

بررسی اثر شرایط فرایند پاستوریزاسیون و نمک بر ویژگی های امولسیون کنندگی زرده تخم مرغ مایع

بهنوش شب کوهی کاکش^۱، کوشان نایب زاده^{۲*}، محمدامین محمدی فر^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه

علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید

بهشتی، تهران، ایران

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید

بهشتی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۱)

چکیده

تولید تخم مرغ مایع پاستوریزه در کشور، صنعت نوینی است. هدف اصلی از پاستوریزاسیون ایجاد محصولی ایمن از نظر میکروبی است، اما عدم کنترل فرایند خسارات جبران ناپذیری به خواص عملکردی آن از جمله خاصیت امولسیون کنندگی وارد و ضرر اقتصادی قابل توجهی را باعث می‌شود. حفظ کیفیت زرده فاکتور بسیار مهمی است که طی پاستوریزاسیون باید به آن توجه شود. زرده تخم مرغ با شرایط پاستوریزاسیون معین طبق طراحی آزمون Box-Behnken پاستوریزه و از آن به عنوان امولسیفایر در تهیه امولسیون روغن در آب ۳۰٪ استفاده شد. ویژگی‌های رئولوژیکی نمونه‌های امولسیون توسط دستگاه رئومتر، پارامترهای توزیع اندازه ذرات با استفاده از تکنیک تفرق نور لیزر و اندیس پایداری امولسیون به روش کدورت سنجی بررسی شد. تأثیر دما، نمک و فشار هم‌وزنایزر بر فاکتورهای مورد مطالعه به روش سطح پاسخ ارزیابی و برای هر پاسخ مدل چند جمله‌ای درجه دوم به دست آمد. افزایش دما بدون حضور نمک با دنا تورا سیون پروتئین‌های زرده خاصیت امولسیون کنندگی آن را تا حدودی کاهش می‌دهد. نمک با حفظ ویژگی امولسیون کنندگی زرده طی پاستوریزاسیون اثرات سوء دما بر کیفیت زرده را از بین می‌برد. فشار هم‌وزنایزر نیز با تأثیر مثبت بر یکنواختی اندازه ذرات و قوام ساختار، امولسیون کنندگی زرده را بهبود می‌بخشد. از نتایج مدل‌های موجود می‌توان در تخمین تأثیر شرایط پاستوریزاسیون بر پاسخ‌ها در جهت افزایش کیفیت زرده تخم مرغ مایع پاستوریزه بهره برد.

کلید واژگان: امولسیون، پاستوریزاسیون، زرده تخم مرغ مایع، نمک، سطح پاسخ

۱- مقدمه

برد [۳, ۴, ۱۰]. اما تأثیر همزمان دما و نمک بر ویژگی های امولسیون کتندگی زرده تخم مرغ و پایداری امولسیون حاصل از آن کاملاً مشخص نیست و تولیدکنندگان کشورمان و نیز مصرف کنندگان این محصول در این مورد با پاره ای از ابهامات مواجه اند. تأثیر فشار هیدرواستاتیک بالا به عنوان یک روش پاستوریزاسیون بر امولسیون کنندگی زرده توسط Anton و همکاران تحقیق شده است [۱۱]، اما تاکنون مطالعه ای در مورد تأثیر فشار هموزنایزر قبل از پاستوریزاتور که یکی از ارکان اصلی تولید زرده تخم مرغ مایع پاستوریزه است؛ بر ویژگی های عملکردی آن صورت نگرفته است.

هدف از این مطالعه بررسی اثر همزمان دما، نمک و فشار هموزنایزر بر پایداری امولسیون حاصل از زرده تخم مرغ مایع پاستوریزه و برخی ویژگی های رئولوژیکی امولسیون به منظور کنترل امولسیون کنندگی آن است. همچنین آزمون ها در قالب طرح آماری سطح پاسخ صورت گرفته تا از نتایج این تحقیق در پیش بینی و بهینه سازی تولید در آینده بهره لازم برده شود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد اولیه

تخم مرغ های مورد نیاز برای تولید نمونه های زرده پاستوریزه، همگی از یک مرغداری طرف قرارداد با شرکت صنایع غذایی بنا (تولیدکننده تخم مرغ مایع پاستوریزه) تهیه شد. به منظور تهیه امولسیون، روغن آفتاب گردان (نینا/ فریکو، ایران)، از یک بهره خریداری گردید. از آب مقطر بدون یون برای انجام آزمون ها استفاده و مواد شیمیایی شامل سدیم کلرید، کلریدریک اسید، سدیم هیدروکسید و سدیم دودسیل سولفات از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

۲-۲- تجهیزات

تجهیزات مورد نیاز تولید نمونه های زرده پاستوریزه توسط شرکت دانمارکی Sanovo طراحی و تولید و در خط تولید کارخانه بنا برای تولید نمونه های این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. از تجهیزات آزمایشگاهی جهت انجام آزمون ها به شرح ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ (A&M/ژاپن)، pH متر (Metrohm/سوئیس)، همزن مغناطیسی و حرارتی (IKA/آلمان)،

زرده تخم مرغ به دلیل داشتن ویژگی های ارگانولپتیکی منحصر به فرد در کنار داشتن خاصیت امولسیفایری به عنوان یک عنصر کلیدی در تهیه بسیاری از امولسیون های غذایی به کار گرفته می شود. زرده تخم مرغ تازه حاوی ۴۸٪ ماده خشک است که ۳۲٪ آن را پروتئین و ۶۴٪ را لیپید تشکیل داده است. حدود ۲۰٪ از ماده خشک زرده به شکل گرانول های غیر محلول و ۸۰٪ مابقی آن به صورت جزء محلول زرده که به نام پلاسما خوانده می شود، وجود دارد. تمامی لیپید های زرده تخم مرغ در ارتباط مستقیم با پروتئین های زرده و به صورت لیپوپروتئین یافت می شوند [۱]. ویژگی امولسیفایری زرده ارتباط مستقیمی با پروتئین های زرده دارد؛ ضمن اینکه این پروتئین ها حساسیت زیادی به حرارت دارند؛ به طوری که در دمای ۶۰°C شروع به سفت شدن و در دمای بالای ۶۹°C تشکیل ژل می دهند [۲-۴]. از آنجا که زرده تخم مرغ به منظور استفاده مطمئن در صنایع غذایی و برای تضمین ایمنی میکروبی نیاز به پاستوریزاسیون دارد؛ در صورت عدم کنترل شرایط پاستوریزاسیون در اثر دناتوراسیون پروتئین های آن علاوه بر آسیب جدی به نقش عملکردی آن در امولسیون سازی، امکان گرفتگی لوله های انتقال دهنده و اجزای پاستوریزاتور وجود دارد [۵]. بنابراین رسیدن به شرایطی از پاستوریزاسیون زرده که ضمن آن باکتری های پاتوژن مثل سالمونلا غیر فعال شده و در عین حال پروتئین ها حداقل دناتوراسیون را متحمل شوند؛ امری است پیچیده که نیازمند کنترل فرایند با انجام آزمون های شیمیایی، رئولوژیکی و میکروبی دقیق می باشد. چگونگی انجام این عمل تأثیر بسزایی در حفظ و یا افت ویژگی های عملکردی زرده تخم مرغ و از جمله خاصیت امولسیون کنندگی آن در پی خواهد داشت.

تولیدکنندگان محصولات تخم مرغ به منظور افزایش زمان ماندگاری و نیز اطمینان کامل از ایمنی محصول خود ترجیح می دهند که از فرایند حرارتی شدیدتری استفاده کنند. از طرف دیگر افزایش دما موجب دناتوراسیون پروتئین های زرده و کاهش ویژگی امولسیون کنندگی آن ها می شود [۶-۹]. علاوه بر این مشخص شده است که افزودن نمک می تواند دمای مورد نیاز برای لخته شدن و تشکیل ژل را در سوسپانسیون های تخم مرغ بالا

اولترا تورا کس (IKA/آلمان)، رئومتر (Anton Paar/MCR301) اتریش)، دستگاه آنالیزگر اندازه ذرات (1090 Particle Size /Cilas /Analyzer /فرانسه) و اسپکتروفتومتر (uv-vis /SP3000 /OPTIMA plus ژاپن) استفاده شد.

۲-۳- طراحی آزمایش به شیوه سطح پاسخ

به منظور بررسی تأثیر متغیرهای آزمون شامل دما، نمک و فشار هموژنایزر و همچنین تأثیر برهم‌کنش‌های آن‌ها روش سطح پاسخ

Table 1 Independent variables and their levels used in Box–Behnken design.

Coded and Actual Levels	Symbol	Independent Factors
64	X ₁	Temperature (°C)
100	X ₂	Homogenizer pressure (bar)
5	X ₃	Salt Concentration (%)

گر، pH همه نمونه‌ها در ۵/۸ توسط رقت‌های مختلف HCl و NaOH تنظیم و سپس با NaCl ۰/۵۲ مولار به حجم ۱۰۰ ml رسانده شد. جهت حصول اطمینان از حل شدن کامل زرده، نمونه‌های دیسپرس شده توسط همزن مغناطیسی با مگنت به مدت ۱ ساعت در دور متوسط به تعادل رسیدند. امولسیون ۳۰٪ (حجمی - حجمی) روغن در آب توسط افزودن ۳۰ ml روغن به ۷۰ ml از دیسپرسیون فوق، هموژن کردن توسط اولتراتوراکس (IKA/ آلمان)، ابتدا با سرعت ۶۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه و سپس ۲۱۵۰۰ rpm به مدت ۲ دقیقه تهیه شد. در طی آماده‌سازی به منظور جلوگیری از نوسانات دما، ظرف تهیه امولسیون با یخ پوشانده شد.

۲-۶- آزمون‌های رئولوژیک

آزمون نوسانی رویش کرنش (Strain Sweep) جهت تخمین مقاومت ساختار توسط رئومتر چرخشی (Anton Paar /MCR301) اتریش) و ژئومتری استوانه هم‌مرکز با نسبت شعاعی ۱/۰۸۴۶ در دمای ۲۵°C انجام شد. آزمون در فرکانس ثابت ۱ Hz با افزایش دامنه کرنش از ۰/۱ تا ۱۰۰٪ انجام و مقادیر مدول الاستیک (ذخیره) در ناحیه ویسکوالاستیک خطی (G_{LVR}) به دست آمد [۱۲].

۲-۴- پاستوریزاسیون زرده تخم مرغ مایع

پس از ورود تخم‌مرغ‌ها به خط بسته تولید، بارگیری اتوماتیک و عبور از دستگاه شست‌وشوی تخم‌مرغ‌ها، شکستن تمام اتوماتیک تخم‌مرغ و جداسازی همزمان زرده از سفیده صورت گرفت. زرده پس عبور از فیلترها و خنک شدن تا دمای ۲°C-۱ در تانک خام نگهداری شد. مطابق طرح آماری Box-Behnken، نمونه‌های تحقیق در روزهای جداگانه با متغیرهای نمک، فشار هموژنایزر و دمای پاستوریزاسیون تولید شدند. برای نمونه‌های حاوی نمک به تانک خام زرده، نمک افزوده تا از درصد نمک موجود در زرده اطمینان حاصل شود. نمونه‌های بدون نمک نیز بعد از تانک خام وارد پیش‌گرمکن شده و تا دمای ۴۰-۵۰°C گرم شدند، سپس نمونه‌ها از هموژنایزر عبور داده شدند. در نهایت زرده به پاستوریزاتور وارد شده و در دماهای معین، به مدت ۳/۵ دقیقه حرارت داده شده و پس از خنک شدن تا دمای ۱°C توسط تبادلاگر حرارتی صفحه‌ای در تانک زرده پاستوریزه نگهداری و در بسته‌های ۵ لیتری پلی اتیلن ۳ لایه بسته‌بندی شد.

۲-۵- تهیه امولسیون روغن در آب

دیسپرسیون زرده در نتیجه حل کردن زرده تیمار شده تحت شرایط مختلف پاستوریزاسیون با محلول NaCl ۰/۵۲ مولار تا رسیدن به غلظت ۴٪ پروتئین به دست آمد. به منظور کنترل عوامل مداخله-

۷-۲- پایش پارامترهای توصیف کننده اندازه ذرات

بررسی توزیع اندازه ذرات امولسیون‌های تشکیل شده، در لحظه تشکیل امولسیون توسط دستگاه آنالیزگر اندازه ذرات بر اساس تکنیک تفرق نور لیزر و با به کارگیری نور لیزر هلیوم-نئون در طول موج ۶۰۰nm و دمای ۲۵°C انجام شد. نمونه‌های امولسیون، با آب بدون یون به منظور جلوگیری از اثرات تفرق چندگانه تا رسیدن به کدورت (obscuration) ۷ رقیق شدند. نتایج حاصل توسط نرم افزار دستگاه particle sizer و طبق مدل فرانوفر به صورت پارامترهای زیر گزارش شد.

$$D[4,3] = \sum n_i d_i^4 / \sum n_i d_i^3$$

$$Span = \frac{D_{0.9} - D_{0.1}}{D_{0.5}}$$

D[4,3] میانگین حجمی قطر، n_i تعداد

گویچه‌ها با قطر مشخص d_i می باشد.

مقدار Span به عنوان معیاری از پهنای توزیع اندازه ذرات حول $D_{0.5}$ است و $D_{0.1}$ ، $D_{0.5}$ ، $D_{0.9}$ به ترتیب نمایانگر آن است که ۹۰٪، ۵۰٪ و ۱۰٪ ذرات موجود دارای قطری کم‌تر از مقدار داده شده هستند (۱۳).

۸-۲- اندیس پایداری امولسیون (Emulsion Stability Index)

به روش کدورت سنجی ابداع شده توسط Pearce and Kinsella (۱۹۷۸) و با دستگاه اسپکتروفتومتر بر مبنای تکنیک جذب نوری در حضور سدیم دو سولفات (SDS^2) تعیین شد. بدین صورت که بلافاصله پس از تشکیل امولسیون و ۳۰ دقیقه پس از آن، ۱۰۰µL از ۴ سانتی متری ته فالكون حاوی امولسیون برداشته و با ۱۰mL از محلول ۰/۱٪ (وزنی-وزنی) سدیم دودسیل سولفات رقیق شد. میزان جذب نور امولسیون رقیق شده با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰nm اندازه‌گیری شد. اندیس پایداری امولسیون (ESI^3) از رابطه زیر به دست آمد که در آن A_t میزان جذب ۳۰ دقیقه پس از تشکیل امولسیون و A_0 میزان جذب بلافاصله پس از تشکیل امولسیون است (۱۴، ۱۵).

$$ESI = (A_t / A_0) \times 100$$

۹-۲- تجزیه و تحلیل آماری

بر مبنای طرح آزمون استفاده شده در تولید نمونه‌ها (Box- Behnken Design) یک مدل چندجمله‌ای درجه دوم (Quadratic) به داده‌های تجربی تطبیق داده شد:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 +$$

$$\beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

که در آن Y پاسخ (متغیرهای وابسته تحقیق)، X_1 ، X_2 و X_3 متغیرهای مستقل تحقیق به ترتیب دما، فشار هموژنایزر و نمک، β_0 عرض از مبدأ، β_1 ، β_2 و β_3 ضرایب خطی، β_{11} ، β_{22} و β_{33} ضرایب مربع و β_{12} ، β_{13} و β_{23} ضرایب اثر متقابل هستند. تحلیل سطح پاسخ و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار-Design Expert (Version 7.0.0, Stat Ease, Inc.) انجام شد [۱۶].

۳- نتایج

تجزیه و تحلیل تأثیر پارامترهای مستقل بر مدول ذخیره در ناحیه ویسکوالاستیک خطی (Y_1)، میانگین حجمی قطر (Y_2)، اسپین اندازه ذرات (Y_3) و اندیس پایداری امولسیون (Y_4) توسط روش سطح پاسخ انجام شد. داده‌های هر پاسخ به همراه مقادیر اصلی متغیرهای مستقل در جدول ۲ آورده شده است. از آنالیز واریانس و رگرسیون برای ارزیابی آماری معنی‌داری فاکتورهای مدل و میزان اهمیت هر یک از آن‌ها استفاده شد. شاخص P-value جهت بررسی معنی‌داری آماری مدل‌ها مورد استفاده قرار گرفت و در هر مورد احتمال کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد. نتایج ارزیابی و ضرایب رگرسیونی مدل‌های پاسخ در جدول ۳ آمده است. همخوانی مدل با داده‌های پاسخ بر اساس مهم‌ترین خصوصیات مدل شامل معنی‌دار بودن مدل، عدم معنی‌داری lack of fit (تست عدم تطابق)، همبستگی (R^2) بیش تر از ۰/۸، داشتن کفایت دقت (Adeq Precision) بالاتر از ۴ و انحراف استاندارد (standard deviation) پایین بررسی شد. در تمام پاسخ‌ها، مدل به دست آمده با داشتن شرایط یک مدل مناسب، امکان خوبی را جهت ارزیابی و تفسیر نتایج ایجاد کرد.

2. Sodium Dodecyl Sulfate
3. Emulsion Stability Index

Table 2 Box-Behnken design with selected factors and their responses in the pasteurization of liquid egg yolk.

ESI (%)	Span	D4,3 (μm)	G' LVE (Pa)	X ₃	X ₂	X ₁	Run
91.35	2.02	6.33	6.6	2.5	0	60	1
92.14	2.20	3.95	3.7	2.5	0	64	2
98.15	1.68	6.96	6.3	2.5	100	60	3
97.15	1.82	4.40	4.6	2.5	100	64	4
85.03	1.43	7.50	3.9	0	50	60	5
85.07	1.72	4.79	1.2	0	50	64	6
94.59	1.38	5.85	8.0	5	50	60	7
95.71	1.39	3.58	6.4	5	50	64	8
83.10	2.04	6.24	2.8	0	0	62	9
95.16	1.70	6.90	3.0	0	100	62	10
98.56	1.91	4.91	6.8	5	0	62	11
97.34	1.52	5.34	7.6	5	100	62	12
94.56	1.86	5.29	4.8	2.5	50	62	13
94.12	1.87	5.27	4.9	2.5	50	62	14
94.89	1.86	5.29	4.7	2.5	50	62	15
93.98	1.85	5.28	4.9	2.5	50	62	16
94.22	1.86	5.28	4.9	2.5	50	62	17

Table 3 ANOVA table showing the variables as linear, quadratic and interaction terms on each response and regression coefficients. Y₁: Elastic module at linear viscoelastic region. Y₂: Volume mean diameter. Y₃: Span. Y₄: Emulsion Stability Index.

Source	df	Y ₁		Y ₂		Y ₃		Y ₄	
		Coefficient	p-value	Coefficient	p-value	Coefficient	p-value	Coefficient	p-value
Model	9	4.84	<0.0001***	5.28	<0.0001***	1.86	<0.0001***	94.35	<0.0001***
Linear									
X ₁	1	-1.11	<0.0001***	-1.24	<0.0001***	0.078	<0.0001***	0.12	0.5191
X ₂	1	0.20	0.038**	0.27	<0.0001***	-0.18	<0.0001***	2.83	<0.0001***
X ₃	1	2.24	<0.0001***	-0.72	<0.0001***	-0.086	<0.0001***	4.73	<0.0001***
				quadratic					
X ₁ ²	1	0.14	0.0644	-0.14	<0.0001***	-0.12	<0.0001***	-1.55	<0.0004***
X ₂ ²	1	0.32	0.0018**	0.27	<0.0001***	0.19	<0.0001***	1.89	<0.0001***
X ₃ ²	1	-0.11	0.1421	0.29	<0.0001***	-0.26	<0.0001***	-2.71	<0.0001***
				interaction					
X ₁ X ₂	1	0.30	0.0028**	-0.045	<0.0001***	-0.010	0.1188	-0.45	0.1134
X ₁ X ₃	1	0.28	0.0044**	0.11	<0.0001***	-0.070	<0.0001***	0.27	0.3112
X ₂ X ₃	1	0.15	0.0592	-0.058	<0.0001***	-0.012	0.604	-3.32	<0.0001***
Lack of fit	3		0.1127		0.3329		0.0901		0.1666
Pure error	4								
Standard Deviation		0.13		92×10 ⁻³		0.011		0.49	
R ²		0.9976		0.9999		0.9990		0.9950	
Adj-R ²		0.9945		0.9998		0.9977		0.9886	
Pred-R ²		0.9704		0.9997		0.9873		0.9432	
Adeq-Precision		65.503		549.20		94.753		42.425	

* Significant at 0.05

** Significant at 0.01

*** Significant at 0.001

مطابق جدول ۳ و نتایج آنالیز واریانس بر فاکتورهای مدل، اثر سه عامل دما، فشار و نمک بر G' LVR در نمونه‌های امولسیون ساخته شده از زرده پاستوریزه شده معنی‌دار گزارش شد. همچنین

۳-۱- تأثیر شرایط پاستوریزاسیون بر مدول ذخیره در ناحیه ویسکوالاستیک خطی

میانگین حجمی قطر بر حسب مقادیر کد شده به صورت زیر برآورد شد.

$$Y_2 = 5.28 - 1.24 X_1 + 0.27 X_2 - 0.72 X_3 - 0.14 X_1^2 + 0.27 X_2^2 + 0.29 X_3^2 - 0.045 X_1 X_2 + 0.11 X_1 X_3 - 0.058 X_2 X_3$$

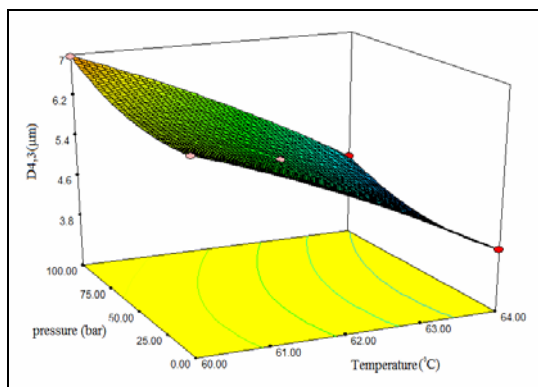


Fig 3 Response surface plot showing effects of pressure and temperature on the mean volume diameter (D4,3) and their interaction.

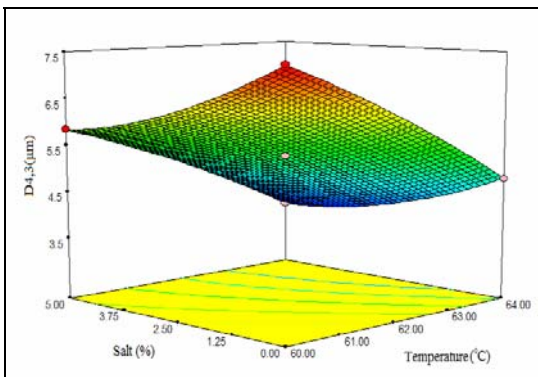


Fig 4 Response surface plot showing effects of Salt and temperature on the mean volume diameter (D4,3) and their interaction.

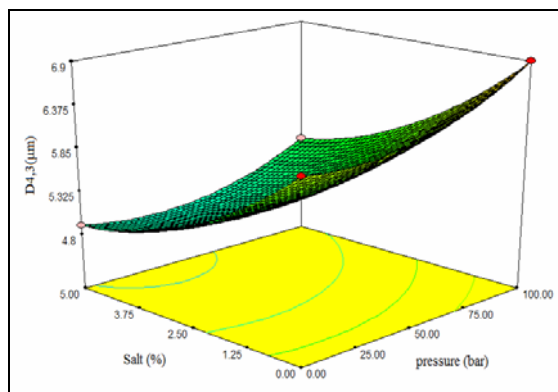


Fig 5 Response surface plot showing effects of Salt and pressure on the mean volume diameter (D4,3) and their interaction.

برهمکنش دما-فشار و دما-نمک اثر معنی دار داشتند، این درحالی است که اثر برهمکنش فشار-نمک معنی دار نشد. شکل های ۱ و ۲ برهمکنش های معنی دار را نشان می دهند. با توجه به ضرایب رگرسیونی، معادله چند جمله ای درجه دوم برای G'_{LVR} برحسب مقادیر کدگذاری شده فاکتورها به صورت زیر به دست آمد.

$$Y_1 = 4.84 - 1.11 X_1 + 0.2 X_2 + 2.24 X_3 + 0.14 X_1^2 + 0.32 X_2^2 - 0.11 X_3^2 + 0.3 X_1 X_2 + 0.28 X_1 X_3 + 0.15 X_2 X_3$$

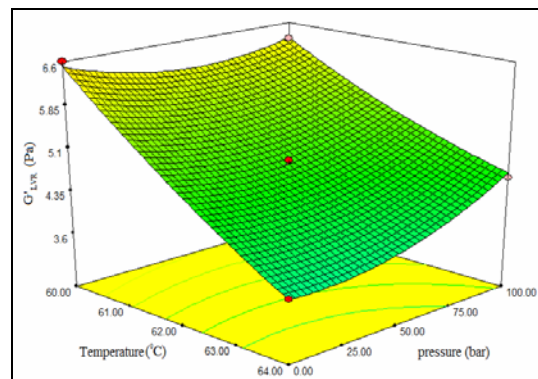


Fig 1 Response surface plot showing effects of Pressure and temperature on the elastic module at linear viscoelastic region (G'_{LVR}) and their interaction.

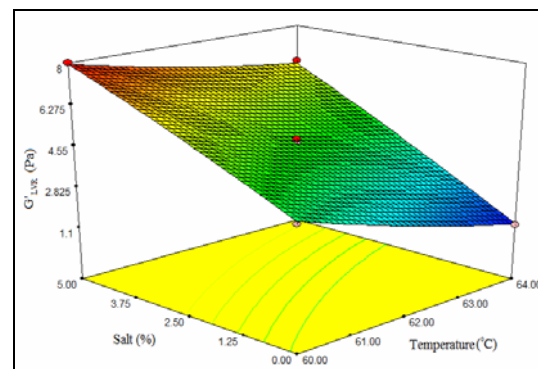


Fig 2 Response surface plot showing effects of Salt and temperature on the elastic module at linear viscoelastic region (G'_{LVR}) and their interaction.

۳-۲- تأثیر شرایط پاستوریزاسیون بر میانگین

حجمی قطر

اثر سه عامل دما، فشار و نمک بر میانگین حجمی قطر (D4,3) در نمونه های امولسیون ساخته شده از زرده پاستوریزه شده، معنی دار شد. همچنین هر سه برهمکنش دما-فشار، دما-نمک و فشار-نمک بر D4,3 اثر معنی دار داشت. شکل های ۳ تا ۵ اثر متقابل فاکتورها را نشان می دهد. همچنین معادله سطح پاسخ برای

از زرده پاستوریزه شده معنی‌دار شد. درحالی‌که دما در سطوح مورد بررسی تأثیر معنی‌داری بر ESI نداشت. بررسی اثرات متقابل نشان داد که تنها برهم‌کنش فشار-نمک بر ESI اثر معنی‌دار داشت. شکل ۸ این اثر را نشان می‌دهد. از برازش داده‌های مدل بر معادله چند جمله‌ای درجه دوم رابطه زیر برای اندیس پایداری امولسیون بر حسب مقادیر کد شده فاکتورها به دست آمد.

$$Y_4 = 94.35 + 0.12 X_1 + 2.83 X_2 + 4.73 X_3 - 1.55 X_1^2 + 1.89 X_2^2 - 2.71 X_3^2 - 0.45 X_1 X_2 + 0.27 X_1 X_3 - 3.32 X_2 X_3$$

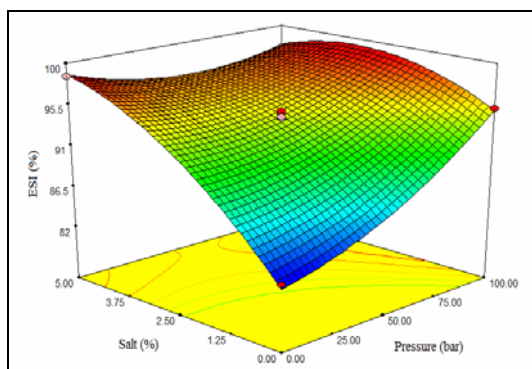


Fig 8 Response surface plot showing effects of Salt and pressure on Emulsion Stability Index (ESI) and their interaction.

۴- بحث

بر اساس مشخصات ارائه شده برای مدل‌ها، مدل‌های انتخاب شده دارای R^2 بالا هستند. همچنین معنی‌دار نبودن تست عدم تطابق نشان از صحت و دقت مدل‌های انتخابی می‌دهد. نزدیک بودن $Pred-R^2$ و $Adj-R^2$ حاکی از آن است که داده‌های واقعی و داده‌های پیش‌بینی شده مدل از همبستگی خوبی برخوردارند و لذا از نتایج مدل و معادلات به دست آمده می‌توان در پیش‌بینی تأثیر شرایط پاستوریزاسیون، فرای مطالعه موجود بر پاسخ‌های مورد نظر بهره برد.

بررسی نتایج آزمون نشان داد که افزایش دما در سطوح انتخاب شده موجب کاهش G'_{LVR} ، کاهش اندازه ذرات و افزایش اسپین اندازه ذرات شد؛ اما بر اندیس پایداری امولسیون بی‌تأثیر بود. افزایش دما موجب کاهش مدول ذخیره و در نتیجه کاهش قدرت ساختار شد. بین فاکتورهای خطی دما بیش‌ترین تأثیر را بر کاهش اندازه ذرات امولسیون داشت؛ که می‌توانست تأثیر مثبتی بر

۳-۳- تأثیر شرایط پاستوریزاسیون بر اسپین اندازه ذرات

هر سه عامل دما، فشار و نمک بر مقیاس Span اثر معنی‌دار داشتند و تنها اثر متقابل دما و نمک معنی‌دار شد. شکل ۶ این اثر را نشان می‌دهد. همچنین از آنجا که اثر فشار در هیچ برهم‌کنشی معنی‌دار نشد، به جهت بررسی اثر این فاکتور نمودار تک عاملی آن در شکل ۷ آورده شده است. معادله درجه دوم زیر بر حسب مقادیر کد شده برای اسپین اندازه ذرات به دست آمد.

$$Y_3 = 1.86 + 0.078 X_1 - 0.18 X_2 - 0.086 X_3 - 0.12 X_1^2 + 0.19 X_2^2 - 0.26 X_3^2 - 0.01 X_1 X_2 - 0.07 X_1 X_3 - 0.012 X_2 X_3$$

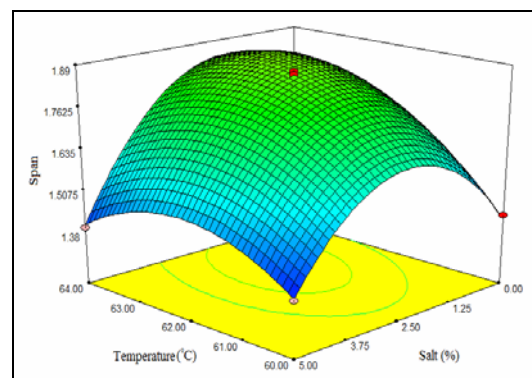


Fig 6 Response surface plot showing effects of Salt and temperature on Span and their interaction.

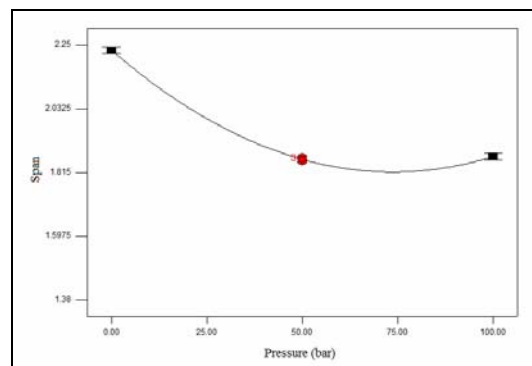


Fig 7 Effects of pressure on Span at 62°C and 2.5% salt.

۳-۴- تأثیر شرایط پاستوریزاسیون بر اندیس پایداری امولسیون

مطابق نتایج آنالیز واریانس بر فاکتورهای مدل، اثر فشار و نمک بر اندیس پایداری امولسیون در نمونه‌های امولسیون ساخته شده

نتیجه‌ی افزایش آبگریزی در ساختار پروتئین می‌گردد (۳، ۱۹، ۲۰). مشخص است که این تغییر ساختار از یک طرف مقاومت پروتئین را به فرایند حرارتی افزایش داده و از طرف دیگر شرایط پروتئین را برای قرار گرفتن در لایه میان سطحی امولسیون بهبود بخشیده است. Martínez و همکاران در سال ۲۰۰۷ تأثیر غلظت نمک را بر ویژگی‌های رئولوژیکی امولسیون‌های مدل سس‌های سالاد بررسی کردند. پارامترهای رئولوژیکی مورد مطالعه (ویسکوزیته و خواص ویسکوالاستیک خطی) با افزایش محتوای نمکی، بالاتر رفت و همچنین پایداری امولسیون حاصل در مقابل دوفاز شدن در حضور نمک افزایش یافت [۱۹]. نتایج این تحقیق نیز همسو با نتایج محققین پیشین بود.

بین فاکتورهای خطی فشار هموزنایزر بیشترین تأثیر را بر عدد Span داشت. افزایش فشار هموزن اگرچه تا حدودی میانگین حجمی قطر را افزایش داد، اما موجب کاهش پراکندگی ذرات امولسیون شد. به عبارت دیگر افزایش سطوح فشار موجب یکنواختی بیش‌تر ذرات امولسیون شد و در نهایت اندیس پایداری امولسیون را افزایش داد. در این مطالعه اثر اسپن اندازه ذرات بر پایداری نسبت به اندازه ذرات بیش‌تر است. یکنواختی ذرات امولسیون و موندیسپرسیته امولسیون، تحت تأثیر فشار افزایش می‌یابد. از آنجا که میان‌کنش فشار با دما و نمک معنی‌دار نشد، نمودار تأثیر فشار به صورت تک عاملی بررسی شد. مشخص است که افزایش فشار تا ۵۰ بار باعث کاهش چشم‌گیری در اسپن اندازه ذرات شد، اما اعمال فشار بیش‌تر تا ۱۰۰ بار، تأثیر چندانی بر آن نداشت. اثر متقابل فشار و نمک بر اندیس پایداری امولسیون نیز نشان می‌دهد که بدون حضور نمک افزایش فشار اندیس پایداری را افزایش می‌دهد، اما در غلظت نمک ۰.۵٪ افزایش فشار بر پایداری بی‌تأثیر است. افزایش فشار هموزنایزر بر زرده، بر مدول ذخیره امولسیون حاصل از آن نیز اثر مثبت داشت و باعث افزایش قدرت ساختار شد.

۵- نتیجه گیری

در این مطالعه برهم‌کنش دما و نمک در اغلب موارد (سه پاسخ از چهار پاسخ مورد مطالعه) معنی‌دار شد. افزایش دما بدون حضور نمک با دناتوراسیون پروتئین‌های زرده خاصیت امولسیون‌کنندگی

پایداری داشته باشد، اما با افزایش عدد اسپن و غیر یکنواختی ذرات در نهایت بر پایداری اثر معنی‌داری نداشت. واضح است که کاهش اندازه ذرات به دلیل افزایش سطح گلبول‌های چربی به پروتئین بیش‌تری برای امولسیفایری نیاز دارد. از آنجا که میزان پروتئین مورد استفاده (پروتئین زرده) در این مطالعه ثابت نگه داشته شده است، احتمالاً پروتئین موجود برای پوشاندن سطح ذرات ریز شده کافی نیست و ناپایداری فیزیکی پس از آن را در پی دارد [۱۷]. افزایش دما تا 64°C بدون حضور نمک احتمالاً با دناتوراسیون پروتئین‌های زرده خاصیت امولسیون‌کنندگی آن را تا حدودی کاهش می‌دهد. حساس‌ترین پروتئین زرده به حرارت LDL^4 (لیپوپروتئین با چگالی کم) است که در دمای بالای 60°C تحت تأثیر قرار می‌گیرد. از طرفی بیش‌ترین نقش امولسیون‌کنندگی زرده را به LDL به دلیل انعطاف‌پذیری ساختار و هیدروفوب بودن بیشتر سطح آن نسبت داده‌اند که امکان قرار گرفتن در لایه بین سطحی امولسیون را هموار می‌کند [۱۸].

بین فاکتورهای خطی، نمک بیش‌ترین تأثیر را بر مدول ذخیره و اندیس پایداری امولسیون داشت. افزایش نمک موجب افزایش قدرت ساختار امولسیون از طریق افزایش G'_{LVR} ، کاهش در اندازه ذرات و اسپن اندازه ذرات و در نهایت افزایش پایداری امولسیون شد. مشخص شده است که ماتریس‌های امولسیون حاوی پروتئین به شدت تحت تأثیر قدرت یونی قرار می‌گیرند. ضمن اینکه مطالعات مختلفی نشان داده است که پایداری امولسیون در حضور نمک تا غلظت مشخصی بهبود می‌یابد. در این مطالعه افزودن نمک تا ۰.۵٪ به زرده قبل از پاستوریزاسیون، موجب بهبود ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی آن شد. مطالعات پژوهشگران پیشین نشان داد که حضور نمک در فرایند حرارتی زرده تخم‌مرغ باعث افزایش دمای دناتوراسیون (T_D) پروتئین‌های آن می‌شود. بررسی اثر متقابل دما و نمک بر G'_{LVR} و Span نشان می‌دهد که نمک نه تنها در حذف اثر سوء دما روی قدرت ساختار و یکنواختی ذرات، بلکه در جهت بهبود آن‌ها عمل کرده است. گزارش شده که افزودن نمک به سوسپانسیون‌های زرده تخم‌مرغ موجب متراکم و توده‌ای شدن پروتئین‌ها می‌شود. نمک با تأثیر بر پیوندهای هیدروژنی از میان‌کنش بین مولکول‌های آب و گروه‌های آبدوست در زنجیره پروتئینی ممانعت کرده و موجب دلمه‌ای شدن در

4. Low Density Lipoprotein

- and egg yolk fractions. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2001;21(1-3):137-47.
7. Ibanoglu E, Erçelebi EA. Thermal denaturation and functional properties of egg proteins in the presence of hydrocolloid gums. *Food Chemistry*. 2007;101(2):626-33.
- [8] Daimer K, Kulozik U. Impact of a thermal treatment at different pH on the adsorption behaviour of untreated and enzyme-modified egg yolk at the oil-water interface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010;75(1):19-24.
- [9] Guilmineau F, Kulozik U. Influence of a thermal treatment on the functionality of hen's egg yolk in mayonnaise. *Journal of Food Engineering*. 2007;78(2):648-54.
- [10] Strixner T, Kulozik U. 7 - Egg proteins. In: Phillips GO, Williams PA, editors. *Handbook of Food Proteins*: Woodhead Publishing; 2011. p. 150-209.
- [11] Anton M, Chapleau N, Beaumal V, Delépine S, de Lamballerie-Anton M. Effect of high-pressure treatment on rheology of oil-in-water emulsions prepared with hen egg yolk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2001;2(1):9-21.
- [12] Telis-Romero J, Thomaz CEP, Bernardi M, Telis VRN, Gabas AL. Rheological properties and fluid dynamics of egg yolk. *Journal of Food Engineering*. 2006;74(2):191-7.
- [13] Herald TJ, Abugoush M, Aramouni F. PHYSICAL AND SENSORY PROPERTIES OF EGG YOLK AND EGG YOLK SUBSTITUTES IN A MODEL MAYONNAISE SYSTEM. *Journal of Texture Studies*. 2009;40(6):692-709.
- [14] Pearce KN, Kinsella JE. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1978 1978/05/01;26(3):716-23.
- [15] Chen H, Wu F, Duan X, Yang N, Xu Y, Xu B, et al. Characterization of emulsions prepared by egg yolk phosvitin with pectin, glycerol and trehalose. *Food Hydrocolloids*. 2013;30(1):123-9.
- [16] Ferreira SLC, Bruns RE, Ferreira HS, Matos GD, David JM, Brandão GC, et al. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta*. 2007;597(2):179-86.

آن را تا حدودی کاهش می‌دهد. نمک قابلیت حفظ و بهبود ویژگی‌های امولسیون کنندگی زرده را طی فرایند حرارتی داراست و اثرات سوء دما را بر امولسیون کنندگی از بین می‌برد. اعمال فشار توسط هموژنایزر قبل از پاستوریزاتور نیز با تأثیر مثبت بر یکنواختی ذرات و قوام ساختار ویژگی‌های امولسیون کنندگی زرده را بهبود بخشید. از نتایج مدل‌ها و روابط به دست آمده می‌توان در تخمین و پیش‌بینی تأثیر شرایط پاستوریزاسیون بر پایداری امولسیون و ویژگی‌های امولسیون کنندگی، در جهت افزایش کیفیت محصول زرده تخم مرغ مایع پاستوریزه بهره برد.

۶- سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله مراتب سپاس خود را از مسئولین شرکت صنایع غذایی بنا به جهت تأمین امکانات تولید و همچنین انیستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی به دلیل پشتیبانی مالی و اجرایی در جهت انجام این تحقیق اعلام می‌دارند.

۷- منابع

- [1] Stadelman WJ, Cotterill OJ. *Egg Science and Technology*: Food Products Press, an imprint of the Haworth press, Inc., Binghamton, NY. 1990;(Ed. 4):136-51.
- [2] Guilmineau F, Kulozik U. Impact of a thermal treatment on the emulsifying properties of egg yolk. Part 1: Effect of the heating time. *Food Hydrocolloids*. 2006;20(8):1105-13.
- [3] Campbell L, Raikos V, Euston SR. Heat stability and emulsifying ability of whole egg and egg yolk as related to heat treatment. *Food Hydrocolloids*. 2005;19(3):533-9.
- [4] Laca A, Paredes B, Rendueles M, Díaz M. Egg yolk granules: Separation, characteristics and applications in food industry. *LWT - Food Science and Technology*. 2014;59(1):1-5.
- [5] Guilmineau F, Kulozik U. Impact of a thermal treatment on the emulsifying properties of egg yolk. Part 2: Effect of the environmental conditions. *Food Hydrocolloids*. 2006;20(8):1114-23.
- [6] Anton M, Le Denmat M, Beaumal V, Pilet P. Filler effects of oil droplets on the rheology of heat-set emulsion gels prepared with egg yolk

- [19] Martínez I, Angustias Riscardo M, Franco JM. Effect of salt content on the rheological properties of salad dressing-type emulsions stabilized by emulsifier blends. *Journal of Food Engineering*. 2007;80(4):1272-81.
- [20] Sousa RdCS, Coimbra JSR, Garcia Rojas EE, Minim LA, Oliveira FC, Minim VPR. Effect of pH and salt concentration on the solubility and density of egg yolk and plasma egg yolk. *LWT - Food Science and Technology*. 2007;40(7):1253-8.
- [17] McClements DJ. Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2004;9(5):305-13.
- [18] Blume K, Dietrich K, Lilienthal S, Ternes W, Drotleff AM. Exploring the relationship between protein secondary structures, temperature-dependent viscosities, and technological treatments in egg yolk and LDL by FTIR and rheology. *Food Chemistry*. 2015;173(0):584-93.

Effect of pasteurization conditions and salt on emulsifying characteristics of liquid egg yolk

Shabkoohi-Kakesh, B¹, Nayebzadeh, K. ^{2*}, Mohammadifar, M. A. ³

1. M.Sc. in Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Assistant prof., Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Associate prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2015/01/11 Accepted: 2015/03/02)

Production of pasteurized liquid egg is a new technology in Iran. The main objective of egg pasteurization is manufacture of a safe product microbiologically, but lack of control of process causes remarkable irreparable damage to its properties such as emulsifying and it leads to financial loss, so protection of egg quality is a basic factor during pasteurization. Egg yolk with certain pasteurization conditions was produced and used as emulsifier for production of oil in water emulsion (30%) based on Box-Behnken design of experiments. Rheological properties were studied using Rheometer, particle size distribution by laser light scattering technique, and emulsion stability index according to turbidity measurement. Impact of temperature, NaCl and pressure on studied factors were evaluated by response surface methodology, and quadratic polynomial model was obtained for each response. To summarize, temperature increasing in lack of salt resulted in decrease of emulsifying characteristic of yolk due to denaturation of its proteins. NaCl retains the emulsifying of egg yolk as a result of protection against adverse effect of temperature during pasteurization. Following this further, homogenization pressure improves the emulsifying of egg yolk by uniformity of particle size and consistency. According to our findings, the results of available models are useful to estimate the impact of pasteurization conditions on responses in order to increase the quality of pasteurized liquid egg yolk.

Keywords: Emulsion, Pasteurization, Liquid egg yolk, Salt, Response surface

* Corresponding Author E-Mail Address: Knayebz@sbmu.ac.ir