

Afslutningsrapport

Synerese i løbegeler

Mejeribrugets ForskningsFond

Rapport nr. 1999-30

December 1999



mejeriforeningen

danish dairy board

Afslutningsrapport til Mejeribrugets ForskningsFond
for samarbejdsprojektet

Synerese i løbegeler

Stig B. Lomholt
Karsten B. Qvist

Mejeri- og Levnedsmiddelinstittet
Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole
Frederiksberg 1999

Resumé

Under osteproduktion skal hovedparten af mælkens vand udskilles fra den dannede løbegel ved synerese, mens det i syrnede mælkeprodukter er af stor betydning for kvaliteten at synerese ikke finder sted. Det er derfor væsentligt at kunne styre synerese for at styre produktkvaliteten af mange mejeriprodukter.

Formålet med dette projekt har derfor været nærmere at undersøge mekanismerne bag synerese og sammenhænge mellem koaguleringens og geldannelsens forløb og synerese.

I projektet er udviklet en ny metode baseret på Low Resolution NMR til måling af såkaldt endogen synerese, det vil sige synerese der finder sted uden ydre mekanisk påvirkning af gelen. Denne metode er både hurtig og nem at anvende i praksis.

Projektet har vist, at der er nær sammenhæng mellem den hastighed hvormed gelens fasthed stiger, og hastigheden af synerese. Det er også vist at løbekoncentrationen har en klar effekt på synerese, når man sammenligner gellerne når de har samme fasthed.

En matematisk model for endogen synerese er blevet forfinet og eftervist. Dette viser at endogen synerese afhænger af to faktorer: syneresetrykket, der er drivkraften bag gelens sammentrækning, og permeabiliteten, der udtrykker hvor let vollen kan flyde gennem gelen, og afhænger af gelens struktur.

Projektets resultater har således vist, at der er nær sammenhæng mellem koagulering, gel dannelse samt gelstruktur og synerese, og øget den eksisterende viden om disse sammenhænge.

Summary

During cheesemaking the main part of the water is expelled from the casein gel by syneresis. In most other acidified dairy products syneresis must be avoided to keep a stable product of good quality. It is thus important to be able to control syneresis during production of many dairy products.

The aim of this project was to investigate the mechanisms behind syneresis and relations between milk coagulation and gelation, and syneresis.

A new method based on Low Resolution NMR has been developed for the measurement of endogenous syneresis, i.e. syneresis without mechanical handling of the gel. The method is fast and easy to use.

The results have shown a close relation between the rate of increase of gel firmness and the rate of syneresis. It was also shown that the concentration of rennet has a clear effect on syneresis when gels are compared at the same firmness.

A mathematical model for endogenous syneresis has been improved and tested. The results show that two factors determine endogenous syneresis: the syneresis pressure, which is the driving force behind the shrinkage of the gel, and the permeability, a measure of the resistance to flow through the gel, depending on the gel microstructure.

The results have thus shown relations between milk coagulation, gelfirming and gel structure, and syneresis, and contributed new knowledge about these relations.

Baggrund

Konsistens og vandindhold er afgørende egenskaber i forbindelse med kvaliteten af ost. Det er derfor af stor betydning at kunne styre disse egenskaber, dels i produktionen, hvor man ønsker at kunne fremstille et ensartet produkt, dels ved arbejdet med produkt og procesudvikling, hvor man ønsker at kunne skabe produkter med særlige egenskaber. Ikke mindst ved introduktion af nye procesteknologier, er det væsentligt at vide hvordan egenskaber som konsistens og vandindhold påvirkes og styres. For at kunne dette kræves en grundlæggende viden om hvordan disse egenskaber afhænger af mælkens sammensætning og de kemiske og fysiske processer, der finder sted under fremstillingen samt hvordan teknologiske variable influerer på disse processer.

Under ostefremstilling tilsættes løbeenzym til mælken. Løbeenzymet bryder Phe₁₀₅-Met₁₀₆-bindingen i κ -kasein, hvilket medfører at kaseinet begynder at aggregere og danner en gel. Den dannede gel indeholder alle mælkens bestanddele, herunder hele væskefasen. Et essentielt trin i ostefremstillingen er udskillelsen af hovedparten af vandfasen, i form af valle, fra den dannede kaseingel. Denne proces hvorved gelen trækker sig sammen og udskiller valle kaldes synerese. Forløbet af syneresen er således afgørende for den færdige osts vandindhold og konsistens. Den dannede løbegel vil ikke umiddelbart undergå synerese uden påvirkninger udefra, gelen skæres derfor i mindre stykker, som under mekanisk omrøring udskiller væske.

Det vides at en række af de faktorer, der påvirker løbeokoaguleringsprocessen har indflydelse på strukturen af den dannede gel. Dette gælder f.eks. temperatur og CaCl₂-koncentration, pH og kaseinkoncentrationen. Det vides ligeledes at disse faktorer har indflydelse på syneresen, men koagulering og synerese har ikke tidligere været beskrevet i sammenhæng. Traditionelt har man betragtet systemet indtil en gel er dannet og systemet efter geldannelsen som to forskellige systemer styret af forskellige mekanismer og kræfter. Imidlertid er der tale om et system der fra en ligevægtstilstand (mælk uden løbeenzym), efter ændring af interaktionskræfterne mellem partiklerne ved tilsætning af løbeenzym, bevæger sig mod en ny ligevægtstilstand. Udfra en kolloidkemisk betragtning er der således tale om en kontinuerlig proces styret af de samme kræfter nemlig interaktion mellem partiklerne og termisk bevægelse.

Formål

Formålet med dette projekt har været at undersøge teknologiske parametre s indflydelse på den samlede proces fra løbetilsætning til og med synerese, og at opnå en sammenhængende beskrivelse af hele processens forløb. Herved ønskedes afklaret i hvilket omfang og hvordan syneresen afhænger af geldannelsesprocessen og gelens struktur, og i hvilket omfang den kan reguleres uafhængigt heraf En sådan beskrivelse vil kunne anvendes i mejeriindustriens arbejde med styring af produktkvaliteten samt udvikling af nye produkter og processer.

Resultater

NMR metode til måling af endogen synerese

Da et væsentligt mål for projektet var at undersøge sammenhænge mellem aggregering/geldannelse samt gelens egenskaber og dens evne til synerese, var det interessant at kunne måle den synerese gelen udviser uden udefra kommende mekanisk påvirkning, såkaldt endogen synerese. Til dette formål blev en metode baseret på Low Resolution NMR (LR-NMR) udviklet (3). Ved LR-NMR er det muligt at måle såkaldt spin-spin relaksation for protoner i prøvens vandmolekyler. I et NMR eksperiment placeres prøven i et permanent magnetfelt, der vil påvirke protonernes magnetisering. Med et radio signal kan protonernes magnetisering ændres, når radio signalet stoppes igen vil protonerne gå tilbage til den magnetisering, der induceres af det permanente magnetfelt. Denne "relaksation" til den oprindelige magnetisering kan måles som et henfald af den inducerede magnetisering og hastigheden kan karakteriseres ved spin-spin relaksationstiden (T_2). I metoden udnyttes at T_2 afhænger af de omgivelser vandmolekylerne befinder sig i, f.eks. vil tilstedeværelsen af andre stoffer såsom protein påvirke T_2 . Har man således en løbegel, der har udskilt valle, vil T_2 for vandprotoner inde i gelen være meget mindre end T_2 for vandprotoner i den udskilte valle. Fig. 1 viser spin-spin relaksation for to prøver. Den ene er en løbegel uden synerese. Her ses et forholdsvis hurtigt henfald af magnetiseringen. I den anden prøve er der ovenpå løbegelen lagt en tilsvarende mængde vand. Det ses at der nu udover det hurtigt henfaldende signal fra gelen er kommet et langsommere henfaldende signal, der stammer fra det frie vand. Ved matematisk analyse er det muligt at skille de to signaler og ud fra disse bestemme, hvor meget vand der er henholdsvis i gelen og udenfor gelen. Dette er nærmere beskrevet i (3). Henstår gelen efter at vand er tilsat ses at signalet ændrer sig: signalet fra vand udenfor gelen stiger og signalet fra vand i gelen mindskes tilsvarende, hvilket betyder at væske udskilles af gelen. Der foregår altså synerese og dette kan måles med NMR. Fordelene ved NMR metoden er at den, selvom teorien kan forekomme kompliceret, er meget enkel og hurtig at udføre, at mange prøver kan måles på kort tid, og at målingerne kan foretages fuldstændig uden mekanisk håndtering af gelen og uden at skille gel og valle ad.

Sammenhænge mellem reologiske egenskaber og synerese

Efter en løbegel er dannet, er det ikke et statisk materiale, dets egenskaber ændres med tiden. Gelfastheden stiger og strukturen af proteinnetværket ændres på mikroskopisk niveau (se f.eks. (1)).

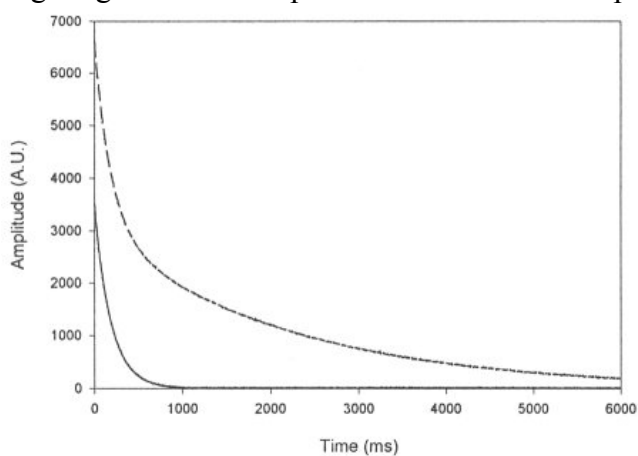


Fig. 1. Spin-spin relaksation fra Low Resolution NMR målinger på en intakt løbegel (—) og en løbegel umiddelbart efter at en tilsvarende mængde vand er tilsat (---). Figur fra (3)

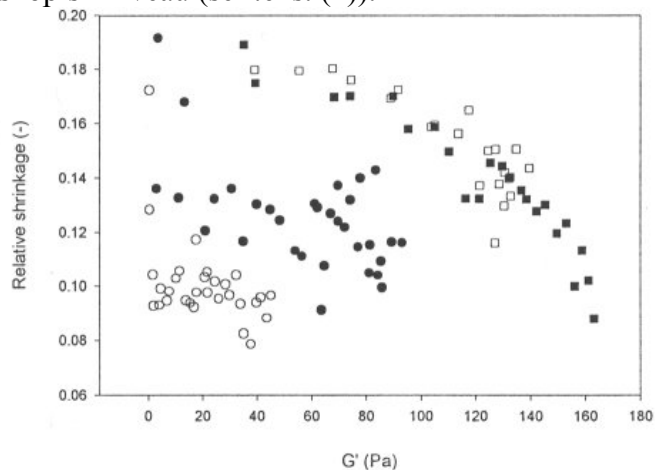


Fig. 2. Gelens sammentrækning som funktion af G' ved to forskellige pH værdier og to løbekoncentrationer: pH 6.65 og 0.02 % løbe (○), pH 6.65 og 0.1 % løbe (●), pH 6.40 og 0.02 % løbe (□) og pH 6.40 og 0.05 % løbe (■). Figur fra (3)

Det kunne derfor forekomme naturligt at også evnen til endogen synerese ændres med tiden, og at der er sammenhæng mellem reologiske egenskaber og synerese. For at undersøge dette udførtes en række forsøg med mælk med forskellige pH-værdier, forskellige tilsætninger af CaCl_2 , og med forskellig temperatur og løbekoncentration. De reologiske egenskaber blev fulgt under koagulering og efter dannelse af gelen, og synerese blev startet til forskellige tidspunkter og hastigheden målt. Resultaterne er præsenteret i (3). Det viste sig at faktorer, der øger hastigheden af aggregeringen og geldannelsen generelt også øger syneresehastigheden. Dette gælder for sænkning af pH, højere temperatur, tilsætning af CaCl_2 og højere løbekoncentration. De førstnævnte effekter er kendte, mens det ikke tidligere har været vist at løbekoncentrationen har en klar effekt. Dette kan skyldes måden at opgøre resultaterne på. Sammenligner man to prøver med forskellig løbekoncentration er det klart, at koagulering og geldannelse går hurtigst i den prøve med højest løbekoncentration. Starter man derfor syneresen til samme tid i de to prøver, vil denne prøve være nået længst og dermed være fastere end den med mindre løbe tilsat. I fig. 2 er vist en sammenligning hvor syneresen er opgjort som funktion af gelens fasthed på det tidspunkt, hvor syneresen startes. Det ses her at syneresen går hurtigst ved den højeste løbekoncentration. Det er interessant at denne effekt ses også selvom synerese startes på et tidspunkt længe efter at al κ -kasein er fuldstændigt spaltet, det vil sige efter enzymets funktion er afsluttet. Dette må skyldes at hastigheden af aggregeringen af kaseinmiceller inden spaltningen er tilendebragt har betydning for den dannede proteinstruktur og dennes egenskaber. Dette bekræfter sammenhæng mellem kinetikken i starten af løbekoaguleringsprocessen og syneresen.

I fig. 3 vises resultater fra alle de udførte forsøg. Figuren viser syneresehastigheden som funktion af dG'/dt , altså hastigheden hvormed gelfastheden udtrykt ved G' stiger. Det ses at alle data falder tæt omkring den samme kurve. Dette viser, at der er en universel sammenhæng mellem syneresehastigheden og den hastighed, hvormed gelfastheden stiger. Dette har ikke tidligere været vist og illustrerer igen den tætte sammenhæng mellem kinetikken for koagulering og geldannelse og synerese. Resultatet bekræftet også formodningen om, at det grundlæggende er de samme mekanismer, nemlig omstrukturering af proteinnetværket, der ligger bag både stigning i gelfastheden og synerese. Dette er yderligere diskuteret i (3).

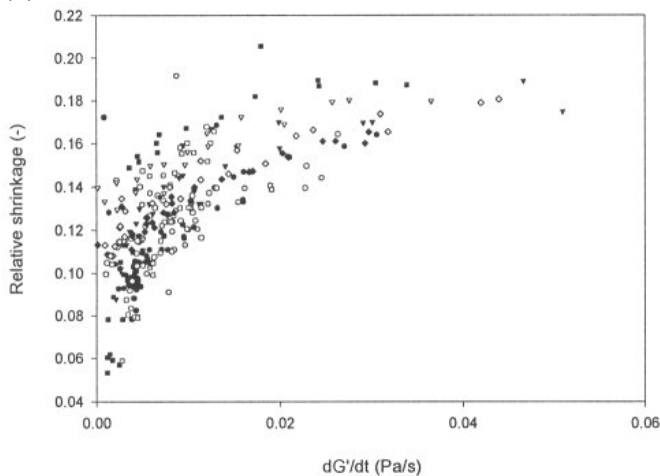


Fig. 3. Gelens sammentrækning som funktion af dG'/dt for forsøg hvor temperaturen varierer 30-35 °C, pH 6.40-6.65, CaCl_2 tilsætning 0-2 mM og forskellige løbekoncentrationer. Se (3) for nærmere forklaring

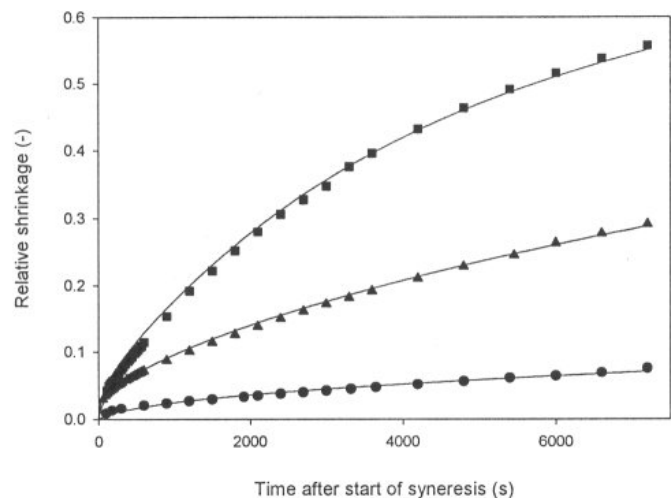


Fig. 4. Gelens sammentrækning som funktion af tiden målt eksperimentelt ved tre forskellige temperaturer: (●) 20 °C, (▲) 30 °C og (■) 40 °C. Fuldt optrukne linier er resultater fra modelberegninger. Figur fra (2)

Modellering af endogen synerese

For yderligere at belyse sammenhænge mellem kinetik, struktur og synerese ønskedes det at efterprøve en tidligere fremsat matematisk model for endogen synerese. Modellen er nærmere beskrevet i (2) og referencer deri. Modellen blev fremsat i begyndelsen af 80'erne, men den tilgængelige computerkraft på det tidspunkt muliggjorde ikke en grundig efterprøvning. Modellen blev derfor forsøgt efterprøvet med nutidens computerkraft og blev forfinet undervejs. Ifølge modellen afhænger hastigheden af endogen synerese hovedsageligt af to parametre: permeabiliteten og det endogene syneresetryk (P_s). Permeabiliteten udtrykker modstanden i gelen mod væskeflow, altså hvor let vollen kan flyde igennem gelnetværket, og afspejler proteinnetværkets struktur. Syneresetrykket er det tryk gelens sammentrækning udøver på vollen, og som får vollen til at flyde ud af gelen. Syneresetrykket er således et direkte mål for drivkraften bag gelens sammentrækning. Kendes syneresetrykket og permeabiliteten af gelen, kan det beregnes hvordan den vil trække sig sammen over tiden. Det er ikke muligt at bestemme syneresetrykket uafhængigt, hvorimod både permeabiliteten og sammentrækningen kan måles. Udfra disse kan man med modellen beregne syneresetrykket. I fig. 4 er vist et eksempel med tre målinger af gelens sammentrækning sammenlignet med modellens forudsigelser. Det viser god overensstemmelse mellem forsøg og model, det er således muligt at beskrive endogen synerese med modellen, og modellen kan bruges til at beregne syneresetrykket, altså drivkraften bag syneresen. Resultaterne bekræfter også at synerese afhænger af gelens struktur, i modellen udtrykt ved permeabiliteten.

Konklusion

Der er udviklet en metode baseret på LR-NMR til måling af endogen synerese. Metoden er hurtig og nem at bruge i praksis. Projektets resultater har vist, at der er nær sammenhæng mellem kinetikken for koagulering og geldannelse og synerese. Specielt er vist en universel sammenhæng mellem hastigheden hvormed gelens fasthed stiger og hastigheden af synerese. Det er vist at endogen synerese kan modelleres matematisk og at syneresen hovedsageligt bestemmes af to parametre: syneresetrykket, der er et mål for drivkraften bag synerese, og permeabiliteten, der udtrykker hvor let vollen kan flyde igennem gelen.

Publikationer

Videnskabelige monografier

1. S.B. Lomholt & K.B. Qvist
The formation of cheese curd
I: Technology of cheesemaking, ed. B.A. Law, Sheffield Academic Press, Sheffield, UK (1999)

Artikler i internationale tidsskrifter

2. S.B. Lomholt, T. van Vliet & P. Walstra
Modelling syneresis of rennet curd. Effect of pH and temperature
In preparation (1999)
3. S.B. Lomholt & K.B. Qvist
Endogenous syneresis and rheological properties of rennet curd
In preparation (1999)

Indlæg ved kongresser, symposier o.l.

4. S.B. Lomholt
NMR studies of curd syneresis
Oral presentation. Cheese Texture, Besancon, Frankrig, 26-28/11-97
5. S.B. Lomholt & K.B. Qvist
Syneresis and rheological properties of rennet gels
Poster. Food Colloids, The Royal Society of Chemistry, Sevilla, Spain 16-18/3-98
6. S.B. Lomholt & K.B. Qvist
Gel firming rate of rennet curd as a function of rennet concentration
Poster. Caseins and Caseinates: Structures, Interactions, Networks. Hannah Research Institute, Ayr, Skotland, 21-23/5-97

Faglige artikler

7. S.B. Lomholt & K.B. Qvist
Synerese
Mælkeritidende (1998) 111, 436-437
8. S.B. Lomholt & K.B. Qvist
Synerese i løbegeler
Mælkeritidende (1999) in preparation

Redegørelse for forskeruddannelse herunder tilknyttede gæsteforskere og udstationering

Forskningsadjunkt Stig B. Lomholt var i perioden 01.01.-30.06 1998 udstationeret ved Food Physics Group, Department of Food Science, Wageningen Agricultural University, Holland.

Redegørelse for samarbejdsrelationer nationalt og internationalt

I forbindelse med Stig B. Lomholts udstationering er der samarbejdet med Ton van Vliet, Pieter Walstra og Michel Mellema, Food Physics Group, Department of Food Science, Wageningen Agricultural University, Holland

Vurdering af resultaternes praktiske og videnskabelige betydning

Projektet har givet ny viden om mekanismer bag endogen synerese og sammenhænge mellem forløbet af mælkens koagulering, geldannelse samt struktur og synerese. Synerese er af væsentlig betydning i flere mejeriprodukter. Under osteproduktion ønskes en høj grad af synerese, ved fremstilling af f.eks. syrnede mælkeprodukter er synerese uønsket. Den opnåede viden forventes at øge mulighederne for at udvikle styringen af produktionsprocesser og produktkvalitet.

