



بررسی تاثیر کاربرد نشاسته اصلاح شده استیله به همراه کاپا و یوتا کاراگینان بر پایداری و خواص

رئولوژی و حسی شیر کاکائو

نیلوفر ثمری^۱، مسعود هنرور^۲، مریم میزانی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۵

کلمات کلیدی:

نشاسته اصلاح شده،

کاپا کاراگینان،

یوتا کاراگینان،

پایداری،

شیر کاکائو

شیر کاکائو نوعی نوشیدنی محبوب لبنی بر پایه شیر است که گسترش آن می تواند نقش موثری در نزدیک شدن به سرانه مناسب مصرف لبنیات در کشور داشته باشد. جهت پایداری این محصول از پایدارکننده های متفاوتی در صنعت استفاده می شود که رایج ترین آن کاراگینان ها هستند. که به دلیل وارداتی بودن این محصول بر روی قیمت تمام شده محصول هم تاثیر دارد. هدف اصلی این تحقیق بررسی اثر پایداری نشاسته استیله به همراه کاپا و یوتا کاراگینان بر روی شیر کاکائو پاستوریزه می باشد. که از نظر ویژگی های استاندارد شیر کاکائو و رئولوژی مورد بررسی قرار گرفته است. به این ترتیب آزمایشات اولیه شامل ویژگی های فیزیکی شیمیایی برای نمونه هایی که دارایمیزان متفاوتی (تیمار ۱ (نشاسته: ۵۰، کاپا کاراگینان: ۲۳،۹۸۲، یوتا کاراگینان: ۲۶،۰۱۸) تیمار ۲ (نشاسته: ۳۷،۷۷۵، کاپا کاراگینان: ۲۶،۴۵۶، یوتا کاراگینان: ۳۵،۷۶۹) تیمار ۳ (نشاسته: ۳۶،۱۸۹، کاپا کاراگینان: ۳۶،۱۱۶، یوتا کاراگینان: ۲۷،۶۹۶) تیمار ۴ (نشاسته: ۳۵،۲۲۱، کاپا کاراگینان: ۳۸،۲۰۶، یوتا کاراگینان: ۲۶،۵۷۲)) از ترکیب نشاسته و کاپا و یوتا کاراگینان هستند انجام شده است. آزمون های اولیه شیر کاکائو شامل اندازه گیری pH و اسیدیته و ماده خشک بدون چربی و هم چنین ارزیابی حسی روی کلیه نمونه ها صورت گرفت. بررسی اولیه پایداری، میزان ته نشینی با استفاده از سانتریفوژ انجام شد. با توجه به نتایج بدست آمده ۴ نمونه به عنوان نمونه هایی که خواص حسی و فیزیکی شیمیایی مناسب تری دارند از بین ۲۸ تیمار انتخاب شد و آزمون های رئولوژی بر روی این نمونه ها انجام گرفت. برای بررسی بهتر نتایج از سه مدل هرشل بالکلی استوالد و بینگهام استفاده شده است و که میزان R در مدل هرشل بالکلی برابر با ۰،۹۹۷۶۱ که مطابقت بیشتری با نتایج داشت. در نهایت با توجه به نتایج رئولوژی نمونه ایی که دارای میزان نشاسته بیشتری (تیمار ۱) در بین نمونه های منتخب بود به عنوان نمونه برگزیده شناخته شد که حاوی میزان ۵۰٪ نشاسته استیله در ترکیب پایدارکننده بوده است.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.373

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.9.0

*مسئول مکاتبات:

m.honarvar@srbiau.ac.ir

۱- مقدمه

شیراساسی ترین ماده در تولید محصول است و کیفیت آن مستقیماً بر روی فرآورده تاثیر دارد. هرچه شیر تازه تر باشد ماندگاری فرآورده بیشتر خواهد بود. پیشنهاد می شود شیر تازه با اسیدیته بین ۰/۱۳ تا ۰/۱۶ درصد بر حسب لاکتیک اسید (۱۳ تا ۱۶ درجه در مقیاس درنیک) در تهیه شیر کاکائو به کار می رود. اسیدیته بالای ۰/۱۶ درصد بر خواص رنولژیکی شیر کاکائو اثر گذاشته و ممکن است تشکیل ژل سفت را در جریان نگهداری تسریع نموده و فرآورده را غیر قابل مصرف کند. همچنین شیر باید از نظر مواد جامد بدون چربی طبیعی باشد و گرنه با تضعیف شبکه زل ایجاد شده منجر به رسوب کاکائو خواهد شد. ترکیباتی که در شیر بیش از سایر اجزا روی شیر کاکائو موثرند چربی و پروتئین هستند. از نظر چربی شیر پر چرب مناسب نیست. اشکال عمومی در چربی بالا عدم فرایند هموژنیزاسیون یا اجزای ناقص آن است که موجب تجمع چربی در سطح فرآورده در زمان نگهداری است که پس از به هم خوردن به شکل لکه های سفید نمای ظاهری نامطلوبی ایجاد می کند.

ترکیبات عمده شیر را آب، چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد معدنی تشکیل می دهند. هم چنین شیر حاوی مقدار جزئی از مواد دیگر مثل رنگدانه ها، آنزیم ها، ویتامین ها، فسفولیپیدها و گازها می باشد [۱].

چربی و مواد لیپیدی در شیر به صورت قطرات یا گویچه هایی یافت می شود که توسط لایه یا غشاء احاطه شده اند. این غشاء از چسبیدن گویچه ها جلوگیری به عمل آورده و حدود ۲ درصد از کل وزن چربی شیر را در بر میگیرد. پروتئین های شیر به دو گروه کازئین و پروتئین های محلول در سرم شیر طبقه بندی می شوند که هر یک به نوبه خود متشکل از گروه های کوچکتری هستند. لاکتوز عمده ترین و با ارزشترین کربوهیدرات شیر است. مهمترین املاح موجود در شیر گاو عبارت است از: سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و کلر است [۲].

سه نوع از ذرات کلونیدی در شیر وجود دارد که عبارت اند از: گویچه های چربی، میسل های کازئین و پروتئین های آب پنیر که اندازه ی هریک به ترتیب ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ میکرومتر و جزء حجمی آن ها را بیشتر به ترتیب ۴، ۱۰ و ۱ درصد است [۳].

پروتئین های شیر شامل کازئین ها و پروتئین های سرمی هستند که پروتئین های سرمی خود بخ طور عمده از بتا-لاکتوگلوبین و آلفا-لاکتالبومین تشکیل شده اند. این پروتئین ها در مقایسه با کازئین ها به حرارت حساس بوده و حرارت سبب تغییر ماهیت و توده ای شدن آن ها میشود. ثابت شده است که پروتئین های سرمی طی حرارت دادن با یکدیگر و یا با کاپا-کازئین های موجود در سطح میسل های کازئین واکنش داده و کمپلکس هایی تشکیل می دهند که پیوند های هیدروفوبیک و دی سولفیدی بین مولکولی در این روند بسیار موثرند [۴].

کازئین ها حدود ۷۶-۸۶ درصد پروتئین های شیر را تشکیل دهنده و شامل $s1\alpha, s2\alpha, \beta$ و k -کازئین می باشد. هم چنین در ساختار میسل ها یک ترکیب معدنی به نام فسفات کلسیم وجود دارد که همانند سیمان برای اتصال ذرات میسلی عمل می کند. عمده تا ۹۵ درصد از کازئین های شیر به صورت ذرات کلونیدی (تحت عنوان میسل های متشکل از submicelles) بوده و pH ایزوالکتریک آلفا ۴/۶ است. این میسل ها حدود ۱۸۰ نانومتر قطر دارند. عوامل موثر در تشکیل این میسل ها پل های هیدروژنی، واکنش های هیدروفوبیک و فسفات کلسیم ها هستند.

کازئین های $s1\alpha, s2\alpha, \beta$ و فسفات کلسیم کلونیدی در داخل میسل در حالی که k -کازئین ها در سطح میسل به صورت غیر یکنواخت قرار دارند. در pH طبیعی شیر (۶/۷) پایانه ی کربنی (c-terminal) آبدوست k -کازئین ها در سطح میسل لایه ای با ضخامت حدود ۷ نانومتر ایجاد می کند. به علاوه k -کازئین ها به دلیل ایجاد بار منفی در سطح میسل ها به واسطه لایه ای که اطراف میسل ها ایجاد کرده اند از نزدیک شدن ذرات کلونیدی به یکدیگر جلوگیری می نمایند. بنابراین در pH طبیعی شیر در دامنه ی الکترواستاتیک و دامنه فضائی موجب پایداری سامانه می گردند [۴].

به علاوه باید اشاره کرد که کازئین های شیر به خاطر داشتن ماهیت پروتئینی و خاصیت آمفی فیلیک، دارای ویژگی های امولسیون کنندگی و پایدارکنندگی خوبی هستند. از این رو تمایل زیادی دارند تا در سطح مشترک فازهای آب و روغن جذب شونده که نمونه های بارز آن در فرآیند همگن سازی مشاهده می شود [۳].

سوپ ها و ماست میوه ای، ایجاد بافت در محصولات نانوائی و شیرینجات، اثر ضد بیاتی در نان، اثر پرکنندگی در محصولات گوشتی نظیر سوسیس و کالباس، کاربرد به عنوان استایلایزر در نوشیدنی های شیری می توان اشاره کرد. علاوه بر اینها نشاسته در سایر صنایع نظیر صنایع شیمیایی، دارویی، تولید کاغذ، پارچه، چسب و حتی در استخراج نفت به عنوان گل حفاری نیز نقش به سزایی دارد. ساختار شیمیایی و خواص فیزیکی منحصر به فرد نشاسته این کربوهیدرات را از سایرین مجزا می سازد [۶].

نشاسته طبیعی گرفته شده از منابع مختلف گیاهی دارای خواص منحصر به فرد می باشد. اگرچه با پیشرفت صنایع غذایی و ابداع روش های جدید فرآیند غذا، ساختار نشاسته دچار تغییر و تحولاتی میگردد که می تواند منجر به از دست رفتن بعضی خواص مطلوب آن در غذا گردد. برای مثال در اثر فرآیند اتوکلاو کردن غذاهای حاوی نشاسته امکان شکسته شدن مولکولهای نشاسته در اثر حرارت بالا وجود دارد.

در نتیجه ویسکوزیته و قوام محصول مورد نظر پایین می آید. به علاوه در شرایط اسیدی و با دمای انجامد، نشاسته طبیعی دچار تغییر در ساختار می شود و عملکرد آن تغییر می یابد. نتیجه نشاسته دیگر قادر به ایفای نقش خود نمی شود.

به منظور بهبود خواص عملکردی نشاسته می توان ساختار آن را به طرق مختلف تغییر داد. چنین نشاسته ای را نشاسته اصلاح شده می نامند [۷ و ۸].

ایجاد تغییر در ساختار نشاسته یا به عبارتی تولید نشاسته اصلاح شده با کمک روشهای شیمیایی، فیزیکی، آنزیمی، ژنتیکی و یا ترکیبی از این روشها امکان پذیر می باشد [۶]. در شکل ۱ روش های مختلف اصلاح نشاسته را نشان می هد.

این پروتئین ها سطح ذرات جربی را کاملا پوشش داده و از نزدیک شدن ذرات و خامه ای شدن و ایجاد ناپایداری در سامانه جلوگیری می کند.

البته ثابت شده است که با کاهش pH امولسیون پایدار شده با سدیم کازینات (تا رسیدن به نقطه ی ایزوالکتریک پروتئین های شیر) لایه ی دارای بار منفی که اطراف ذرات تشکیل شده بود خنثی می گردد.

در واقع زمانی که بار سطحی منفی توسط $H+Ca^{2+}$ خنثی شود و یا این که تحت قدرت یونی بالایی قرار گیرد متلاشی شدن این لایه ی تشکیل شده و به دنبال آن ناپایداری در سامانه پدیدار می گردد [۳].

نشاسته یک نوع هیدروکلوئید غیر جاذب است. به طور کلی ذرات کلوئیدی به دو دسته هیدروکلوئید های جاذب و غیر جاذب تقسیم می شوند. هیدروکلوئیدهایی را که به واسطه نیروی الکترواستاتیک توانایی واکنش با ذرات کلوئیدی (مثلا کازین) را داشته و جذب سطح آن شوند هیدروکلوئید های جاذب می نامند در صورتی که هیدروکلوئیدهای غیر جاذب از این توانایی برخوردار نبوده و از مشخصه ی بارز آن افزایش گرانروی فاز سر بسته استاتین ترکیب مهمترین منبع انرژی ذخیره ای در گیاهان می باشد [۵].

عمده ترین منابع استخراج نشاسته دانه های غلات، گیاهان غده ای نظیر انواع سیب زمینی و دانه حبوبات می باشد. نشاسته دارای نقش مهمی در تغذیه انسان است؛ به طوری که حدود ۸۰-۷۰ درصد انرژی مورد نیاز روزانه انسان از طریق نشاسته تامین می گردد. علاوه بر نقش تغذیه ای، نشاسته و مشتقات آن دارای کاربردهای متعددی در صنایع غذایی می باشند. به عنوان مثال به نقش آنها در ایجاد قوام در انواع

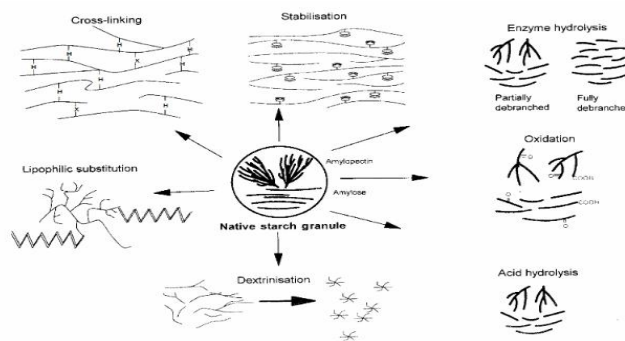


Fig 1 Chemical and biochemical modifications in Starch

همین امر باعث ایجاد تغییراتی در پروفایل ویسکوزیته می‌کند. این نشاسته در مقایسه با نشاسته بدون اصلاح مزیت‌هایی دارد که عبارت است از اینکه موجب پایداری می‌شود به همین دلیل در فرمولاسیون پایدارکننده‌ها کاربرد دارد و دمای ژلاتینه شدن را کاهش می‌دهد و موجب بهبود ویژگی‌ها الاستیکی می‌شود [۱۰ و ۱۱].

در شکل ۲ ساختار نشاسته بومی و نشاسته استتيله با درجه جایگزینی متفاوت را زیر میکروسکوپ الکترونی مشاهده می‌کنید. گرانول نشاسته ذرت به اندازه ۴-۱۸ μm متفاوت است. شکل گرانول نشاسته به صورت زاویه ایی و چند وجهی است. با توجه به شکل هم به نظر میرسد هیچ تغییر قابل توجهی در اندازه، شکل یا ظاهر خارجی گرانول نشاسته ذرت پس از استتيله شدن وجود ندارد [۱۲].

در طی این مطالعه نشاسته اصلاح شده (استتيله) مورد استفاده قرار گرفته است. که در واقع به نوع اصلاح شیمیایی است که قسمتی از گروه هیدروکسیل گلوکز با گروه استتيل جایگزین میشود. نشاسته استتيله با استفاده استیک انیدرید حضور سدیم هیدروکسید به عنوان کاتالیزور تولید میشود [۹].

میزان استتيله شدن نشاسته به فاکتورهای مختلفی مثل منبع نشاسته، نوع کاتالیزور، غلظت کاتالیزور، مدت زمان واکنش و pH سوسپانسیون بستگی دارد.

در نشاسته استتيله گروه استتيل به عنوان یک مانع عمل میکند و از این که زنجیره‌های نشاسته لخته ایجاد کنند جلوگیری کرده و باعث می‌شود که آب در بین زنجیره‌های نشاسته حفظ شود. این نوع نشاسته به میزان متفاوتی می‌تواند استتيله شود که

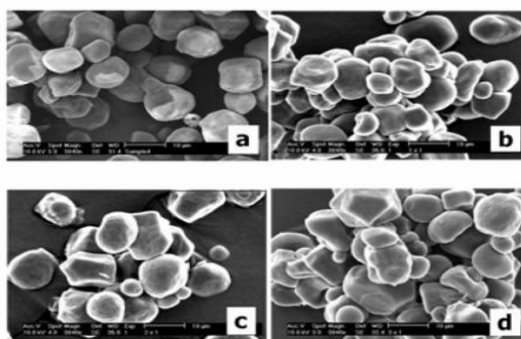


Fig 2 Scanning electron micrographs of native and acetylated corn starches (a) Native Corn Starch, (b) Acetylated Corn Starches 160, (c) Acetylated Corn Starches 260, (d) Acetylated Corn Starch 360 (Bars=10 μm)

همه ی ژل‌های نشاسته بعد از گذشت ۲۴ ساعت شروع به رتروگراداسیون می‌کنند. که این فاکتور با درصد آب جدا شده از اندازه گیری میشود. این برگشت پذیری از ژل در نشاسته استتيله شده نسبت به نشاسته بومی کمتر رخ می‌دهد. به طوری که هرچه درجه جایگزینی استتيل در نشاسته افزایش پیدا کرده است میزان برگشت پذیری از ژل کاهش یافته است. همان طور که در نمودار ذیل مشاهده می‌کنید روند مقایسه چهار نوع نشاسته است.

NCS همان نشاسته بومی ذرت است که در آن هیچ اصلاحی صورت نگرفته است و ACS160 نشاسته استتيله است که به میزان کمتری نسبت به نشاسته‌های دیگر استتيله شده است.

با استتيله کردن نشاسته تفاوتی در ظاهر گرانول ایجاد نمی‌شود ولی این امر در عملکردهای دیگر نشاسته تاثیر گذار است. برای مثال هرچه درجه میزان اسبيله شدن نشاسته افزایش پیدا کند قدرت تورم نشاسته برای جذب آب افزایش یافته در نتیجه ژل بهتری ایجاد میکند. و هم چنین استتيله کردن بر روی حلالیت نیز تاثیر گذار است. یعنی هرچه درجه میزان استتيل شدن نشاسته افزایش پیدا کند حلالیت نیز افزایش پیدا می‌کند [۱۳].

تمايل به رتروگراداسیون ژل‌های آماده شده از نشاسته استتيله و Native از طریق اندازه گیری میزان سینرسیس در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد صورت می‌گیرد.

همان طور که در شکل ۳ مشاهده می کنید میران سینرسیس نشاسته بومی از دیگر نشاسته ها بیشتر بوده است و هر چقدر میزان استیله شدن در نشاسته افزایش پیدا کرده است میزان سینرسیس کاهش یافته است. پس به طور کلی نتیجه می گیریم نشاسته استیله از نظر تورم پذیری و جذب آب و ژل قوی تر و همین طور از نظر حلالیت از نشاسته بدون اصلاح برتری دارد [۱۳ و ۱۴].

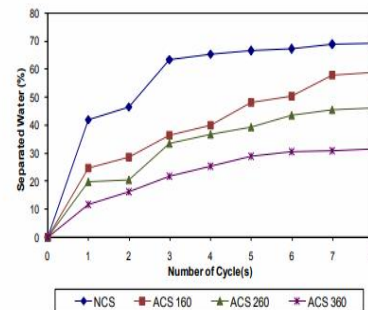


Chart 1 Comparing native starch with Acetyl starch in terms of Syneresis

با توجه به مطالب ذکر شده در مورد عملکرد نشاسته استیله در این پژوهش اثرات جایگزینی نشاسته استیله با کم کردن میزان مصرف کاراگینان به عنوان پایدارکننده در شیر کاکائو مورد توجه قرار گرفته است.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-مواد

ترکیبات به کار رفته در فرمول اصلی شامل شیر با چربی ۱.۵٪ و پودر کاکائو (دلفی مالزی) و استایلایزر (نشاسته استیله-کاپا و یوتا کاراگینان (کارگیل، ۱۵٪ sulfatation) نمک، شکر، اسانس وانیل است.

Table 1 The rate of used component in coca-milk formulation

Used material	the used percentage in formulation
Milk 1.5% fat	91/125
Cocoa powder	0.8
Sugar	8
Salt	0.025
Vanilla	0.05

برای تولید تیمار های مورد بررسی نشاسته استیله و کاراگینان با نسبت های مختلف که بر اساس نرم افزار RSM طراحی شده است استفاده قرار گرفت که در جدول ۲ درصد تمام تیمارها بیان شده است.

روند تولید شامل:

-انتخاب و توزین مواد اولیه

-اختلاط مواد اولیه بعد از گرم کردن اولیه شیر (تا حدود ۵۵ درجه سانتی گراد)

-هموژنیزاسیون (۱۸۰ بار شرکت نوش آرا ساخت ایران)

-پاستوریزاسیون (۸۵ درجه سانتی گراد ۱۵ دقیقه- شرکت Elvo ساخت آلمان)

خنک سازی و بسته بندی است. دمای نمونه ها باید به کمتر از ۲۰ درجه سانتی گراد برسد و بعد بسته بندی شود چون بالاتر

از این دما منجر به تشکیل ژل میشود.

Table 2 The rate of used component in stabilizer

Dose	Carrageenan	Starch	Run
0.4	60.241	39.759	1
0.35	51.5	48.5	2
0.5	59.785	40.215	3
0.3	59.732	40.268	4
0.35	55.582	44.418	5
0.5	64.198	35.802	6
0.3	64.463	35.537	7
0.4	70	30	8
0.4	65.298	34.702	9
0.5	70	30	10
0.4	50	50	11
0.5	50	50	12
0.3	50	50	13
0.4	50	50	14
0.4	50	50	15
0.4	50	50	16
0.5	50	50	17
0.45	60.581	39.419	18
0.3	70	30	19
0.4	60.241	39.759	20
0.5	50	50	21
0.3	50	50	22
0.4	50	50	23
0.3	50	50	24
0.45	55.055	44.945	25
0.35	70	30	26
0.4	50	50	27
0.4	65.298	34.702	28

۲-۲-آزمون ها

۲-۱-اندازه گیری pH

اندازه گیری pH با استفاده از دستگاه pH (مدل متراوهم، ساخت سوئیس) صورت گرفت. کلیه نتایج بدست آمده در این آزمون مطابق استاندارد ملی ایران و در محدوده ۶/۶-۶/۸ است [۱۵].

۲-۲-اندازه گیری اسیدیته

اسیدیته قابل تیتراژ کردن در شیر کاکائو نمایانگر تازگی و کیفیت نگهداری آن بوده و اندیسی از میزان فعالیت باکتری های موجود در آن است [16].

اسیدیته به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال اندازه گیری شد. در این روش ۱۸ گرم نمونه شیر کاکائو پس از افزودن ۵ قطره شناساگر فنول فتالین یک درصد به وسیله محلول سدیم هیدروکسید ۰/۱ نرمال تیتراژ گردید. اسیدیته با قرار دادن حجم تیتراژ در فرمول زیر بر حسب درصد اسید لاکتیک محاسبه می شود [۱۵].

(W برابر با وزن نمونه مورد استفاده است).

$$A = \frac{V \times 0.0009}{W}$$

۲-۲-۳-اندازه گیری ماده خشک بدون احتساب چربی

این آزمون طبق روش استاندارد ملی ایران با استفاده از روش تیتراسیون انجام شد. [۱۵].

۲-۲-۴-بررسی اولیه پایداری و میزان ته نشینی

ته نشینی پودر کاکائو جزو معایبی است که به لحاظ بازرسی ظاهری شیر کاکائو حائز اهمیت است و می تواند بر میزان تمایل مصرف کننده موثر باشد. این اشکال از چالش های فرآوری است و کیفیت شیر و سایر مواد اولیه و نوع و مقدار پایدارکننده به کار رفته روی آن موثر است [۱۶].

بررسی اولیه پایداری و میزان ته نشینی در نمونه های این تحقیق با استفاده از سانتریفوژ صورت گرفت. مقدار ۳۰ سی سی از نمونه ها را داخل فالکون ها مدرج ۵۰ سی سی پر شده و به داخل سانتریفوژ (SIS 101-ساخت کشور آلمان) منتقل شد. نمونه ها در به مدت ۱۵ دقیقه درون دستگاه قرار گرفته و در نهایت مقدار ته نشینی بررسی شد [۱۷].

۲-۲-۵-ارزیابی حسی

ویژگی های حسی نمونه های شیر کاکائو شامل رنگ، عطر و بو، طعم و مزه، بافت، میزان شیرینی و مطلوبیت نهایی با استفاده از روش هدونیک ۹ نقطه ای توسط ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده با تکمیل پرسش نامه ارزیابی حسی کارخانه شیر گلوکوزان بررسی گردید. در این آزمون عدد ۱ نشان دهنده پایین ترین امتیاز و عدد ۹ بالاترین امتیاز بوده است. نمونه ها پس از کد گذاری در ظروف یک بار مصرف سفید در اختیار ارزیابان قرار گرفت.

۲-۲-۶-بررسی ویژگی های رئومتر

برای بررسی دقیق تر ویژگی های رئومتری نمونه ها از دستگاه رئومتر Anton paar (مدل MCR302) مجهز به ژئومتری دو استوانه هم محور (CC10 SN43110) استفاده شد. فرکانس مورد استفاده Hz (۱۰۰-۰/۰۰۱) و حجم نمونه مصرفی ۳۰ میلی لیتر بود. این پژوهش شامل سه آزمون ذیل بود:

۲-۲-۶-۱-آزمون بررسی رفتار جریان نمونه ها (Flow behavior test)

در این آزمون نمونه هادر محدوده سرعت برشی $\omega=0,001-1000(S^{-1})$ مورد بررسی قرار گرفتند.

۲-۲-۶-۲-آزمون Strain Amplitude sweep

این آزمون جهت تعیین منطقه ویسکوالاستیک خطی انجام شد [۱۸].

مقدار فرکانس ۱ هرتز، ثابت در نظر گرفته شد و میزان کرنش اعمال شده به نمونه ها از ۰/۰۱-۱۰۰ درصد متغیر بود. از این آزمون فاکتور های G'_{LVE} ، $\tan(\delta)$ بدست آمد.

۲-۲-۶-۳-آزمون Frequency sweep

این آزمون در منطقه ویسکوالاستیک خطی ($\gamma < \gamma_{LVE}$) انجام گرفت. بر اساس نتایج آزمون مرحله اول amplitude (strain/sweep) کرنش ۰/۵ درصد ثابت در نظر گرفته شد و میزان فرکانس اعمال شده به نمونه ها بین ۰/۱-۱۰۰ هرتز متغیر بود [۱۸].

۲-۲-۷-روش آماری و تجزیه و تحلیل داده ها

برای آنالیز داده ها از طرح RSM استفاده شده است. بعد از این که نرم افزار با دادن بازه مصرفی استابیلایزر و دوز آن ۲۸ نمونه را طراحی کرده است و پس از انجام آزمایش داده های به دست آمده برای فاکتور های مختلف را به نرم افزار

اند با استفاده از روش هولدیگ نه نقطه ایی ارزیابی شده اند که در طی این آزمون نمونه ها منتخب که در جدول ۴ مشخص است را مورد ارزیابی قرار داده شده است. در طی این ارزیابی نمونه ها از ۰ تا ۹ بر اساس رنگ، عطر و بو، طعم و مزه، بافت، شیرینی و مطلوبیت کلی مورد بررسی قرار گرفته اند.

می دهیم که بر این اساس نمودارهایی و همچنین روند تاثیر این فاکتورها بر شیر کاکائو و پایداری آن را نشان میدهد. با توجه به این که در طی این مطالعه ویسکوزیته در بعضی از نمونه ها بسیار بالا بوده و نمونه حالت نوشیدنی بودن را از دست داده و نسبتاً بافت منسجم پیدا کرده است به این دلیل برخی از نمونه ها از نظر مطلوبیت ظاهری حذف شده اند و تعدادی که نسبت به سایر تیمارها از نظر ظاهری مطلوب بوده

Table 3 The Friedman test result

Trait	N	Chi-Square	Df	Sig.
Color	7	6/597	4	0/159
Odor	7	3/00	4	0/558
Taste	7	7/854	4	0/097
Stability	7	12/654	4	0/013
Sweetness	7	2/429	4	0/667
Desirability	7	13/792	4	0/008

جدول رتبه بندی تنها در مورد ویژگی های بافت و پذیرش کلی اعتبار می یابد.

براساس این جدول تیمار های منتخب از نظر رنگ و طعم مزه و بو و شیرینی اختلاف معناداری نداشته اند. بنابراین

Table 4 Texture ranking result final desirability

Selected sample	Texture	Final desirability
1	2.79	2.43
2	3.29	3.14
3	2.43	2.79
4	3.29	4.50

که از نظر ظاهری نسبت به بقیه تیمارها مناسب تر هستند را مشاهده می کنیم.

در جدول ۵ ترکیبات موجود در استابیلایز تیمارهای منتخب

Table 5 The stabilizer component of selected sample

Desirability	Dry Material	Acidity	pH	Viscosity	Dose	Uta Carrageenan	K carrageenan	Starch	Number
0.861	17.950	0.138	6.710	50.945	0.378	26.018	23.982	50.000	1
0.916	17.950	0.131	6.634	53.918	0.348	35.769	26.456	37.775	2
0.915	17.950	0.131	6.710	66.353	0.356	27.696	36.116	36.189	3
0.912	17.950	0.131	6.779	69.128	0.365	26.572	38.206	35.221	4

کردیم. این نمونه ها منتخب را از نظر خواص حسی و رئولوژی مورد بررسی قرار دادیم.

۳- نتایج و بحث

با توجه به بررسی نتایج آزمون انجام شده تیمارهایی را که از نظر نتایج بدست آمده نسبت به سایر تیمارها مناسب بوده اند انتخاب کردیم. با توجه به این که به طور کلی میزان ویسکوزیته در اکثر نمونه ها بالا بوده است معیار انتخاب تیمارها ویسکوزیته کمتر است به دلیل این که ویژگی های آن به محصول موجود در بازار نزدیک باشد. به همین دلیل از طریق نرم افزار نمونه هایی را که بهتر و هم چنین دارای رنج ویسکوزیته پایین تر نسبت به سایر نمونه ها هستند را انتخاب

۳-۱- ارزیابی خواص رئولوژی

۳-۱-۱- نتایج آزمون Flow behavior (رفتار جریان)

از نقطه نظر رفتار رئولوژیکی همان طور که در نمودارها نشان میدهد هر چهار نمونه رفتار سودو پلاستیک دارند به این دلیل که ویسکوزیته در مقابل $\dot{\gamma}$ در حال کاهش است. اما شدت این رفتار در تیمارهای مختلف با میزان ترکیبات مختلف در

نمونه در حالت راکت دو فاز میشود. برای مقایسه این چهار نمونه علاوه بر بررسی کردن نوع رفتار نکته ای که وجود دارد میزان ویسکوزیته ایی که در پایین ترین سطح **shear rate** داشته است یا همان **zero shear viscosity** میباشد. که برای هر ۴ نمونه در جدول شماره ۶ مشخص شده است.

استابیلایزر متفاوت است. به طور کلی نمودار ها دارای دو نوع رفتار هستند نمونه های شماره ۱، ۲ و ۳ در ابتدای مسیر رفتار نیوتنی دارند که شیب بخش کوچکی از نمودار صفر و یا خطی است و در واقع مستقل از **shear rate** آن است. و در واقع این رفتار نیوتنی در محصولی که به صورت **suspension** است نشان دهنده ناپایدار بودن نمونه نیز می تواند باشد. یعنی

Table 6 The amount of zero shear viscosity

Sample	Zero shear viscosity (pa.s)	γ^0
1	4.218	0.02
2	456.05	0.06
3	160.92	0.05
4	-	-

به این که کمترین γ^0 را دارد. در تیمار ۴ که اصلا رفتار نیوتنی مشاهده نشده است همان طور که در جدول ۵ مشخص است این تیمار نسبت به بقیه بالاترین مقدار کاپا کاراگینان است. اما علاوه بر این بخش که رفتار نیوتنی بود نتایج حاصله از قسمتی از نمودار را که رفتار سودوپلاستیک دارد. با سه مدل هرشل بالکی، بینگهام، استوالد تطبیق داده شده و ضرایب هر سه مدل استخراج گردید.

تیمارهایی که دارای **zero share viscosity** بیشتری باشد نشان دهنده آن است که دارای قوام بیشتری است اما اگر این مقدار در γ^0 کوچکتری اتفاق بیافتد نشان دهنده پایداری بیشتر در تیمار است. اما نکته ایی که حائز اهمیت است این است که این پدیده یعنی رفتار نیوتنی در مورد نمونه ۴ رخ نداده است. پس با توجه به این نتایج تیمار ۴ از بقیه تیمارها پایدار است. بعد از تیمار ۴ پایدارترین تیمار، تیمار شماره ۱ است با توجه

Table 7 The degree of correlation coefficient in different models

Model	correlation coefficient sample 1	correlation coefficient sample 2	correlation coefficient sample 3	correlation coefficient sample 4
Herschel-Bulkley	0.99761	0.76771	0.63094	0.84038
Bingham	0.98397	0.53554	0.3878	0.78397
Ostwald	0.92844	0	0.62511	0.35538

در سایر تحقیقات مربوط به شیر کاکائو هم استفاده شده است [۱۹].
هرشل بالکی:

$$\text{Herschel-Bulkley: } \tau = a + b\dot{\gamma}^n$$

با توجه به جدول میزان ضریب همبستگی برای هر چهار نمونه مورد مقایسه قرار گرفته است و با در نظر گرفتن این که مدل هرشل بالکی بالاترین ضریب را دارد به همین دلیل این مدل را برای مقایسه تیمارها انتخاب میکنیم. از این نوع مدل سازی

Table 8 The amount of factors in the Herschel Bulkley model

Sample	Coefficient p(n)	Coefficient b(K)	Coefficient a(τ_0)
1	0.01	0.13897	-0.04256
2	0.56026	-216.93	234.86
3	0.7678	-37.406	42.048
4	0.01	0.0071559	-0.047199

N: Flow index

K: Consistency index

τ_0 : Yield stress

نیوتنی است. با توجه به جدول ۴-۱۸ کوچکترین n برای نمونه ۱ و ۴ می باشد این دو نمونه از نظر رفتار شبیه به هم

در مورد ضریب جریان (n) هر چقدر این ضریب کوچکتر باشد نشان دهنده این است که نمونه رفتار سودوپلاستیک بیشتری داشته و به سمت ۱ نزدیک شود نشان دهنده رفتار

هستند پس با توجه به ضریب جریان قوام این دو نمونه بیشتر است [۲۰].
بنابر نتایج این مدل سازی می توان دریافت کرد نمونه ها ۱ و ۴ دارای ساختار پایدارتری هستند میزان ضریب جریان در این دو نمونه کمتر و اندیس قوام بیشتر است پس در نتیجه پایداری بیشتری دارند.
در تیمار ۱ بیشترین میزان پایدارکننده مربوط به نشاسته است و در مورد تیمار ۴ بیشترین میزان کاپا کاراگینان است.

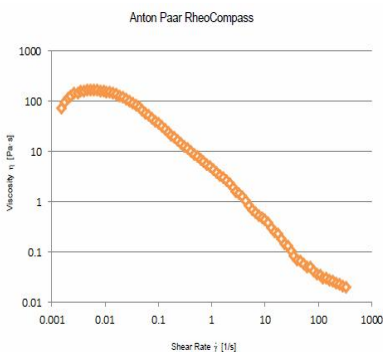


Chart 4 The result of the flow behavior test in sample 3

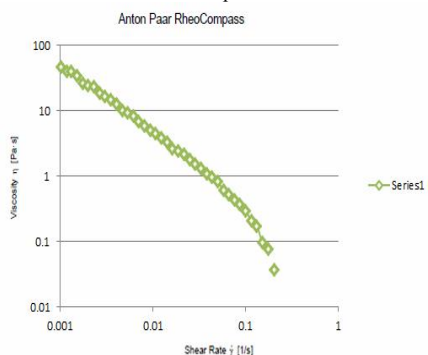


Chart 5 The result of the flow behavior test in sample 4

۳-۲-۱-آزمون Strain amplitude sweep

این آزمون اولین آزمون نوسانی است که صورت می گیرد. در این نمودار G' و G'' تابع γ نیست چون نمودار به صورت خطی است. در حالت کلی چون در این نمودار $G'' < G'$ است یعنی تغییرات مدول الاستیک بالاتر از مدول ویسکوز قرار گرفته است که در این حال نمونه به صورت جامد ویسکوالاستیک است. در این نمودار دو محدوده وجود دارد $non\ liner$ و $liner$ است. که مرز این دو قابل توجه میباشد. با توجه به داده ها میزان افت را محاسبه کرده و در نقطه ای که افت ۲٪ رخ دهد آن عدد G'_0 را نشان میدهد. و γ در آن نقطه به عنوان $LDV\gamma$ است. G'_0 بیانگر استحکام ساختار است.

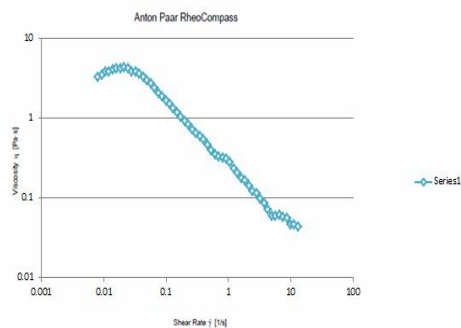


Chart 2 The result of the flow behavior test in sample 1

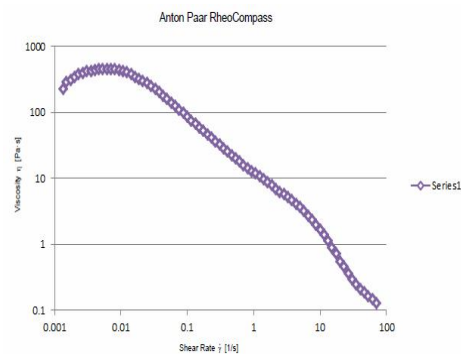


Chart 3 The result of the flow behavior test in sample 2

نمودارها در تیمارهای مختلف تیماری که پایداری بیشتری دارد مشخص شده است.

$$\text{Log}G' = \text{Log}a + b\text{Log}\omega$$

Table 10 The diagram slope of samples in frequency sweep test

Sample	Diagram slope
1	0.322
2	21.986
3	6.5856
4	1.9831

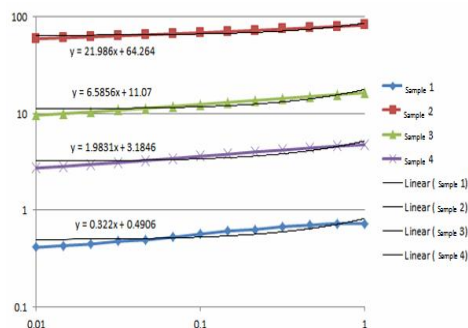


Chart 7 The diagram slope of samples in frequency sweep test

روند تغییرات همان طور که مشاهده کردید به صورت سودوپلاستیک می باشد و با توجه به این که نقطه تقاطع در فرکانس های متفاوت انجام شده است پس با این حال به این نتیجه میرسیم که تیمار ۱ و ۴ از نظر تاثیر ترکیبات بهترین نمونه ها در نظر گرفته شده است که در نمونه ۴ بیشترین ترکیب کاپا کاراگینان است ولی نمونه ۱ با توجه به خواص مشابه به ۴ که از نظر رئولوژی رفتار قابل قبولی هم نیز داشته است دارای نشاسته بیشتر می باشد.

۳-۱-۴- نقطه تقاطع Cross over point

نکته ی دیگری که در این نمودار ها حائز اهمیت است نقطه ایی است که دو نمودار G' و G'' همدیگر را قطع کرده اند. که این پدیده برای هر چهار تیمار رخ داده است. و هرچقدر این محل برخورد یعنی cross over point در ω پایین تری رخ داده باشد این به این معناست که ترکیبات بیشتری در محصول وجود دارد با توجه به جدول زیر نتیجه میگیریم ترکیبات تاثیر گذار در تیمار ۱ و سپس در تیمار ۴ نسبت به دو تیمار دیگر بیشتر است.

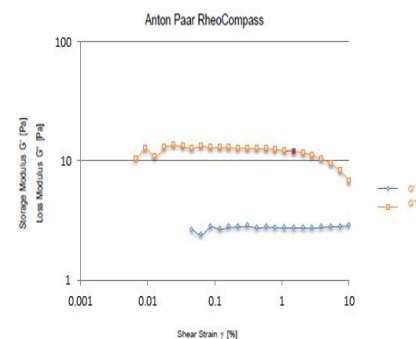


Chart 6 The result of the flow behavior test in sample 3

در این نمودار دو محدوده وجود دارد **Liner** و **non liner** که مرز اینها قابل توجه است همان طور که مشاهده می کنید این مرز با مربع قرمز رنگ در نمودار قابل مشاهده است. این آزمون بر روی تیمار سوم انجام شده است. با توجه به نمودار میزان G' و $LVE\gamma$ در جدول زیر قابل مشاهده است.

Table 9 The number of factors of the first oscillation test for sample 3

G'_0	$LVE\gamma$
12.33	0.0149

میزان G'_0 استحکام سختر را نشان میدهد که به آن **Gel strength** میگویند و هر چقدر میزان این زیاد باشد در واقع ترکیب پایداری و قویتر است. البته باید توجه داشت که این میزان برای هر نوع محصول نسبت به ویژگی های آن محصول معنا دار است زیاد بودن این فاکتور تا زمانی خوب است که ماهیت این ترکیب تغییر نکند. [21]

این آزمون برای یک تیمار جهت تعیین شرایط برای آزمون نوسانی بعدی انجام شده است.

۳-۱-۳- نتایج آزمون Frequency sweep

در این نمودار به دلیل اینه محور ها به صورت لگاریتمی است نمودار به شکل خطی ظاهر شده است. در این نمودارها به طور کلی فاکتور $G'' < G'$ است که بیانگر این است که کلیه نمودارها رفتار ویسکوالاستیک دارند.

با توجه به نمودار ها مقدار شیب را برای هر یک پیدا کردیم و با توجه به این که هرچقدر مقدار شیب کمتر باشد نشان دهنده ی آن است که ساختار شکل گرفته ایی دارد و کمتر تابع تغییرات فرکانس می باشد. در جدول زیر با مقایسه شیب

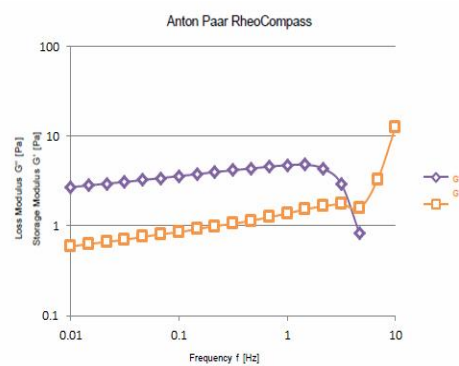


Chart 10 The result of Frequency sweep test in sample 3

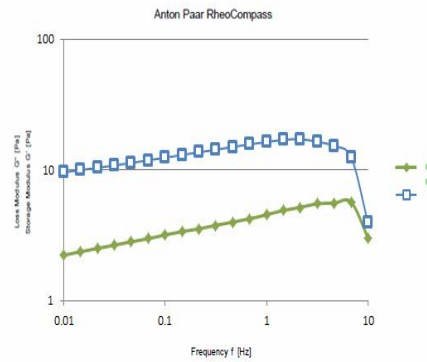


Chart 11 The result of Frequency sweep test in sample 4

Table 11 The amount of cross over frequency

Cross over frequency	Sample
2.15	1
20	2
10	3
4.4	4

با توجه به نتایج cross over frequency مشخص است ترکیبات موجود در نمونه های او ۴ بیشترین تاثیر را بر روی شیر کاکائو داشته اند چون همان طور که گفته شده بود هر چقدر میزان γ کمتر باشد نشان دهنده این است که ترکیبات تاثیر چشمگیری بر روی رفتار رئولوژیکی محصول داشته اند.

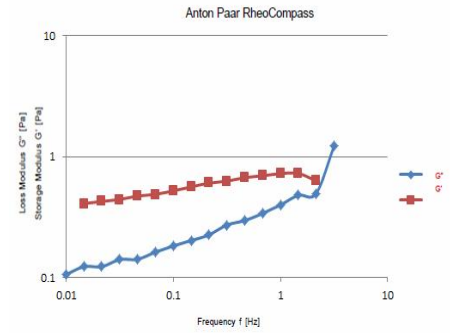


Chart 8 The result of Frequency sweep test in sample 1

۳-۲- نتایج آزمون های انجام شده بر روی شیر

کاکائو

۳-۲-۱- آزمون اندازه گیری اسیدیته

کلیه نتایج به دست آمده از آزمون اندازه گیری اسیدیته برای همه ی تیمارها با مقدار ذکر شده در استاندارد ملی ایران مطابقت داشته و بالاتر از ۱۴ درجه درنیک است [۱۵].

۳-۲-۲- آزمون اندازه گیری pH

کلیه نتایج به دست آمده در این آزمون مطابق استاندارد ملی ایران و در محدوده ۶.۶-۶.۸ است [۱۵].

۳-۲-۳- آزمون اندازه گیری ماده خشک بدون احتساب

چربی

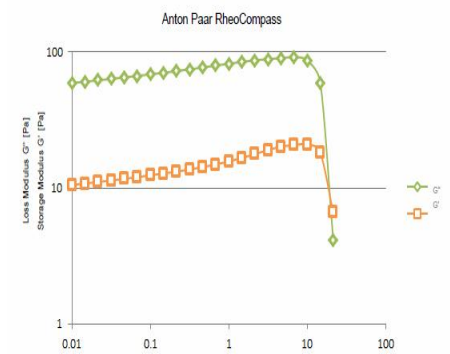


Chart 9 The result of Frequency sweep test in sample 2

کلیه نتایج به دست آمده از این آزمون مطابق استاندارد ملی ایران بوده و ماده خشک بدون چربی تمام نمونه ها بیش از ۱۴٪ است [۱۵].

۳-۲-۴- آزمون حسی

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون ارزیابی حسی در زمان بلا فاصله بعد از تولید همه ی ۴ تیمار و از نظر مطلوبیت نهایی ۱٪ و از نظر پایداری ۵٪ اختلاف معنی دار داشتند. بالاترین امتیاز از نظر دو ویژگی بافت و مطلوبیت نهایی متعلق به دو نمونه ۱ و ۲ میباشد و از نظر رنگ، عطر و بو، مزه، شیرینی اختلاف معنا داری بین نمونه ها مشاهده نشده است. در بیان علت این امر میتوان گفت نمونه های دیگر چون دارای ویسکوزیته بیشتری بودند شباهت بافت آن ها به شیر کاکائو تجاری دور بوده و امتیاز پایین تری را گرفتند و دو نمونه منتخب از نظر حسی با توجه به این که بافت مشابه تری به شیر کاکائو داشته اند دارای پایداری بالایی هم داشته اند.

۳-۲-۵- بررسی اولیه پایداری و ته نشینی

طی بررسی اولیه میزان پایداری و ته نشینی با استفاده از سانتریفوژ و همچنین طی یک هفته نگهداری در سردخانه ناپایداری به صورت کیفی و ظاهری مشاهده نشد. به طوریکه مقدار کم ناپایداری قابل گزارش نبود.

۴- نتیجه گیری کلی

شیر کاکائو فرآورده لبی محبوبی است که جهت پایداری آن از ترکیبات متفاوتی در صنعت استفاده می شود که رایج ترین آن کاراگینان است که هزینه زیادی جهت واردات آن صرف می شود. در طی این مطالعه روند تاثیر جایگزینی نشاسته استیله در ترکیب پایدارکننده مورد مطالعه قرار گرفت. که با توجه به بررسی خواص رئولوژی و آزمون های شیر کاکائو به این نتیجه میرسیم که دو تیمار برتر شماره ۴ و ۱ است که رفتار مشابه به یکدیگر دارند و نمونه ۴ دارای کاپا کاراگینان بیشتر و نمونه ۱ دارای نشاسته استیله بیشتر بود. به این ترتیب با توجه و بررسی نتایج آزمون ها به این نتیجه میرسیم که با وجود نشاسته استیله می توانیم عملکردی مشابه با نمونه برتر که کاپا کاراگینان بیشتر دارد برسیم.

از نظر ویژگی های رئولوژیکی تیمار منتخب، تیمار ۱ است که دارای نشاسته استیله بیشتر می باشد و هم چنین ویسکوزیته پایین تر دارد و به این نتیجه میرسیم که تاثیر این ترکیب در

پایداری اثر گذار بوده است و به این نکته هم توجه باید کرد که قیمت تمام شده محصول نهایی با کاهش میزان کاپا کاراگینان به عنوان پایدارکننده و افزایش میزان نشاسته استیله مصرفی کاسته میشود. در نهایت امکان تولید فرآورده ای با ویژگی کیفی و تغذیه ایی بهتر و هزینه کمتر فراهم خواهد شد که به صنعت داخل کشور هم کمک می کند.

۵- منابع

- [1] Erly. R milk and dairy technology, translation by A.Mortazavi, Tehran:translator publications 2010
- [2] Fatemi. H, 2008, Food chemistry, 480. (Persian)
- [3] Dekruif, C Holt (2003) Advanced dairy chemistry, 10-20
- [4] Walstra.p (1999) international dairy journal 4-8
- [5] Syrbe, WJ Bauer, H Klostemeyer (1998) international dairy journal, 2-10
- [6] Considine T. NoisuwanA. HemarY. Wilkinson B. Bronlund J and Kasapis S, 2010. Rheological investigations of the interaction between starch and milk proteins in model dairy systems, journal of food hydrocolloids, 1-10
- [7] Alexander, R. J. (1992). Carbohydrates used as fat replacers. In R. J. Alexander, &H. F. Zobel (Eds.), Developments in carbohydrate chemistry (pp. 343-370).
- [8] Belitz, H. D., & Grosch, W. (1987). Carbohydrates. In H. D. Belitz, & W. Grosch (Eds.), Food chemistry (pp. 245-252).
- [9] Zimeri and Kokini(2003), Rheological properties on inulin-waxy maize starch system 10
- [10] Euverink, G. J. W., Binnema, D. J. (2003) Use of modified starch as an agent for forming a thermoreversible gel. Patent US2003/0007984 A1.
- [11] Binnema, D. J., &Steeneken, P. A. M. (2005). A novel thermoreversible gelling product made by enzymatic modification of starch. *Stärke*. [Starch], 57,465-472.
- [12] Milani and Maleki(2012), hydrocolloids in food industry 28
- [13] Verbeken D, Bael K, Thas O and, Dewettinck K, Intraction between κ-carrageenan, milk proteins and modifie starch in sterilized dairy desserts, 2006, interaction dairy journal. 482-488

- Emulsions stabilised with Polysaccharides. Food science and technology international, 8:213-221
- [19] Karaman S. Kayseri A. 2010. Rheological characteristic of Traditional Salep Drink Flavored cocoa powder.
- [20] Dogan M. Toker AS. Goksel M. 2011. Rheological Behavior of instant hot chocolate beerge: part 1. Optimization of the effect of different starches and Gum. Food Biophysics, 6:512-518
- [21] Yanes M. Duran L. Costell E. 2002. Rheological and particle properties of commercial chocolate mil beverage. Journal of food engineering, 51:229-234.
- [14] Almdal, K., Dyre, J., Hvidt, S., & Kramer, O. (1993). Towards a phenomenological definition of the term 'gel'. Polymer Gels and Networks, 1, 5-17.
- [15] Binam, Iran standard, Characteristics, and test methods of flavored milk (Persian)
- [16] Sharafedin. M., 2009 Cocoa Milk, 227 (Persian)
- [17] Prakash S. Huppertz T. Karvchuk O and Deeth H, 2010. Ultra-high-temperature processing of chocolate flavored milk journal of food engineering 96:179-184
- [18] Quintana JM. Califano AN. Zaritzky NE. Partal p. 2002. Effect of salt on the Rheological properties of low-in-Fat o/w



Effect of using a combination modified starch white kappa and utta carrageenan stability and rheological and sensory properties of chocolate milk

Samari, N. ¹, Honarvar, M. ^{2*}, Mizani, M. ³

1. M.Sc. Student of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received 2021/ 03/ 26 Accepted 2022/ 05/ 15</p> <hr/> <p>Keywords:</p> <p>Modified starch, Kappa carrageenan, Uta carrageenan, Stability, Chocolate milk.</p> <hr/> <p>DOI: 10.22034/FSCT.19.126.373 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.9.0</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: m-honarvar@hotmail.com</p>	<p>Cocoa milk is a popular milk-based drink, which its development can play a pivotal role in approaching the per capita dairy consumption in Iran. To sustain the product different stabilizers are used in the industry. The most common of which are carrageenan. Stabilizers are imported; therefore, they affect the finished product price. The main objective of this study was to investigate the effect of stability of acetyl starch with Kapa and Utah carrageenan on pasteurized cacao milk in terms of the characteristics of milk cacao and rheology. Initial experiments concentrating on physicochemical properties of samples which have different levels of starch, kappa, and carrageenan (sample 1 (Starch:50, Kappa carrageenan :23.982, Uta carrageenan:26.018) Sample 2 (Starch: 37.775 , Kappa carrageenan : 26.456 , Uta carrageenan : 35.769) Sample 3 (Starch: 36.189, Kappa carrageenan: 36.116 , Uta carrageenan : 27.696) Sample 4 (Starch: 35.221, kappa carrageenan : 38.206 , Uta carrageenan : 26.572)) have been done. Initial tests of cacao milk including PH, acidity, and fatty dry matter measurements as well as sensory evaluation on all samples have been carried out. A preliminary analysis of stability and sedimentation was performed using centrifuge. According to the results, 4 samples were selected with better sensory and physicochemical properties among 28 treatments and Rheological tests were performed on these specimens. To better examining the results Hustler-Balkillian, Ostwald and Bingham models were used. Herschel- Bulkley's model has better adjustment with the results. Finally, according to the results of rheology, a sample with a higher starch content was selected which contains 50% of starch in its stabilizing composition.</p>