor	OK	ISIRI16033
Scorched	15>	ISIRI2284	Texture	Steady	ISIRI16033
Acidity (% LA)	14.5	ISIRI2852	Foreign material	Negative	ISIRI16033
Ash	7.37	ISIRI1755	Moisture (%)	4.22	ISIRI8781
Lactose	-	ISIRI5807	Fat (%)	2	ISIRI1531

Table 3 Physicochemical and bacteriological properties of Whey Protein Concentrate (WPC)

Bacteriological	Results	Method of analysis	Chemical/ physical	Results	Method of analysis
TPC 50˚C (cfu/g)	1500	ISO 4833, PCMA 72h 55˚C	Protein (%)	82	IDF 20B (1993), Kjeldahl (N*6.38)
Enterobacteriaceae (cfu/g)	Negative	FC-method using ISO 21528-2, VRBG 24h 30˚C	Ash (%)	4.2	NEN 6810 using TGA, 3h 525˚C
Enterococci(cfu/g)	10>	FC- method, S &B 48h 44˚C	Fat (%)	4.4	ISO 1736/IDF 9, Rose Gottlieb
Sulphite reducing Clostrida(cfu/g)	1>	FC-method, using IJFM 27(1995) 185-200 Weenk	Moisture (%)	2.8	IDF 26A (1988), 4h 102˚C
Clostridium perfringens(cfu/g)	Negative	FC-method, using FNZ53.13, RPM 20h 46˚C	Scorched	A	ISO 5739 / IDF 107 / ADPI 916
Yeasts(cfu/g)	1>	ISO 6611/IDF 94,OGYE 5-7d 25˚C	pH	6.4	FC method, using NEN 3775,potentiometric
Molds(cfu/g)	1>	ISO 6611/IDF 94,OGYE 5-7d 25˚C	Na	670	AOAC 984.27, ICP-AES
Bacillus cereus(cfu/g)	70	FC method, using ISO 7932, MYP 24h 30˚C	K	880	AOAC 984.27, ICP-AES
Salmonellae(cfu/g)	Negative	, FC-method, BWP 18h 37˚C PCR	TPC 30˚C (cfu/g)	550	ISO 4833, PCMA 72h 30˚C

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

میزان نیتروژن کل (TN)، نیتروژن محلول در pH=٤/٦ (SN) و نیتروژن غیر پروتئینی (NPN) در کنسانتره پروتئین آب‌پنیر، کنسانتره پروتئین شیر و پودر شیر پس‌چرخ و نیز در آمیخته‌های تهیه‌شده قبل و بعد از فرآیند حرارتی، به روش semi-micro Kjeldahl اندازه‌گیری شد [۲۲]. تمام اندازه‌گیری‌ها در دو تکرار صورت گرفت. فاکتور ٦/٣٨ برای تبدیل مقدار نیتروژن به پروتئین استفاده شد. میزان پروتئین محلول در pH=٤/٦ (SP) با استفاده از رابطه 6.38*(SN-NPN) و میزان پروتئین نامحلول با استفاده از رابطه 6.38*(TN-SN) محاسبه شد. میزان پروتئین محلول در pH=٤/٦ در آمیخته قبل و بعد از حرارت دهی محاسبه شد (به ترتیب SP_1 و P_2) و میزان دناتوراسیون حرارتی ایجادشده (D) بر اساس فرمول ۱ محاسبه شد [٦]:

$$D = \frac{SP_1 - SP_2}{SP_1} * 100\%$$

اندازه‌گیری ماده خشک بدون چربی، چربی، اسیدیته و pH شیرهای فرموله شده بر اساس استانداردهای ملی ایران به شماره ۱۷۵۳، ۳٦٦، ۲۸۵۲ (به ترتیب) و اندازه‌گیری درصد لاکتوز آمیخته به روش لین‌آینون انجام گرفت.

آنالیز آماری

نتایج آزمون با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 مورد آنالیز قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون توکی در سطح ۹۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از برنامه اکسل انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

تعیین نحوه توزیع نیتروژن در پودرهای مورداستفاده و آمیخته‌های تهیه شده

جدول ٤ توزیع نیتروژن را در هریک از پودرهای لبنی و جدول ۵ توزیع نیتروژن در فرمولاسیون‌های تهیه‌شده قبل و بعد از اعمال فرایند حرارتی را نشان می‌دهد. با توجه به این‌که ازت کازئینی در کنسانتره پروتئین آب‌پنیر ۱۵۰ گرم در هر کیلوگرم از نیتروژن کل را شامل می‌شود (مشخصات تکنیکی تعیین‌شده با پروتئین‌های آرمور[1])، مقدار کازئین در پودر کنسانتره پروتئین آب‌پنیر تخمین زده شد. فرض شد که اختلاف بین فراکسیون پروتئینی نامحلول و محتوای کازئین به دلیل پروتئین‌های سرم دناتوره‌شده است که با کازئین در pH= ٤/٦ رسوب کرده‌اند [۲۷]. بر این اساس میزان پروتئین‌های سرم دناتوره‌شده در فرآیند تولید این پودر در حدود ۳۱/٦۲ درصد محاسبه گردید. میزان دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در پودر کنسانتره پروتئین آب‌پنیر بر اساس گزارش سودینی و همکاران در سال ۲۰۰٦ [۵]، ۱۰ تا ۵۳ درصد و در سال ۲۰۰۵ [٦]، ۱۹ تا ۲٦ درصد و گونزالز و همکاران[۲۹]، ۵ تا ۲۳ درصد بوده است. میزان کل پروتئین سرم که در محاسبات در نظر گرفته شد، از حاصل جمع پروتئین سرم دناتوره‌نشده و پروتئین سرم دناتوره‌شده به دست آمد. تعیین درصد دناتوراسیون پروتئین‌های سرم به‌منظور بررسی کیفیت پودر WPC بود، چراکه خواص عملکردی محصولات تهیه‌شده از پروتئین‌های سرم نه‌تنها به ترکیب آن‌ها بلکه به شرایط فرآیند تولید آن‌ها نیز بستگی دارد [۳۰]. به همین صورت میزان دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در MPC و SMP به ترتیب حدود ۵۱ درصد و ۷۰ درصد به دست آمد. تخمین میزان دناتوراسیون ایجاد شده در فرآیند تولید هریک از پودرهای لبنی مورد استفاده امکان بررسی دناتوراسیون ایجاد شده در پروتئین‌های سرم طبیعی موجود در شیر بازساخته در ضمن فرایند حرارتی اعمال شده در این پژوهش را فراهم کرد.

1. Armor proteins

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

Table 4 Distribution of nitrogen in dairy powders

powder	Non protein nitrogen (%)	Soluble protein nitrogen (%)	Insoluble protein nitrogen (%)	Total protein (%)
SMP	0.103±0.002	0.368±0.86	4.358±0.045	1.83031.85±
MPC	0.105±0.008	1.018±0.186	9.287±0.452	66.09±2.177
WPC	0.050±0.002	7.259±0.077	5.017±0.389	79.144±0.166

Table 5 Distribution of nitrogen in mixes before and after heating

Sample	W/C ratio	Fat (%)	Non protein nitrogen (%)	Soluble Protein (%)	Insoluble protein (%)	Total protein (%)
UM1	0.22	1.5	0.0385	0.473	2.452	3.252
H2	0.22	1.5	0.0681	0.361	3.171	3.501
UM	0.22	1	0.0370	0.202	2.814	3.260
H	0.22	1	0.0321	0.131	3.167	3.759
UM	0.22	0.5	0.0337	0.454	2.712	3.330
H	0.22	0.5	0.0578	0.1288	3.141	3.677
UM	0.46	1.5	0.0353	0.770	2.803	4.084
H	0.46	1.5	0.030	0.387	3.832	4.536
UM	0.46	1	0.0313	0.903	2.984	4.108
H	0.46	1	0.0445	0.326	4.250	4.759
UM	0.46	0.5	0.0394	0.637	3.220	4.150
H	0.46	0.5	0.0370	0.155	4.023	4.602
UM	0.7	1.5	0.0357	1.258	3.228	5.037
H	0.7	1.5	0.030	0.306	3.777	5.374
UM	0.7	1	0.0313	1.363	3.280	5.022
H	0.7	1	0.0373	0.220	3.319	5.512
UM	0.7	0.5	0.0368	1.360	3.393	5.142
H	0.7	0.5	0.0352	0.410	4.161	5.645

Table 6 physicochemical properties of prepared mixes with different whey protein to casein ratio

W/C ratio	pH	Acidity (%L.A)	Lactose/ Whey ratio	Lactose (%)	Whey protein (%)	Protein (%)	MSNF
0.22	6.76±0.00[a]	0.17±0.00[a]	9.43	5.56±0.10[a]	0.59	3.27±0.01[a]	10.19±0.04[a]
0.46	6.71±0.00[b]	0.20±0.00[b]	5.98	7.74±0.22[b]	1.29	4.11±0.03[b]	10.88±0.01[b]
0.7	6.68±0.00[c]	0.26±0.00[c]	4.09	8.54±0.32[c]	2.08	5.06±0.06[c]	11.71±0.05[c]

[a-c] Means in the same column not sharing a common super cript differ significantly ($p < 0.05$)

1. Unheated Milk
2. Heated Milk

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

بررسی درصد دناتوره‌شدن پروتئین‌های سرم بعد از فرآیند حرارتی

تأثیر نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین

در جدول ٦ نتایج حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات موجود در شیر پس از فرمولاسیون به‌منظور بررسی تغییر نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین بر ترکیبات آمیخته آورده شده است. همان‌گونه که از جدول ٦ مشخص است، همراه با افزودن MPC و WPC به‌منظور تغییر نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین، تغییر تمام پارامترهای اندازه‌گیری شده قبل از فرآیند حرارتی یعنی ماده جامد بدون چربی، درصد لاکتوز، درصد پروتئین، اسیدیته و pH آمیخته ی حاصله، به دلیل تأثیر پودرهای لبنی، معنی‌دار بوده است.

بر اساس نتایج حاصله در این پژوهش افزایش نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین، تأثیر معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۵$) در افزایش دناتوراسیون پروتئین‌های سرم داشت. تأثیر متقابل درصد چربی و نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین هم معنی‌دار شناخته شد. در شکل ۱ تأثیر مستقل تغییر نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین و در شکل ۲ تأثیر متقابل تغییر نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین و چربی بر درصد دناتوراسیون آورده شده است. بر اساس داده‌های به‌دست‌آمده در جدول ٦، با افزایش نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین، مقادیر pH آمیخته‌های تهیه‌شده به‌طور معنی‌دار کاهش ($P \leq ۰/۰۵$) و درصد پروتئین و لاکتوز آن‌ها افزایش ($P \leq ۰/۰۵$) یافت. افزایش درصد دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در این پژوهش با افزایش نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین را می‌توان به دلیل کاهش pH آمیخته در زمان فرایند حرارتی، تأثیر بازدارندگی لاکتوز و نیز تأثیر افزایش غلظت پروتئین سرم و پروتئین کل بر دناتوراسیون پروتئین‌های سرم طی فرایند حرارتی نسبت داد. در غلظت‌های بالاتر پروتئین، مقدار برهمکنش پروتئین‌های سرم گسترش‌یافته با سایر پروتئین‌های سرم یا با میسل‌های کازئین افزایش یافته و تجمع را گسترش می‌دهد. بر اساس یافته محققان سطح دناتوراسیون پروتئین سرم کل وقتی‌که غلظت سرم در شیر پس‌چرخ افزایش داده شد، افزایش یافت [۳۱].

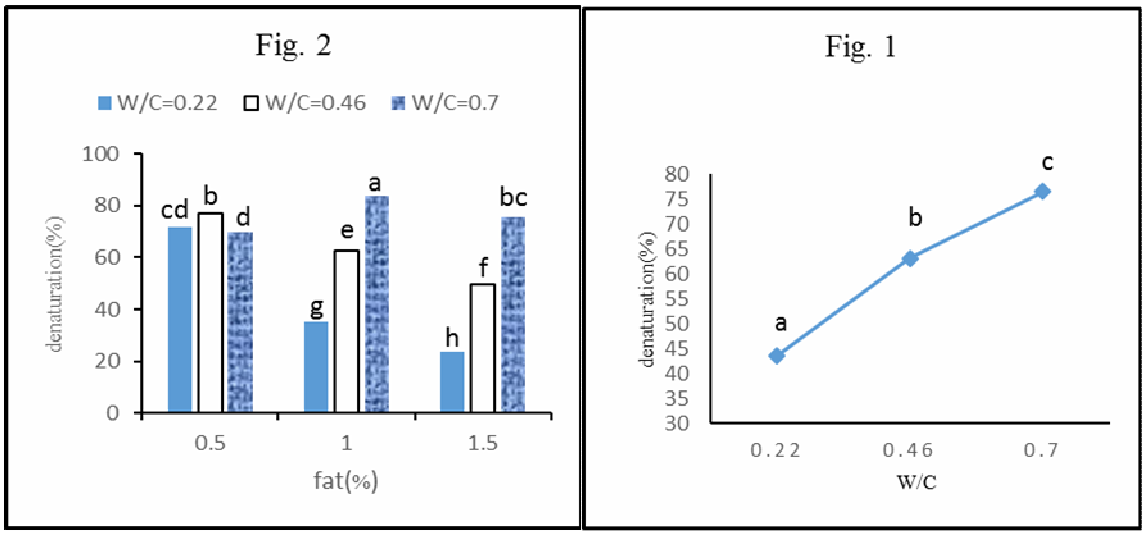

Fig 1 Effect of different whey protein to casein ratio & Fig. 2- Effect of interaction between fat content and whey protein to casein ratio on thermal denaturation of whey protein

pH شیر در زمان فرایند حرارتی خواص پروتئین‌های شیر را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تعدادی از محققان گزارش کرده‌اند که تغییر pH حرارت دهی بین pH ، ٦ و ٧ منجر به تفاوت در الگوی تجمع کازئین-پروتئین سرم می‌شود و تعدادی نیز معتقدند که در دماهای بالای ٨٠ درجه سانتی‌گراد تغییر pH در زمان فرایند حرارتی تأثیر زیادی در مقدار پروتئین‌های سرم موجود در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

تجمعات پروتئینی ندارد [۱]. واسبیندر و کریوف [۱۱] مجموع پروتئین‌های محلول و طبیعی بیشتری را در شیر حرارت داده‌شده در pH های بالاتر به دست آوردند و نتیجه‌گیری کردند حرارت دهی شیر در pH های پایین‌تر منجر به افزایش قابل‌توجه اتصال پروتئین‌های سرم به میسل‌های کازئین می‌شود. کوردیگ و دالگلیش [۱۲]، آنما و کلوسترمیر [۲۵]، اولدفیلد و همکاران [۲۸] و دوناتو و دالگلیش [۳] نیز به نتیجه مشابه رسیدند. آنما و لی [۲۱ و ۳۲] نیز به‌اندازه بزرگ‌تر میسل‌های کازئین به دلیل اتصال مقدار بیشتری از پروتئین‌های سرم به میسل‌ها در زمان فرایند حرارتی شیر تازه و بازساخته در pH های پایین‌تر دست یافتند. این محققان تغییر در اندازه میسل‌های کازئین را به مقدار پروتئین‌های سرم دناتوره‌شده ای که به میسل‌های کازئین متصل شده‌اند ارتباط دادند و گفتند که میزان این اتصال به‌طور مشخص تحت تأثیر تغییرات کم pH در زمان فرایند حرارتی شیر است.

باوجوداینکه قندها از متداول‌ترین ترکیبات بیوشیمیایی هستند، تأثیر آن‌ها بر ساختار و دناتوراسیون پروتئین چندان موردتوجه قرار نگرفته است. بررسی‌های گارت و همکاران [۳۳] نشان داد که دی‌ساکاریدهایی مانند ساکارز و لاکتوز بر انعقاد حرارتی پروتئین‌های سرم تأثیر بازدارندگی دارند. ساکارز دناتوراسیون پروتئین‌های سرم را تشدید می‌کند اما از دلمه شدگی بعدی آن جلوگیری می‌کند. این نتایج بر اساس تأثیر ساکارز بر برهمکنش‌های هیدروفوبیک بین حلال و پروتئین توضیح داده می‌شود. ساکارز به تغییر ساختاری حداقل یکی از مولکول‌های پروتئین کمک می‌کند و احتمالاً بتالاکتوگلوبولین بیشترین تأثیر قابل‌توجه را در این زمینه دارد. افزودن قندها فرم دناتوره‌شده بتالاکتوگلوبولین و احتمالاً مونومرها را در برابر بازشدگی بیشتر پایدار می‌کند؛ بنابراین از دسترسی به گروه‌های سولفیدریل یا پل‌های دی‌سولفید و درنتیجه تجمع مولکول‌ها جلوگیری می‌شود. امروزه پذیرفته‌شده است که برهمکنش‌های هیدروفوبیک نقش مهمی در استحکام ساختار پروتئین‌های کروی دارند. تأثیر اصلی قندها بر ساختار پروتئین، تغییر برهمکنش‌های هیدروفوبیک است. نتایج اندازه‌گیری ترکیبات موجود در آمیخته‌های تهیه‌شده در جدول ٦ نشان می‌دهد که با افزایش نسبت پروتئین سرم به کازئین درصد لاکتوز موجود در آمیخته افزایش پیدا کرد؛ اما با توجه به افزایش مقدار پروتئین‌های سرم و پروتئین کل همراه با افزایش نسبت پروتئین سرم به کازئین لذا به‌منظور بررسی تأثیر لاکتوز در دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در مقدار ثابت پروتئین سرم، نسبت لاکتوز به پروتئین سرم در آمیخته‌های تهیه‌شده محاسبه گردید. همان‌گونه که نتایج مندرج در جدول ٦ نشان می‌دهند، نسبت لاکتوز به پروتئین‌های سرم در آمیخته‌های تهیه‌شده با افزایش مقدار پروتئین سرم، کاهش یافت. کاهش این نسبت در نسبت پروتئین سرم به کازئین ۰/۷ می‌تواند منجر به کاهش تأثیر بازدارندگی لاکتوز در دناتوراسیون پروتئین سرم شود و یکی از عوامل افزایش دناتوراسیون در نسبت ۰/۷ باشد. به عقیده لا و لیور [۳۱]، افزایش غلظت لاکتوز به دلیل جلوگیری از تشکیل کمپلکس‌ها دناتوراسیون را کاهش می‌دهد. تأثیر پایدارکنندگی قندها مربوط به هیدراسیون ترجیحی پروتئین در حضور قندهاست [۳٤]. قندهایی مثل لاکتوز، برای محافظت پروتئین‌ها در مقابل از دست دادن حلالیت طی تیمار حرارتی شناخته‌شده‌اند و دمای دناتوراسیون حرارتی پروتئین‌های آب‌پنیر را افزایش می‌دهند [۳۵]. لاکموند و ولیت [۱]، آنما و همکاران [۳٦] هم به نتایج مشابه این پژوهش دست یافتند.

برخلاف نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش آمایاتاکول و همکاران [۳۷] بیان کردند که سطح دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در نسبت پایین کازئین به پروتئین سرم (نسبت ۱:۱) با افزایش پروتئین‌های سرم کاهش یافت. در پژوهش بونیچ و همکاران [۳۸] مشخص شد که درصد دناتوراسیون پروتئین‌های سرم در نسبت‌های مختلف پروتئین سرم به کازئین در سطح ۹۰-۸۵ درصد ثابت بود و با تغییر این نسبت تغییر نکرد. علت تفاوت در نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش‌های مختلف به تفاوت در شرایط فرآیند حرارتی اعمال‌شده و تفاوت در روش‌های مختلف اندازه‌گیری درصد دناتوراسیون پروتئین‌های سرم نسبت داده می‌شود. همان‌طور که پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند در درجه حرارت‌های بزرگ‌تر یا مساوی ۸۵ درجه سانتی‌گراد، مقدار پروتئین‌های سرم که با کازئین‌ها در اولتراسانتریفیوژ ته‌نشین می‌گردند، بسیار پایین‌تر از مقدار پروتئین‌های سرم است که در pH=٤/٦ رسوب داده می‌شوند؛ بنابراین هر یک از روش‌های اندازه‌گیری دناتوراسیون پروتئین‌های سرم نتایج کاملاً متفاوتی خواهند داشت [۳۹] و به دلیل روش‌های آنالیتیکی متفاوت یا روش‌های مختلف بیان نتایج امکان مقایسه مستقیم بین منابع

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

مطالعه شده غیرممکن است [۱۲].

۲-تأثیر چربی

شکل ۳، تأثیر درصد چربی بر دناتوراسیون پروتئین‌های سرم طی فرآیند حرارتی را نشان می‌دهد. همان‌طور که از شکل ۳ مشخص است، دناتوراسیون پروتئین‌های سرم با افزایش درصد چربی در هر یک از سطوح این نسبت کاهش یافت ($P \leq 0/05$). لوسی [۳۵] معتقد است که احتمالاً چربی‌ها با برهمکنش‌های هیدروفوبیک مؤثر در تجمع پروتئین‌های سرم نسبتاً گسترش‌یافته طی تیمار حرارتی، تداخل دارند. چربی شیر ویسکوزیته آن را افزایش داده و درنتیجه انتقال حرارت را کاهش داده و آسیب‌های ناشی از حرارت را کم می‌کند [۱۷]. با بررسی خواص حرارتی کنسانتره پروتئین سرم حاصل از شیر پس‌چرخ، شیر کامل و شیر پس‌چرخ غنی‌شده با butter milk در فرایند تولید پنیر چدار پژوهشگران دریافتند که آنتالپی دناتوراسیون WPC با محتوای بتالاکتوگلوبولین و پروتئین دارای همبستگی مثبت و با چربی متصل به غشاء گلوبول چربی، پروتئین غشاء و ترکیبات لیپیدی متصل به غشاء دارای همبستگی منفی بود. دمای دناتوراسیون با محتوای فسفولیپید کل و آزاد همبستگی مثبت داشت. ارتباط مثبت دمای دناتوراسیون با فسفولیپید به تأثیر پایدارکنندگی فسفولیپید موجود در پروتئین‌های سرم در برابر دناتوراسیون حرارتی نسبت داده شد [٤٠]. لورنزن و همکاران [٤١] نیز به خاصیت انعقادی بالاتر ایزوله پروتئین آب‌پنیر[1] در مقایسه با WPC دست یافتند و آن را به مقدار بالاتر بتالاکتوگلوبولین و نیز چربی، لاکتوز و فسفولیپید کمتر در WPI نسبت دادند. در بررسی برنال و جنل [۲۳]، نمونه سرم آلبومین دارای ۱ تا ۱/۳ مول اسید چرب در هر مول از آلبومین، دمای دناتوراسیون بالاتری را نسبت به نمونه‌های فاقد اسید چرب ضروری نشان داد. پژوهشگران نتیجه‌گیری کردند که ۱۷ پیوند دی‌سولفید موجود در سرم آلبومین گاوی می‌توانند نقش بسیار مهمی را در پایداری ساختار سوم این پروتئین ایفا کنند. اتصال اسید چرب به سرم آلبومین شیر گاو یک فاکتور مهم در پایداری ساختار این پروتئین است. حضور این اسیدهای چرب منجر به افزایش دماهای دناتوراسیون حرارتی این پروتئین، در تمام شرایط حرارت دهی موردمطالعه در پژوهش برنال و جنل [۲۳] شد.

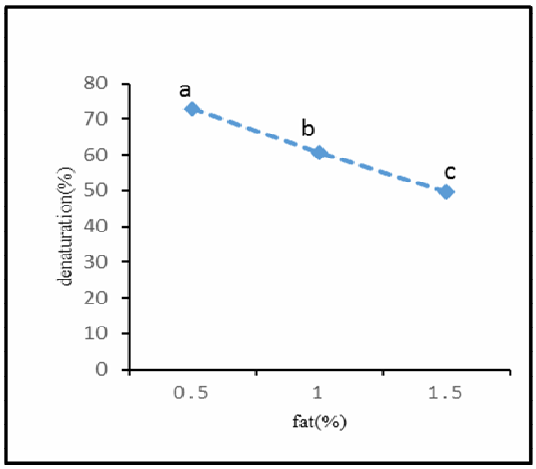

Fig 3 Effect of fat content on thermal denaturation of whey protein

در پژوهش کلیوز و همکاران [۱۷] مقدار چربی شیر بر دناتوراسیون بتالاکتوگلوبولین مؤثر بود. این پژوهشگران دریافتند که دناتوراسیون بتالاکتوگلوبولین دارای کنتیک‌های یک مرحله‌ای است که در شیرهایی با مقدار چربی مختلف، متفاوت است. ظاهراً مقادیر بیشتر چربی در دماهای بالای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، به دناتوراسیون کمک کرد، درحالی‌که در دماهای پایین‌تر روند متفاوتی مشاهده شد که به اعتقاد این پژوهشگران احتمالاً مربوط به اتصال بتالاکتوگلوبولین به سطح گلوبول چربی است. بااین‌وجود، دناتوراسیون بتالاکتوگلوبولین در شیر نسبتاً پس‌چرخ در مقایسه با شیر پس‌چرخ تااندازه‌ای کمتر بود و پژوهشگران نتوانستند تفسیر روشنی برای این تناقض به‌دست‌آمده بیان کنند.

٤- نتیجه‌گیری

استفاده از پودر کنسانتره پروتئین آب‌پنیر در فرایند تولید ماست علاوه بر ارزش تغذیه‌ای و صرفه جویی اقتصادی در هزینه‌های تولید، به دلیل کاهش pH آمیخته در زمان فرایند حرارتی، تأثیر بازدارندگی لاکتوز و نیز تأثیر افزایش غلظت پروتئین سرم و پروتئین کل بر دناتوراسیون پروتئین‌های سرم طی فرایند حرارتی، منجر به افزایش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) درصد دناتوراسیون حرارتی پروتئین‌های سرم شد، هرچند به دلیل تاثیر آن در خصوصیات حسی و بافتی ماست استفاده از این ماده باید به

[1] Whey Protein Isolate (WPI)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

صورت کنترل شده باشد. به دلیل تداخل چربی‌ها با برهمکنش‌های هیدروفوبیک مؤثر در تجمع پروتئین‌های سرم نسبتاً گسترش‌یافته طی تیمار حرارتی و نیز تأثیر چربی شیر در افزایش ویسکوزیته آن و درنتیجه کاهش انتقال حرارت، چربی‌ها دارای نقش بازدارندگی در دناتوراسیون حرارتی پروتئین‌های سرم هستند، این امر لزوم استفاده از فرایند حرارتی شدیدتر در شیرهایی با درصد چربی بیشتر و نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین کمتر را به‌منظور دستیابی به درصد دناتوراسیون موردنظر نشان می‌دهد. تأثیر متقابل درصد چربی و نسبت پروتئین‌های سرم به کازئین بر دناتوراسیون حرارتی معنی‌دار شناخته شد.

۵- تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشگاه فردوسی مشهد بابت پشتیبانی مالی این تحقیق سپاسگزاری می‌گردد.

Latin vocabulary list

معادل فارسی	معادل انگلیسی	علامت اختصاری
پروتئین تغلیظ شده شیر	Milk Protein Concentrate	MPC
غشاء گلوبول چربی شیر	Milk Fat Globule Membrane	MFGM
پودر شیر پس‌چرخ	Skim Milk Powder	SMP
پروتئین تغلیظ شده آب‌پنیر	Whey Protein Concentrate	WPC

٦- منابع

[1] Lakemond, C. M., & van Vliet, T. (2008). Acid skim milk gels: the gelation process as affected by preheating pH. *International Dairy Journal*, 18(5), 574-584.

[2] Guyomarc'h, F., Law, A. J., & Dalgleish, D. G. (2003). Formation of soluble and micelle-bound protein aggregates in heated milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4652-4660.

[3] Donato, L., & Dalgleish, D. G. (2006). Effect of the pH of heating on the qualitative and quantitative compositions of the sera of reconstituted skim milks and on the mechanisms of formation of soluble aggregates. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(20), 7804-7811.

[4] Ann Augustin, M., & Clarke, P. T. (2011). Dry Milk Ingredients. In: Dairy Ingredients for Food Processing, Chandan, R. C., & Kilara, A. (Eds.). John Wiley & Sons.141-159.

[5] Sodini, I., Mattas, J., & Tong, P. S. (2006). Influence of pH and heat treatment of whey on the functional properties of whey protein concentrates in yoghurt. *International dairy journal*, 16(12), 1464-1469.

[6] Sodini, I., Montella, J., & Tong, P. S. (2005). Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey protein concentrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(5), 853-859.

[7] Torres, I. C., Janhøj, T., Mikkelsen, B. Ø., & Ipsen, R. (2011). Effect of microparticulated whey protein with varying content of denatured protein on the rheological and sensory characteristics of low-fat yoghurt. *International Dairy Journal*, 21(9): *645-655.*

[8] Guggisberg, D., Eberhard, P., & Albrecht, B. (2007). Rheological characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins. *International Dairy Journal*, 17(11): 1353-1359.

[9] Schorsch, C., Wilkins, D. K., Jones, M. G., & Norton, I. T. (2001). Gelation of casein-whey mixtures: effects of heating whey proteins alone or in the presence of casein micelles. *Journal of Dairy Research*, 68(03): 471-481.

[10] Donato, L., Alexander, M., & Dalgleish, D. G. (2007). Acid gelation in heated and unheated milks: interactions between serum protein complexes and the surfaces of casein micelles. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(10), 4160-4168.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

its effect on casein micelle size. *Journal of Dairy Research*, 70(1), 73-83.
[22] Rowland, S. J. (1938). 176. The Determination of the nitrogen distribution in milk. *Journal of Dairy Research*, 9(01), 42-46.
[23] Bernal, V., & Jelen, P. (1985). Thermal stability of whey proteins–a calorimetric study. *Journal of Dairy Science*, 68(11), 2847-2852.
[24] Anema, S. G., & McKenna, A. B. (1996). Reaction kinetics of thermal denaturation of whey proteins in heated reconstituted whole milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(2), 422-428.
[25] Anema, S. G., & Klostermeyer, H. (1997). Heat-induced, pH-dependent dissociation of casein micelles on heating reconstituted skim milk at temperatures below 100 C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1108-1115.
[26] Law, A. J., & Leaver, J. (2000). Effect of pH on the thermal denaturation of whey proteins in milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 672-679.
[27] Remeuf, F., Mohammed, S., Sodini, I., & Tissier, J. P. (2003). Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *International Dairy* Journal, 13(9), 773-782.
[28] Oldfield, D. J., Singh, H., Taylor, M. W., & Pearce, K. N. (2000). Heat-induced interactions of β-lactoglobulin and α-lactalbumin with the casein micelle in pH-adjusted skim milk. *International Dairy Journal*, 10(8), 509-518.
[29] Guzmán□González, M., Morais, F., Ramos, M., & Amigo, L. (1999). Influence of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low fat set□type yoghurt model system. I: Use of whey protein concentrates, milk protein concentrates and skimmed milk powder. Journal of the Science of Food and *Agriculture*, 79(8), 1117-1122.
[30] Singh, H., & Havea, P. (2003). Thermal denaturation, aggregation and gelation of whey proteins. In *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins* (pp. 1261-1287). Springer US.
[31] Law, A. J., & Leaver, J. (1997). Effect of protein concentration on rates of thermal denaturation of whey proteins in milk. *Journal*
[11] Vasbinder, A. J., & de Kruif, C. G. (2003). Casein–whey protein interactions in heated milk: the influence of pH. *International Dairy Journal*, 13(8), 669-677.
[12] Corredig, M., & Dalgleish, D. G. (1996). Effect of temperature and pH on the interactions of whey proteins with casein micelles in skim milk. *Food Research International*, 29(1), 49-55.
[13] Jean, K., Renan, M., Famelart, M. H., & Guyomarc'h, F. (2006). Structure and surface properties of the serum heat-induced protein aggregates isolated from heated skim milk. *International dairy journal*, 16(4), 303-315.
[14] Bansal, B., & Chen, X. D. (2006). A critical review of milk fouling in heat exchangers. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5(2), 27-33.
[15] Hollar, C. M., Parris, N., Hsieh, A., & Cockley, K. D. (1995). Factors affecting the denaturation and aggregation of whey proteins in heated whey protein concentrate mixtures. *Journal of Dairy Science*, 78(2), 260-267.
[16] Kessler, H. G., & Beyer, H. J. (1991). Thermal denaturation of whey proteins and its effect in dairy technology. *International Journal of biological macromolecules*, 13(3), 165-173.
[17] Claeys, W. L., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E. (2002). Kinetics of alkaline phosphatase and lactoperoxidase inactivation, and of β-lactoglobulin denaturation in milk with different fat content. *Journal of dairy research*, 69(04), 541-553.
[18] Huppertz, T., & Kelly, A. L. (2009). Properties and constituents of cow's milk.In: *Milk processing and quality management*. Tamime, A. Y. (Ed.). John Wiley & Sons.
[19] Dewettinck, K., Rombaut, R., Thienpont, N., Le, T. T., Messens, K., & Van Camp, J. (2008). Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. *International dairy journal*, 18(5), 436-457.
[20] Ye, A., Singh, H., Taylor, M. W., & Anema, S. (2004). Interactions of whey proteins with milk fat globule membrane proteins during heat treatment of whole milk. *Le Lait*, 84(3), 269-283.
[21] Anema, S. G., & Li, Y. (2003). Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

of Agricultural and Food Chemistry, 45(11), 4255-4261.

[32] Anema, S. G., & Li, Y. (2003b). Effect of pH on the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6), 1640-1646.

[33] Garrett, J. M., Stairs, R. A., & Annett, R. G. (1988). Thermal denaturation and coagulation of whey proteins: effect of sugars. *Journal of dairy science*, 71(1), 10-16.

[34] Anema, S. G. (2000). Effect of milk concentration on the irreversible thermal denaturation and disulfide aggregation of β-lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4168-4175.

[35] Lucey, J. A. (2002). Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*, 85(2), 281-294.

[36] Anema, S. G., Lee, S. K., Lowe, E. K., & Klostermeyer, H. (2004). Rheological properties of acid gels prepared from heated pH-adjusted skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2), 337-343.

[37] Amatayakul, T., Halmos, A. L., Sherkat, F., & Shah, N. P. (2006). Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 16(1), 40-51.

[38] Bönisch, M. P., Huss, M., Weitl, K., & Kulozik, U. (2007). Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. *International Dairy Journal*, 17(11), 1360-1371.

[39] Mortazavi, S. A., Qhods Rohani, M. & Joyandeh, H. (1374). Technology of Milk and dairy products. Institute press of Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad. p: 132.

[40] Patel, M. T., Kilara, A., Huffman, L. M., Hewitt, S. A., & Houlihan, A. V. (1990). Studies on whey protein concentrates. 1. Compositional and thermal properties. *Journal of dairy science*, 73(6), 1439-1449.

[41] Lorenzen, P. C., & Schrader, K. (2006). A comparative study of the gelation properties of whey protein concentrate and whey protein isolate. *Le Lait*, 86(4), 259-271.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

Effect of different whey protein to casein ratio and fat content on thermal denaturation of whey proteins.

Pakseresht, S. [1], Mazaheri-tehrani, M. [2*], Razavi, S. M. A. [2]

1. Master Graduated Department of Food Science Industry, Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad
2. Professor Department of Food Science Industry, Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad

(Received: 2016/06/05 Accepted: 2016/11/12)

In the process of fermented milk products, heat treatment is an important step leading to whey protein denaturation and significant changes in their functional properties. Denatured whey proteins, within gels made from heated milk, are important for increased stiffness of yogurt gels. Therefore, in this study the effects of different whey protein to casein ratio from 0.22 (in native skim milk) to 0.46 and 0.70 and fat content (0.5, 1.0 and 1.5%) on thermal denaturation of whey proteins, at 85□ for 15 minutes, were studied. The insoluble protein nitrogen in the mixes was precipitated before and after heating. The soluble nitrogen was measured by semi-micro Kjeldahl method and the extent of whey protein denaturation, occurring in the mixes during the heat treatment, was calculated. The results showed that whey protein to casein ratio has significant effect ($P<0.05$) on increasing thermal denaturation of serum proteins. Heat induced denaturation of whey proteins decreased by increasing fat content. The interaction between fat content and whey protein to casein ratio was significant on thermal denaturation. Denaturation improves functional properties of protein, increases gel firmness and decreases syneresis. These results can be useful in non-fat and low-fat yoghurt with reducing in production cost and increasing in nutritional value.

Keywords: Denaturation, Whey protein to Casein Ratio, Milk Fat

*Corresponding Aythor E-Mail Address: mmtehrani@um.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]