

بررسی تأثیر کونژوگه پروتئین آب پنیر - نشاسته بر شاخص‌های کیفی امولسیون روغن در آب

علیرضا صادقیان^۱، رسول کدخدایی^{۲*}، رضا فرهوش^۳، آرش کوچکی^۴، مسعود نجف نجفی^۵

- ۱- دانشجوی دکترای گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۲- دانشیار گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی
* نویسنده مسئول (r.kadkhodae@rifst.ac.ir)
- ۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۴- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۵- استادیار گروه صنایع غذایی، مجتمع آموزش عالی جهاد کشاورزی خراسان رضوی

چکیده

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۳/۰۴
تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۶/۱۰

واژه‌های کلیدی

امولسیون
پروتئین آب پنیر
رفتار جریان
نشاسته اصلاح شده
واکنش میلارد

پروتئین آب پنیر کاربرد گسترده‌ای در تهیه و پایدارسازی امولسیون‌های غذایی دارد، اما به علت حساسیت به شرایط محیطی ویژگی‌های کارکردی آن به سرعت دستخوش تغییر می‌شود. گلیکوله کردن این زیست بسپار یکی از راه‌های اصلاح ساختار و بهبود خواص عملکردی آن است. پژوهش حاضر با همین رویکرد و با هدف تهیه کونژوگه پروتئین آب پنیر- نشاسته و بررسی تأثیر نسبت‌های مختلف پروتئین- پلی‌ساکارید بر شاخص‌های کیفی امولسیون روغن در آب انجام شد. نتایج حاکی از این بود که بار الکتریکی سطحی با افزایش نسبت نشاسته به پروتئین کاهش یافت. از سوی دیگر نوسانات کشش سطحی و بین سطحی در پاسخ به تغییرات نسبت وزنی جزء پروتئینی از روند مشخصی پیروی نکرد. منحنی‌های توزیع اندازه قطرات برای همه نمونه‌ها تک قله‌ای و تقریباً نرمال بود و در نسبت وزنی ۱:۱ به صورت کاملاً باریک با کمترین پهنا دیده شد. کوچکترین و بزرگترین اندازه قطره به ترتیب در نمونه یاد شده و نمونه دارای نشاسته مشاهده گردید. بررسی رفتار جریان امولسیون‌ها نیز مشخص ساخت که نمونه حاوی نشاسته رفتار نزدیک به نیوتنی و سایر نمونه‌ها رفتار شبه پلاستیک رقیق شونده با برش از خود بروز دادند. این رفتار با افزایش نسبت پروتئین ملموس‌تر شد به طوری که نسبت ۱۰۰٪ به بیشینه ضریب قوام و کمینه شاخص رفتار جریان منجر گردید.

مقدمه

بین این روش‌ها، روش شیمیایی نظیر استیلناسیون، آلکیلاسیون، آمیدیناسیون و استریفیکاسیون به جهت اثرات سوئی که بر سلامت مصرف کننده می‌گذارد با اقبال چندانی روبرو نیست؛ با این حال در دهه گذشته استفاده از واکنش میلارد به عنوان یکی از کارآمدترین و در عین حال ایمن‌ترین روش‌های شیمیایی تهیه

اصلاح ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی برای استفاده در فرمولاسیون و فرآوری مواد غذایی از جمله موضوعات اساسی است که توجه متخصصین و پژوهشگران این حوزه را به خود جلب کرده است. در

تغذیه‌ای بالایی برخوردار است. این پروتئین از سه فراکسیون اصلی بتا-لاکتوگلوبولین، آلفا-لاکتالبومین و سرم آلبومین گاوی تشکیل شده که فعالیت سطحی در خور توجهی را برای آن ایجاد می‌کنند. این ویژگی‌ها و هزینه پایین آن باعث شده که به طور وسیعی به عنوان امولسیفایر به تنهایی و یا همراه با پلی‌ساکاریدها در صنایع غذایی بکار برده می‌شود (Dickinson, 2008). با این حال نسبت به شرایط محیطی بسیار حساس است و در غلظت‌های بالا از طریق ایجاد برهم‌کنش‌های هیدروفوبی و واندروالسی باعث ناپایداری امولسیون‌ها می‌شود. همچنین اختلاط آن با هیدروکلوئیدها غالباً موجب وقوع ناسازگاری ترمودینامیکی شده و به از هم‌گسیختگی فازی و شکست امولسیون می‌انجامد (Turgeon *et al.*, 2003). اتصال کووالانسی پلی‌ساکارید و گلیکولاسیون پروتئین یکی از روش‌های مورد توجه در رفع این مشکلات است و از این رو تاکنون پژوهش‌های متعددی با هدف اصلاح ویژگی‌های عملکردی پروتئین آب‌پنیر، پروتئین شیر، کازئینات سدیم، پروتئین تخم‌مرغ، سویا و برنج با استفاده از واکنش میلارد انجام شده و تأثیر اتصال منو، الیگو و پلی‌ساکاریدهای مختلف از قبیل زانتان، پکتین، صمغ عربی، مالتودکسترین، دکستران، صمغ شنبلیله و گالاتومانان‌ها بر این خصوصیات مورد بررسی قرار گرفته است (Corzo-Martínez, 2010; Akhtar & Dickinson, 2007; Einhorn-Stoll *et al.*, 2005; Fechner *et al.*, 2007; Ibanoglu & Ercelebi, 2007; Diftis & Kiosseoglou, 2003; Xue *et al.*, 2013; Kasran *et al.*, 2013; Benichou *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2009). این حال بهبود خواص امولسیون‌کنندگی WPC از طریق گلیکوکونژوگاسیون آن با نشاسته به عنوان یکی از فراوان‌ترین و ارزان‌ترین کربوهیدرات‌ها مطالعه نشده است. از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر کونژوگه WPC-نشاسته اصلاح شده بر تشکیل و ثبات امولسیون روغن در آب انجام گردید. شایان ذکر است که استفاده از نشاسته اصلاح شده به جای نشاسته طبیعی اولاً با رویکرد حفظ تعادل آبدوستی-آبگریزی ملکول نهایی و ثانیاً به لحاظ سهولت انحلال در آب و ایجاد پودر همگن با پروتئین صورت گرفت.

گلیکوکونژوگه‌ها و یا اصطلاحاً نئوگلیکوپروتئین‌ها در کانون توجهات قرار گرفته (Oliver *et al.*, 2006) و با اهداف گوناگونی از جمله بهبود حلالیت بویژه در محدوده نقطه ایزوالکتریک، افزایش مقاومت حرارتی، اصلاح خاصیت امولسیون‌کنندگی، تشکیل کف و ژل‌دهندگی، کاهش آلرژی‌زایی و تقویت قدرت ضد اکسایشی و ظرفیت نگهداری آب پروتئین‌ها بکار برده شده است (O'Regan & Mulvihill, 2010; Sun *et al.*, 2006). این ویژگی‌ها در مراحل اولیه واکنش میلارد یعنی پس از اتصال کووالانسی گروه کربونیل احیا کننده کربوهیدرات به گروه آمینی آزاد پروتئین (گروه آمین ε در اسید آمینه لیزین)، تشکیل باز شیف و به دنبال آن نوآرایی آمادوری بروز پیدا می‌کنند و محصولات مراحل میانی و یا نهایی این واکنش فاقد اثرات یاد شده هستند.

کربوهیدرات‌ها بویژه پلی‌ساکاریدها علی‌رغم خواص عملکردی برجسته‌ای که در افزایش قوام و گرانروی، تشکیل ژل و تثبیت امولسیون‌ها و کف‌ها دارند، به علت عدم برخورداری از فعالیت سطحی مناسب فاقد قدرت امولسیون‌کنندگی هستند. اما گلیکوکونژوگه‌هایی که در واکنش میلارد ایجاد می‌شوند تلفیقی از خواص عملکردی پروتئین و کربوهیدرات را دارند، نسبت به شرایط محیطی از قبیل pH، دما و قدرت یونی کمتر حساسند و مشکلات ناشی از مخلوط فیزیکی کربوهیدرات-پروتئین نظیر ناسازگاری ترمودینامیکی و جدایش فازی و یا به هم پیوستگی نقصانی قطرات در سامانه‌های امولسیونی را به همراه ندارند. افزون بر این از طریق افزایش ضخامت و اصلاح ساختار غشای ویسکوالاستیک اطراف گویچه‌ها و بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی فاز پیوسته نه تنها در تشکیل که در ثبات و پایداری امولسیون و جلوگیری از رویه بستن و دو فاز شدن آن نقش مهمی را ایفا می‌کنند.

پروتئین آب‌پنیر (WPC) محصول جانبی فرآیند پنیرسازی است که به وفور و با قیمت نازلی در دسترس می‌باشد و از ویژگی‌های عملکردی و ارزش

مواد و روش‌ها

مواد

نشاسته اصلاح شده با نام تجاری Hi-Cap100 (نشاسته ذرت مومی با استخلاف‌های جانبی اکتینیل سوکسینات) از شرکت National Starch (انگلستان)، WPC از شرکت فریزلند (هلند) و روغن آفتابگردان با نام تجاری نینا از بازار محلی تهیه شدند. ترکیب

شیمیایی نشاسته اصلاح شده، WPC و روغن آفتابگردان بر اساس گواهی تولید کننده در جدول ۱ آورده شده است. تمامی مواد شیمیایی عمومی با درجه خلوص حداقل ۹۹ درصد از شرکت مرک آلمان خریداری گردیدند. برای تهیه محلول‌ها از آب یون‌زدایی شده دو بار تقطیر استفاده شد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی نشاسته اصلاح شده، پروتئین آب پنیر و روغن آفتابگردان

روغن آفتابگردان	Hi-Cap100	WPC	جزء شیمیایی (درصد بر مبنای وزن خشک)
۰/۰	۰/۵	۸۰/۳	پروتئین
۰/۰	۹۶/۴	۷/۰*	کربوهیدرات
۹۹/۹**	۰/۱۵	۶/۲۰	چربی
۰/۰	۳/۰	۳/۷۰	رطوبت
۰/۰۱	۰/۵	۲/۸۰	مواد معدنی

* لاکتوز

** اسیدهای چرب اشباع ۱۰-۲۰٪، تک غیر اشباعی ۲۱-۳۵٪ و چند غیر اشباعی ۵۰-۶۶٪.

آماده سازی مخلوط WPC و Hi-Cap100

نظر به اهمیت درجه یکنواختی مخلوط WPC و Hi-Cap100 در انجام واکنش مؤثر بین آن‌ها، پودر همگنی با خشک کردن محلول دو جزئی این دو ترکیب تهیه شد. به این منظور محلول‌های حاوی ۵ درصد وزنی حجمی WPC و Hi-Cap100 به تنهایی و نیز به نسبت‌های ۱:۱، ۱:۳ و ۱:۳ در بافر ۷ تهیه شدند. به این منظور وزن مشخصی از ترکیبات یاد شده به محلول بافر اضافه شد و با سرعت ۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق مخلوط گردیدند تا دیسپرسیون همگنی بدست آمد، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا جذب آب به طور کامل انجام شود. محلول‌های حاصل در خشک‌کن پاششی آزمایشگاهی (مدل B190، شرکت Büchi، کشور سوئیس) با دمای ورودی 10 ± 180 درجه سانتی‌گراد، دمای خروجی 10 ± 90 درجه سانتی‌گراد، سرعت پمپ ۱۰ میلی‌لیتر در دقیقه و سرعت جریان هوای ۶۰۰ لیتر در ساعت و فشار ۴ بار خشک شدند. به منظور جلوگیری از جذب رطوبت مجدد، پودرهای حاصله در دسیکاتور و در دمای اتاق نگهداری شدند.

تهیه کونژوگه WPC و Hi-Cap100

با توجه به نتایج حاصل از آزمون‌های مقدماتی، مخلوط‌های پودری تهیه شده در مرحله قبل به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۴ درصد نگهداری شدند تا واکنش بین پروتئین- پلی‌ساکارید انجام شود. برای تأمین رطوبت نسبی مورد نظر از محلول اشباع کربنات پتاسیم استفاده شد. به این منظور محفظه پایینی دسیکاتور از محلول نمک اشباع پر شد و به مدت ۲۴ ساعت در آن با دمای ۷۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا رطوبت داخل آن به تعادل برسد. سپس پودرهای آماده شده بلافاصله به داخل دسیکاتور منتقل شدند و اجازه داده شد تا واکنش میلارد در شرایط فوق‌الذکر صورت گیرد. پودرهای کونژوگه‌ای که به این ترتیب تهیه شدند تا زمان مصرف در ظروف کاملاً دربسته در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

تهیه امولسیون

محلول ۵ درصد وزنی- حجمی هر کدام از پودرها در بافر ۷ تهیه شدند. به این منظور وزن مشخصی از پودر همراه با ۰/۰۲ درصد بازدارنده میکروبی سدیم آزاید به محلول بافر اضافه شد و به کمک همزن

کشش سطحی و بین سطحی محلول‌های کلئیدی توسط دستگاه تنسیومتر (مدل K100 ساخت شرکت KRÜSS، آلمان) و به روش حلقه دونوی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین کشش بین سطحی از محلول ۵ درصد وزنی-حجمی زیست‌بسپارها و روغن آفتابگردان استفاده گردید. زمان تعادل برای اندازه‌گیری کشش سطحی ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شد و آزمون در دو تکرار انجام شد.

سنجش اندازه ذرات و پتانسیل زتا

پتانسیل زتای امولسیون‌ها با کمک دستگاه DLS (مدل Nano-ZS، شرکت Malvern، انگلستان) بر مبنای سنجش جابجایی الکتروفورتیک ذرات و استفاده از قانون هنری اندازه‌گیری شد: رابطه (۱)

$$U_E = \frac{2\varepsilon\xi f(ka)}{3\eta}$$

در معادله فوق U_E جابجایی الکتروفورتیک، ξ پتانسیل زتا، ε ثابت دی‌الکتریک، η گرانیروی و $f(ka)$ تابعی است که وابسته به نسبت اندازه ذره، a ، به طول دیبای می‌باشد. مقدار عددی تابع مذکور برای ذرات کوچک اندازه و محیط‌های آبی با استفاده از تقریب اسلئوکوسکی حدود ۱/۵ برآورد می‌شود.

متوسط قطر (D_{43}) و توزیع اندازه قطرات امولسیون به کمک دستگاه سنجش اندازه ذرات (مدل Analysette 22، شرکت Fritsch، آلمان) که پراکنش و شکست نور لیزر را بر مبنای مدل لورنز-می و تئوری فرانوفر به اندازه ذرات مربوط می‌سازد، اندازه‌گیری شد:

رابطه (۲)

$$D_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

در عبارات فوق n_i تعداد ذرات با قطر d_i است. برای محاسبه عدد اسپان که پهنای منحنی توزیع اندازه و شاخص یکنواختی قطر ذرات است از معادله زیر استفاده شد:

مغناطیسی با سرعت ۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۴ ساعت مخلوط گردید تا دیسپرسیون یکنواختی بدست آید. محلول‌های حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا جذب آب بصورت کامل صورت پذیرد.

برای تهیه امولسیون روغن در آب، محلول‌های کلئیدی و روغن آفتابگردان به نسبت ۸۰:۲۰ به یکدیگر اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۵۵۰ دور در دقیقه توسط همزن مغناطیسی مخلوط شدند. همگن‌سازی اولیه با استفاده از همگن‌ساز اولتراتوراکس (مدل T50، شرکت IKA، آلمان) با سرعت ۹۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه و در دمای اتاق انجام گردید و برای همگن‌سازی ثانویه امواج فراصوت (مدل VCX750، ساخت شرکت Sonics & Material، آمریکا) به کار برده شد. به این منظور امولسیون اولیه پس از انتقال به محفظه‌ای استوانه‌ای شکل و دو جداره از جنس فولاد زنگ نزن به قطر داخلی ۳ و عمق ۱۰ سانتی‌متر به مدت ۵ دقیقه در بیشینه توان اسمی دستگاه (۷۵۰ وات) و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز همگن‌سازی شد. لازم به ذکر است که انتقال امواج فراصوت از بلور پیزوالکتریک به نمونه توسط سونوترود استوانه‌ای شکلی از جنس تیتانیوم به قطر ۱۹ میلی‌متر که در عمق ۱ سانتی‌متر زیر سطح آن غوطه‌ور می‌شود، انجام گردید. دمای نمونه نیز در طول فرآیند با چرخش مداوم آب سرد در بین دو جداره استوانه در ۲۰ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته شد.

سنجش گرانیروی و ویژگی‌های رئولوژیکی

اندازه‌گیری گرانیروی ظاهری و بررسی رفتار جریان نمونه‌ها با استفاده از ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (مدل DV-III Ultra، آمریکا) انجام شد. کلیه سنجش‌ها با بکارگیری دوک SC4-18 در محدوده درجه برش 10^{-3} تا 10^3 S^{-1} و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به عمل آمد. برای مدل‌سازی رفتار جریان از نرم افزار سیگما پلات نسخه ۷ استفاده شد.

اندازه‌گیری کشش سطحی و بین سطحی

رابطه (۳)

$$\text{Span} = \frac{[d(V, 90) - d(V, 10)]}{d(V, 50)}$$

در این معادله $d(V, 10)$ ، $d(V, 50)$ و $d(V, 90)$ قطر ذرات به ترتیب در ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصد حجم جمعی می‌باشند.

تحلیل آماری

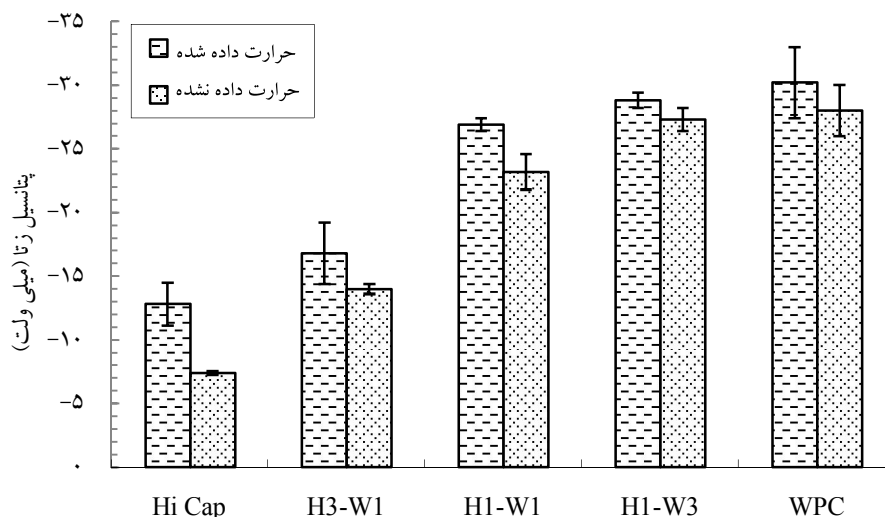
کلیه آزمایش‌ها در ۲ تکرار انجام شد. تحلیل واریانس داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی ساده با استفاده از نرم افزار Minitab 16 صورت گرفت. میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

پتانسیل زتا

پتانسیل زتا شاخصی از بار الکتریکی سطح ذرات است که به ارزیابی برهم‌کنش‌های الکتروستاتیکی بین ذره‌ای و تعیین ثبات سامانه‌های کلوئیدی کمک می‌کند. در شکل ۱ مقادیر پتانسیل زتا برای نمونه‌های مورد بررسی در $\text{pH}=7$ آورده شده است. چنان‌که ملاحظه می‌شود پتانسیل زتا برای WPC در این شرایط منفی است که چندان دور از انتظار نیست زیرا بار الکتریکی خالص این ترکیب پروتئینی در بالاتر از نقطه ایزوالکتریک (4.6 ± 0.2) آن منفی است. پتانسیل زتای مولکول‌های نشاسته نیز در این pH .

منفی می‌باشد که با در نظر گرفتن نوع استخلاف‌های زنجیره پلی‌ساکاریدی (بنیان‌های آنهیدرو اکتینیل سوکسینات) قابل توضیح است. از سوی دیگر همان‌گونه که از شکل ۱ پیداست حرارت دادن مخلوط پروتئین-نشاسته و اتصال کووالانسی این دو ترکیب با هم موجب افزایش بار الکتریکی منفی می‌شود. به نظر می‌رسد بلوکه شدن گروه‌های آمینی آزاد لیزین و نیز دناتوره شدن پروتئین و تغییر آرایش فضایی آن عوامل اصلی افزایش بار الکتریکی منفی سطحی باشند. این مطلب توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Liu & Zhang, 2013; Katsuda, 2008). افزون بر این با افزایش نسبت نشاسته به پروتئین بار الکتریکی پروتئین-نشاسته کاهش یافت و به بار الکتریکی نشاسته نزدیک‌تر گردید. اگرچه کاهش نسبت پروتئین یکی از دلایل اصلی کم شدن بار الکتریکی سطحی است، اما اثر پوشش دهی زنجیره‌های نشاسته که به صورت غشایی گرداگرد ملکول‌های پروتئین را در سطح گویچه‌های روغن احاطه کرده‌اند نیز نباید از نظر دور داشت. در این شرایط ملکول‌های نشاسته از تماس ملکول‌های پروتئین با فاز پیوسته جلوگیری کرده و باعث فروکش بار الکتریکی و در نتیجه کاهش جابجایی الکتروفوریک قطرات می‌شوند. این مطلب توسط دیگر محققین نیز تأیید و گزارش شده است (Lesmes & McClements, 2012; Wooster & Augustin, 2006).



شکل ۱- تغییرات پتانسیل زتا در نسبت‌های مختلف WPC و نشاسته اصلاح شده در $\text{pH}=7$

کشش سطحی و بین سطحی

چنانچه در جدول ۲ ملاحظه می‌شود در اثر گلیکولاسیون WPC کشش سطحی آن اندکی افزایش یافت و به کشش سطحی نشاسته نزدیک گردید. این افزایش برای نسبت‌های مختلف پروتئین- نشاسته تقریباً یکسان بود و تفاوت معنی‌داری نداشت. از سوی دیگر حرارت دادن WPC به تنهایی، کشش سطحی آن را به میزان قابل ملاحظه‌ای نسبت به نمونه حرارت داده نشده افزایش داد.

برخلاف روندی که در مورد کشش سطحی مشاهده شد، کونژوگاسیون پروتئین- نشاسته به استثنای نسبت ۱:۱ باعث کاهش کشش بین سطحی گردید. تغییرات کشش سطحی و بین سطحی یک سامانه دو فازی در حضور یک ترکیب خاص معیاری از تمایل و توانایی آن برای قرار گرفتن در حد فاصل آن دو فاز می‌باشد. معمولاً هر چه میزان جذب یک امولسیفایر در فصل مشترک دو فاز بیشتر باشد انرژی آزاد و به تبع آن کشش سطحی و بین سطحی به میزان زیادتری کاهش پیدا می‌کند. از آن جایی که در اثر حرارت دادن پروتئین و نیز انجام واکنش میلارد آرایش فضایی آن و نسبت گروه‌های آبگریز و آبدوست

در سطح تغییر می‌کند (Nagasawa *et al.*, 1996) انتظار می‌رود کشش سطحی و بین سطحی نیز دستخوش نوسان و جابجایی گردد. افزون بر این عوامل دیگری از جمله اندازه ملکولی، توزیع بار الکتریکی، انعطاف پذیری و پایداری ساختار فضایی جدید در سطح مشترک دو فاز و بالاخره برهم‌کنش‌های بین ملکولی نیز بر فشار بین سطحی و میزان جذب ترکیب آمفی‌فیلی در حد فاصل دو فاز تأثیرگذار هستند. از این رو به نظر می‌رسد در سامانه مورد مطالعه برآیند این عوامل بویژه باز شدن ساختمان متراکم پروتئین‌های کروی شکل WPC و اتصال زنجیره پلی‌ساکارییدی نشاسته به آن که باعث کاهش آب‌گریزی سطحی (Monahan *et al.*, 1995) و حجیم شدن ملکول می‌شود از یک سو و انعطاف پذیرتر شدن آن (Dickinson, 2009) و سهولت جهت‌گیری گروه‌های آبدوست و آبگریز در سطح مشترک دو فاز از سوی دیگر توجیه‌کننده نوسانات کشش سطحی و بین سطحی در کونژوگه‌های WPC- نشاسته باشد. با این حال تعیین علت دقیق آن نیاز به مطالعات تکمیلی بیشتری دارد.

جدول ۲- کشش سطحی و بین سطحی مخلوط WPC- نشاسته و کونژوگه آن‌ها در دمای ۲۵°C و pH=۷

کشش بین سطحی (mN/m)	کشش سطحی (mN/m)	محلول کلونیدی
۴/۳۳۷۵±۰/۰۸۲۵	۴۹/۱۹۴۵±۰/۹۴۲۵	WPC حرارت داده شده
۴/۸۹۴±۰/۳۲۳	۴۶/۷۲۴۵±۰/۳۹۱۵	WPC حرارت داده نشده
۳/۶۵۹±۰/۲۸۵	۴۷/۹۷۳±۰/۴۹۴	کونژوگه H۲۵:W۷۵*
۵/۴۲۹۵±۰/۴۴۲۵	۴۸/۷۸۱۵±۱/۱۷۵۵	کونژوگه H۵۰:W۵۰
۳/۵۷۸۸±۰/۳۳۰۸۵	۴۷/۵۳۴۵±۱/۲۹۶۵	کونژوگه H۷۵:W۲۵
۳/۵۷۸۸±۰/۳۳۰۸۵	۴۷/۱۶۹±۰/۴۷۳	Hi-Cap100 حرارت داده شده
۷/۸۳۹۵±۰/۸۱۱۵	۴۶/۱۱۵۵±۰/۵۱۶۵	Hi-Cap100 حرارت داده نشده

* H: Hi-Cap100, W: WPC

اندازه قطرات

گسترده‌گی در منحنی مربوط به امولسیون حاوی نشاسته اصلاح شده دیده می‌شود که مؤید پراکندگی وسیع‌تر اندازه قطرات می‌باشد. این دامنه توزیع اندازه در نمونه تثبیت شده با WPC کوچکتر و در حضور کونژوگه‌های پروتئین- پلی‌ساکارید بسیار محدودتر است به طوری که در امولسیون حاوی کونژوگه حاصل از نسبت ۱:۱ پروتئین- پلی‌ساکارید در کمینه مقدار خود می‌باشد. اصولاً کاهش پهنای منحنی توزیع اندازه

منحنی‌های توزیع اندازه قطرات امولسیون تثبیت شده با WPC، Hi-Cap100 و کونژوگه‌های حاصل از نسبت‌های مختلف آنها در pH=۷ در شکل ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، همه منحنی‌ها تک‌قله‌ای هستند که نشان‌دهنده یکنواختی توزیع اندازه قطرات در همه نمونه‌هاست. با این حال پهنای منحنی‌ها با هم متفاوت است و بیشترین

افزایش و اندازه قطرات کاهش می‌یابد که عمدتاً به دلیل باز شدن ساختمان پروتئین است. البته باید اضافه کرد که اتصال زنجیره‌های حجیم نشاسته به پروتئین و قرار گرفتن آنها در سطح قطره از طریق ایجاد دافعه فضایی مانع از نزدیک شدن آنها به هم و وقوع پدیده‌های ناپایداری می‌شود (Guo & Xiong, 2013). این ویژگی هم در مرحله تشکیل امولسیون و هم در طی نگهداری آن نقش مهمی را ایفا می‌کند. لازم به ذکر است که دافعه الکترواستاتیک سهم چندانی را در پایداری این سامانه ندارد؛ زیرا چنان‌که قبلاً ملاحظه شد محصولات واکنش میلارد پروتئین-نشاسته پتانسیل زتای بالاتری را نسبت به پروتئین به تنهایی داشتند و از این رو انتظار می‌رود نقش دافعه فضایی در پایداری قطرات غالب‌تر از دافعه الکترواستاتیک باشد.

چنان‌که ملاحظه شد کونژوگه‌های حاصل از نسبت‌های مختلف پروتئین-نشاسته قدرت امولسیون‌کنندگی و خواص سطحی یکسانی ندارند و شاخص‌های کیفی امولسیون حاصل از آنها هم متفاوت است. این موضوع توسط پژوهشگرانی که سایر کونژوگه‌های پروتئین-کربوهیدرات را مورد مطالعه قرار داده‌اند، نیز گزارش شده است (Xu et al., 2012; Kasran et al., 2013). اصولاً نسبت بهینه پروتئین-کربوهیدرات نقطه‌ای است که کونژوگه حاصل بتواند سطح بیشتری از قطرات روغن را بپوشاند و گویچه‌هایی با اندازه کوچک‌تر ایجاد نماید. این نسبت، به نوع پروتئین و کربوهیدرات وابسته است و از یک سامانه به سامانه دیگر متفاوت است. به عنوان مثال برای پروتئین آب پنیر-مالتودکسترین (Akhtar & Dickinson, 2013)، آلومین سرم گاوی-دکستران (Dickinson, E., & Semenova, 1992)، پروتئین آب پنیر-دکستران (Akhtar & Dickinson, 2003) و صمغ شنبلیله-پروتئین پساب سویا (Kasran et al., 2013) نسبت بهینه به ترتیب ۱:۱ یا ۲:۱، ۳:۱ و ۳:۱ یا ۵:۱ تعیین شده است. در مطالعه حاضر نسبت بهینه پروتئین-نشاسته ۱:۱ است و سایر نسبت‌ها خاصیت امولسیون‌کنندگی مناسبی ندارند. به نظر می‌رسد در نسبت ۱:۳ که علت کم بودن مقدار نشاسته و ناکافی بودن تعداد گروه‌های هیدروکسیل احیاکننده

به معنای کوچک بودن دامنه نوسان قطر قطرات و نزدیکی اندازه آنها به هم است و از شاخص‌های حائز اهمیت در تعیین پایداری امولسیون محسوب می‌شود. افزون بر این چنان‌که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود منحنی‌های توزیع اندازه امولسیون‌های تثبیت شده با کونژوگه پروتئین-پلی‌ساکارید در مقایسه با WPC و Hi-Cap100 به سمت چپ جابجا شده‌اند. تغییر مکان این منحنی‌ها به ناحیه اندازه قطرات کوچکتر حاکی از این است که محصول واکنش میلارد پروتئین-پلی‌ساکارید نسبت به هر یک از آنها به تنهایی در پوشش‌دهی مناسب قطرات و پایداری آنها بعد از تشکیل مؤثرتر بوده است. Mu و همکاران (۲۰۱۱) نیز در مطالعه‌ای که بر روی اثر امولسیون‌کنندگی کونژوگه ایزوله پروتئینی سویا و صمغ عربی انجام دادند نتایج مشابهی را در مورد جایجایی منحنی توزیع اندازه قطرات به نواحی با اندازه کوچکتر گزارش نمودند.

نتایج سنجش قطر متوسط قطرات نشان داد که کونژوگه WPC و Hi-Cap100 در هر سه نسبت مورد مطالعه باعث کاهش اندازه گویچه‌ها شدند، گرچه نسبت ۱:۱ کوچکترین اندازه (۰/۷۵ میکرون) را بدست داد (جدول ۳). از سوی دیگر حرارت دادن WPC به تنهایی نیز کاهش قابل ملاحظه اندازه قطرات را در مقایسه با نمونه حرارت ندیده به همراه داشت. به نظر می‌رسد کوچکتر شدن اندازه قطرات در حضور محصولات واکنش میلارد پروتئین-پلی‌ساکارید به دلایل مختلفی باشد که مهمترین آنها دناتوره شدن پروتئین و باز شدن ساختمان آن باشد که موجب می‌شود در سطح قطره به طور کامل گسترده شده و سطح آن را بخوبی بپوشاند (Kim et al., 2012; Lin et al., 2002). این ویژگی در مورد پروتئین حرارت داده نشده به لحاظ آرایش فضایی متراکمی که نسبت به نوع حرارت داده شده و یا کونژوگه دارد و بالطبع از انعطاف پذیری لازم برای باز شدن در سطح مشترک روغن-آب برخوردار نیست مشاهده نمی‌شود. نکته حائز اهمیت در این رابطه اثر هم‌افزایی کونژوگه پروتئین-پلی‌ساکارید در قدرت امولسیون‌کنندگی است. به طوری که علی‌رغم کاهش میزان پروتئین در کونژوگه‌ها پوشش‌دهی سطحی

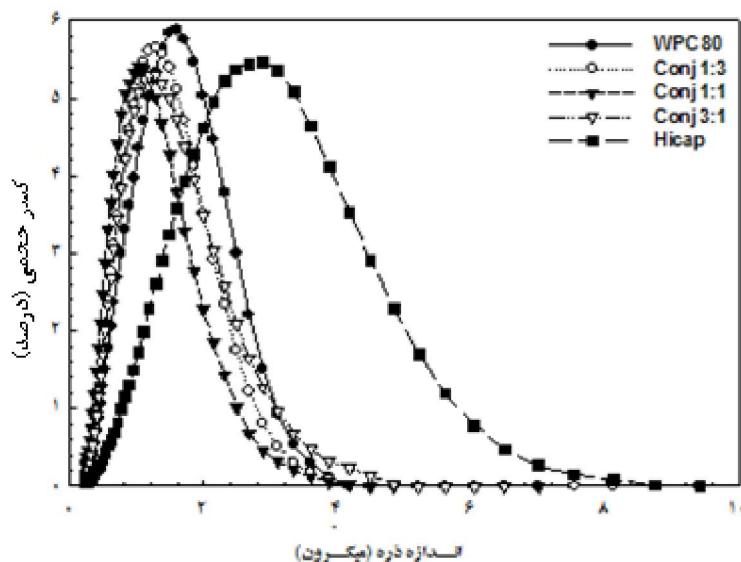
سوی دیگر در نسبت ۳:۱ نیز اندازه گویچه‌های روغن افزایش یافت. احتمال می‌رود در این شرایط ملکول‌های نشاسته مازاد که در واکنش میلارد شرکت نکرده‌اند در فاز آبی امولسیون پراکنده شده و از طریق ایجاد فلوکولاسیون نقصانی باعث رانده شدن قطرات به سمت هم و افزایش اندازه آنها شده باشند.

همه ملکول‌های پروتئین باز شیف ایجاد نمی‌کنند و در نتیجه بخشی از این ملکول‌ها بدون تغییر باقی می‌مانند. این ملکول‌ها از خاصیت آمفی‌فیلیک پایین‌تر و قدرت امولسیون‌کنندگی کمتری نسبت به انواع کونژوگه برخوردارند و به علت عدم پوشش‌دهی مناسب سطح موجب درشت شدن قطرات می‌شوند. از

جدول ۳- اندازه قطرات (d_{43}) و عدد اسپان مخلوط WPC- نشاسته و کونژوگه آن‌ها در دمای 25°C و $\text{pH}=7$

محلول کلوتیدی	d_{43} (میکرون)	عدد اسپان
حرارت داده شده WPC	$1/31 \pm 0/04$	$1/29 \pm 0/04$
حرارت داده نشده WPC	$1/63 \pm 0/03$	$1/64 \pm 0/04$
* W25: H کونژوگه ۷۵	$1/34 \pm 0/06$	$1/43 \pm 0/05$
W50: H کونژوگه ۵۰	$1/01 \pm 0/03$	$1/43 \pm 0/07$
W75: H کونژوگه ۲۵	$1/29 \pm 0/02$	$1/64 \pm 0/03$
حرارت داده شده Hi-Cap100	$2/35 \pm 0/03$	$1/41 \pm 0/05$
حرارت داده نشده Hi-Cap100	$2/94 \pm 0/05$	$2/21 \pm 0/02$

* WPC: W, Hi-Cap100:H



شکل ۲- منحنی توزیع اندازه قطرات امولسیون حاوی WPC، نشاسته اصلاح شده و کونژوگه آن‌ها در $\text{pH}=7$

می‌باشد. در این بین بارزترین رفتار غیر نیوتنی در نمونه حاوی WPC دیده شد ولی با کم شدن نسبت پروتئین در کونژوگه رو به کاهش گذاشت به گونه‌ای که در نمونه فاقد پروتئین و تهیه شده با نشاسته رفتار کاملاً نیوتنی ملاحظه گردید. بررسی تغییرات گرانیوی ظاهری در محدوده درجه برش مورد مطالعه مشخص ساخت که رفتار غیر نیوتنی امولسیون‌ها از نوع رقیق شونده با برش بود، به طوری که با افزایش درجه برش

بررسی رفتار جریان

رفتار جریان امولسیون تثبیت شده با WPC، Hi-Cap100 و کونژوگه‌های حاصل از نسبت‌های مختلف آن‌ها در درجه برش 10^{-1} تا 10^{-3} در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود با افزایش درجه برش، تنش برشی به صورت غیر خطی در کلیه نمونه‌ها به استثنای امولسیون تهیه شده با نشاسته افزایش یافت که مؤید رفتار غیر نیوتنی آن‌ها

مقایسه با امولسیون حاوی WPC است. این در حالی است که انتظار می‌رفت اتصال کووالانسی نشاسته به پروتئین باعث بیشتر شدن گرانیروی شود. در اغلب گزارشاتی هم که در دست است افزایش گرانیروی محیط در حضور کونژوگه‌های میلارد مورد تاکید قرار گرفته است (Paraman *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2012). توضیحی که در این رابطه ارائه شده این است که اتصال پلی‌ساکارید به پروتئین و باز شدن ساختمان آن آبدوستی سطحی و شعاع هیدرودینامیک را افزایش می‌دهد که نهایتاً به زیاد شدن درجه هیدراسیون و گرانیروی می‌انجامد (Baniel *et al.*, 1992). به نظر می‌رسد این مکانیسم در مورد همه کونژوگه‌های پروتئین-کربوهیدرات صادق نیست و ماهیت کربوهیدرات در تغییر گرانیروی تأثیر گذار است (Corzo-Martínez *et al.*, 2010). بنابراین تصور می‌شود علت نتیجه مغایر و نامتعارفی که در پژوهش حاضر بدست آمده است را نیز باید در آرایش فضایی زنجیر نشاسته در سطح قطرات و یا دافعه فضایی-الکترواستاتیک بین قطره‌ای که مانع از نزدیک شدن آنها به هم و درگیر شدن رشته‌های پلی‌ساکاریدی به عنوان عامل اصلی ایجاد گرانیروی می‌شود، جستجو نمود.

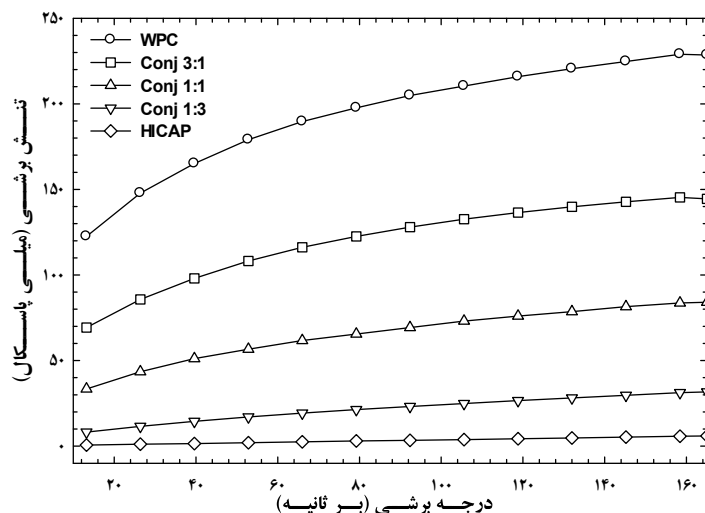
در جدول ۴ پارامترهای شاخص رفتار جریان (n) و ضریب قوام (k) که بر مبنای قانون توان برای سامانه‌های امولسیونی محاسبه شده‌اند، داده شده است. چنان که ملاحظه می‌شود ضریب تعیین در همه موارد بالاست ($R^2 = 0/99$) که نشان دهنده مناسب بودن مدل مورد استفاده برای برازش داده‌های رفتار جریان نمونه‌های مورد بررسی است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود بالاترین ضریب قوام و کمترین شاخص رفتار جریان از آن امولسیون حاوی WPC به تنهایی است و نمونه تهیه شده با نشاسته از این نظر در نقطه مقابل قرار دارد. از سوی دیگر امولسیون‌های تهیه شده با کونژوگه‌های WPC-نشاسته پارامترهای رفتار جریانی حد فاصل این دو نمونه بروز دادند و با کاهش نسبت WPC به امولسیون حاوی نشاسته نزدیک شدند. این داده‌ها حاکی از این است که در حضور WPC و یا افزایش نسبت آن در کونژوگه‌های میلارد، رفتار نزدیک به نیوتنی که در امولسیون تهیه

گرانیروی ظاهری کاهش یافت. لازم به ذکر است که در درجات برش بالا ($200-300 \text{ s}^{-1}$) گرانیروی ظاهری امولسیون‌ها تقریباً مستقل از درجه برش بود و به رفتار نیوتنی شباهت داشت (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). نتایج مطالعات حاکی از این است که بروز رفتار شبه پلاستیک رقیق شونده با برش در امولسیون‌ها به دلیل وقوع فلوکولاسیون در آنهاست (Xu *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2007; Diftis *et al.*, 2005). از این رو گرانیروی ظاهری آنها به جهت شکسته شدن تجمعات قطرات در اثر اعمال تنش به سرعت کاهش می‌یابد و به تدریج که گویچه‌ها در راستای نیروی برش قرار می‌گیرند به حد ثابتی می‌رسد و افزایش بیشتر سرعت برش تأثیر چندانی بر آن ندارد. همان‌گونه که از منحنی‌های جریان در شکل ۳ پیداست سرعت کاهش گرانیروی ظاهری با افزایش نسبت نشاسته به WPC کاهش می‌یابد که مبین کم شدن میزان فلوکوله شدن قطرات می‌باشد. کوچکتر بودن اندازه گویچه‌ها در امولسیون‌های حاوی کونژوگه WPC-نشاسته نسبت به نمونه دارای WPC نیز این نتیجه‌گیری را تأیید می‌کند. عامل اصلی ممانعت از نزدیک شدن و به هم پیوستن قطرات در حضور WPC گلیکوله شده دافعه فضایی است که ملکول‌های آن بعد از جذب شدن در سطح گویچه‌ها ایجاد می‌کنند. این در حالی است که چنین نیروی دافعه‌ای در امولسیون تهیه شده با WPC دیده نمی‌شود، هر چند به دلیل بار الکتریکی سطحی دافعه الکترواستاتیک وجود دارد اما ظاهراً محدوده اثر آن نسبت به دافعه فضایی کوچکتر است و در حقیقت بزرگی نیروی دافعه فضایی است که سهم بیشتری در جلوگیری از به هم پیوستن قطرات دارد. این نتیجه‌گیری را می‌توان با نگاهی به رفتار جریان امولسیون حاوی نشاسته تایید نمود. اگرچه اندازه قطرات این سامانه امولسیونی به علت پایین بودن قدرت امولسیون‌کنندگی و فعالیت سطحی آن درشت‌تر از سایر نمونه‌هاست، اما رفتار جریان آن کاملاً نیوتنی است که مؤید عدم به هم پیوستگی قطرات می‌باشد.

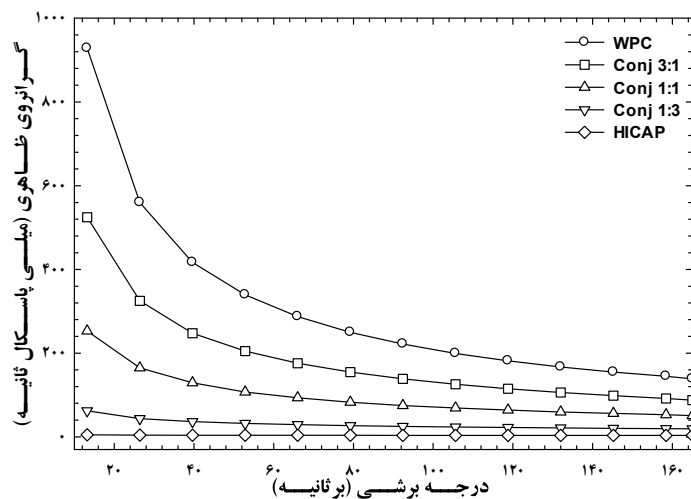
نکته جالب توجه در مورد گرانیروی ظاهری کمتر بودن مقدار عددی آن در نمونه‌های دارای نشاسته و کونژوگه‌های حاصل از هر سه نسبت نشاسته-WPC در

گزارش شده و افزایش گرانیوی بسته به نوع پروتئین و کربوهیدرات مورد استفاده به بهم پیوستگی نقصانی یا پل عرضی که نشانه شروع جدایش فازی در مقیاس میکروسکوپی و ناپایداری سامانه امولسیون است، نسبت داده شده است (Diftis *et al.*, 2005; Benichou *et al.*, 2007).

شده با نشاسته مشاهده شد به شبه پلاستیک تغییر پیدا می‌کند. همچنین افزایش ضریب قوام در این نمونه‌ها بیانگر فزونتر شدن گرانیوی علی رغم افزایش اندازه قطرات است؛ که با در نظر گرفتن رفتار رقیق‌شوندگی با برش به هم پیوستگی گویچه‌ها را بویژه در نمونه دارای WPC به تنهایی مورد تایید قرار می‌دهد. این مشاهدات توسط سایر پژوهشگران نیز



شکل ۳- تغییرات تنش برشی - درجه برش برای امولسیون‌های حاوی WPC، نشاسته و کونژوگه‌های آن‌ها در pH=7



شکل ۴- تغییرات گرانیوی ظاهری - درجه برش برای امولسیون‌های حاوی WPC، نشاسته و کونژوگه‌های آن‌ها در pH=7

جدول ۴- شاخص رفتار جریان (n) و ضریب قوام برای امولسیون‌های حاوی WPC، نشاسته و کونژوگه‌های آن‌ها در pH=۷

امولسیون	k (mPa.s) ⁿ	n	R ²
WPC	۱۲۵/۲۲±۰/۰۰۶	۰/۲۴۶±۰/۰۰۸	۰/۹۹
۳:۱	۷۰/۶۷±۰/۰۱۱	۰/۲۹۵±۰/۰۰۱	۰/۹۹
۱:۱	۳۳/۸۷±۰/۰۰۷	۰/۳۶۵±۰/۰۰۸	۰/۹۹
۱:۳	۸/۰۷۴±۰/۰۱۳	۰/۵۴۰±۰/۰۰۸	۰/۹۹
Hi-Cap100	۰/۵۹۳±۰/۰۰۱	۰/۹۰۱±۰/۰۱۵	۰/۹۹

نتیجه‌گیری

یافت که با توجه به وفور هر دو زیست‌سپار و قیمت پایین آن‌ها کاربرد آن در تهیه امولسیون‌های غذایی و دیگر سامانه‌های کلوئیدی مقرون به صرفه نیز می‌باشد. با این حال نظر به تنوع ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فرمولاسیون‌های غذایی مختلف از نظر pH، قدرت یونی و حضور حل‌شونده‌های گوناگون لازم است مطالعات گسترده‌تری در این رابطه انجام شود که در ادامه پژوهش حاضر مد نظر قرار گرفته است.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی پژوهشکده علوم و صنایع غذایی و با استفاده از امکانات آزمایشگاهی این مؤسسه انجام شده که بدینوسیله نویسندگان مراتب قدردانی و تشکر خود را اعلام می‌دارند. همچنین از زحمات سرکار خانم مهندس زینب زعفرانی و سرکار خانم مهندس فاطمه تدارکات بابت ارائه خدمات فنی و همکاری در انجام آزمایشات صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

در این پژوهش به منظور بهبود خواص امولسیون‌کنندگی پروتئین آب پنیر کونژوگه حاصل از نسبت‌های مختلف آن با نشاسته اصلاح شده در pH=۷ به روش خشک تهیه شد و تأثیر آن بر شاخص‌های کیفی امولسیون روغن در آب بررسی گردید. چنان که ملاحظه شد در نسبت ۱:۱ پروتئین-نشاسته کوچکترین اندازه قطرات بدست آمد که نشان‌دهنده فعالیت سطحی مناسب کونژوگه این دو زیست‌سپار می‌باشد. همچنین مطالعه رفتار جریان و محاسبه شاخص‌های رئولوژیکی امولسیون‌ها نیز مشخص ساخت که در این نسبت از وقوع پدیده به هم پیوستگی قطرات که منجر به جدایش تدریجی فاز می‌شود تا حدود زیادی ممانعت به عمل می‌آید. این ویژگی به دافعه فضایی ناشی از قرار گرفتن زنجیرهای نشاسته در سطح قطرات نسبت داده شد که با کاهش بار الکتریکی و پتانسیل زتا نیز مورد تأیید قرار گرفت. در مجموع چنین به نظر می‌رسد که از برهم‌کنش کووالانسی پروتئین آب پنیر و نشاسته می‌توان به ترکیب آمفی‌فیلی با خواص سطحی بهبود یافته دست

منابع

- 1- Akhtar, M. & Dickinson, E. 2003. Emulsifying properties of whey protein-dextran conjugates at low pH and different salt concentrations. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31: 125-132.
- 2- Akhtar, M. & Dickinson, E. 2007. Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifying agents: an alternative to gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 21: 607-616.
- 3- Baniel, A., Caer, D., Colas, B. & Gueguen, J. 1992. Functional properties of glycosylated derivatives of the 11S storage protein from pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 40: 200-205.
- 4- Benichou, A., Aserin, A., Lutz, R. & Garti, N. 2002. Formation and characterization of amphiphilic conjugates of whey protein isolate (WPI)/xanthan to improve surface activity. *Food Hydrocolloids*, 21: 379-391.

- 5- Corzo-Martínez, M., Moreno, F. J., Villamiel, M. & Harte, F. M. 2010. Characterization and improvement of rheological properties of sodium caseinate glycated with galactose, lactose and dextran. *Food Hydrocolloids*, 24: 88-97.
- 6- Dickinson, E. 2008. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23: 1473-1482.
- 7- Dickinson, E. & Semenova, M. G. 1992. Emulsifying properties of covalent protein-dextran hybrids. *Colloids and Surfaces*, 64: 299-310.
- 8- Diftis, N. G., Biliaderis, C. G. & Kiosseoglou, V. D. 2005. Rheological properties and stability of model salad dressing emulsions prepared with a dry-heated soybean protein isolate-dextran mixture. *Food Hydrocolloids*, 19: 1025-1031.
- 9- Diftis, N. & Kiosseoglou, V. 2003. Improvement of emulsifying properties of soybean protein isolate by conjugation with carboxymethyl cellulose. *Food Chemistry*, 81: 1-6.
- 10- Diftis, N., Billiaderis, K. & Kiosseoglou, V. 2005. Rheological properties and stability of model salad dressing emulsions prepared with a dry-heated soybean protein isolate-dextran mixture. *Food Hydrocolloids*, 19: 1025-1031.
- 11- Einhorn-Stoll, U., Ulbrich, M., Sever, S. & Kunzek, H. 2005. Formation of milk proteinepectin conjugates with improved emulsification properties by controlled dry heating. *Food Hydrocolloids*, 19: 329-340.
- 12- Fechner, A., Knoth, A., Scherze, I. & Muschiolik, G. 2007. Stability and release properties of double-emulsions stabilized by caseinate-dextran conjugates. *Food Hydrocolloids*, 21: 943-952.
- 13- Guo, X. & Xiong, Y. L. 2013. Characteristics and functional properties of buckwheat protein-sugar Schiff base complexes. *LWT - Food Science and Technology*, 51: 397-404.
- 14- Ibanoglu, E. & Ercelebi, E. A. 2007. Thermal denaturation and functional properties of egg proteins in the presence of hydrocolloid gums. *Food Chemistry*, 101: 626-633.
- 15- Kasran, M., Cui, S. W. & Goff, H. D. 2013. Covalent attachment of fenugreek gum to soy whey protein isolate through natural Maillard reaction for improved emulsion stability. *Food Hydrocolloids*, 30: 552-558.
- 16- Katsuda, M. S., McClements, D. J., Miglioranza, L. H. S. & Decker, E. A. 2008. Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized with β -lactoglobulin and pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 5926-5931.
- 17- Kim, H. J., Decker, E. A. & McClements, D. J. 2002. Role of post-adsorption conformation of α -lactoglobulin on its ability to stabilize oil droplets against flocculation during heating at neutral pH. *Langmuir*, 18: 7577-7583.
- 18- Lesmes, U. & McClements, D. J. 2012. Controlling lipid digestibility: Response of lipid droplets coated by β -lactoglobulin-dextran maillard conjugates to stimulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 26: 221-230.
- 19- Li, Y., Lu, F., Luo, C. R., Chen, Z. X., Mao, J. & Shoemaker, C. 2009. Functional properties of the Maillard reaction products of rice protein with sugar. *Food Chemistry*, 117: 69-74.
- 20- Lin, L. H., Chen, K. M., Liu, H. J., Chu, H. C., Kuo, T. C., Hwang, M. C. & Wang, C. F. 2012. Preparation and surface activities of modified gelatin-glucose conjugates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 408: 97-103.
- 21- Liu, G. & Zhong, Q. 2013. Thermal aggregation properties of whey protein glycated with various saccharides. *Food Hydrocolloids*, 32: 87-96.
- 22- Monahan, F. J., German, J. B. & Kinsella, J. E. 1995. Effect of pH and temperature on protein unfolding and thiol/disulfide interchange reactions during heat induced gelation of whey proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 46-52.

- 23- Mu L., Zhao H., Zhao M., Cui Ch. & Liu L. 2011. Physicochemical properties of soy protein isolates- acacia gum conjugates. *Czech Journal Food Science*, 29: 129–136.
- 24- Nagasawa, K., Takahashi, K. & Hattori, M. 1996. Improved emulsifying properties of β -lactoglobulin by conjugating with carboxymethyl dextran. *Food Hydrocolloids*, 10: 63–67.
- 25- O'Regan, J. & Mulvihill, D. M. 2010. Heat stability and freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate-maltodextrin conjugates. *Food Chemistry*, 119: 182-190.
- 26- Oliver, C. M., Melton, L. D., & Stanley, R. A. 2006. Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46: 337–350.
- 27- Paraman, I., Hettiarachchy, N. S. & Schaefer, C. 2007. Glycosylation and deamidation of rice endosperm protein for improved solubility and emulsifying properties. *Cereal Chemistry*, 84: 593–599.
- 28- Sun, C., Gunasekaran, S. & Richards, M. P. 2007. Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 21: 555-564.
- 29- Sun, Y. X., Hayakawa, S., Puangmanee, S. & Izumori, K. 2006. Chemical properties and antioxidative activity of glycated α -lactalbumin with a rare sugar, D-allose, by Maillard reaction. *Food Chemistry*, 95: 509-517.
- 30- Turgeon, S. L., Beaulieu, M., Schmitt, C. & Sanchez, C. 2003. Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 8: 401–414.
- 31- Wooster, T. J. & Augustin, M. A. 2006. β -Lactoglobulin-dextran Maillard conjugates: Their effect on interfacial thickness and emulsion stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 303: 564-572.
- 32- Xu, D., Wang, X., Jiang, J., Yuan, F. & Gao, Y. 2012. Impact of whey protein e Beet pectin conjugation on the physicochemical stability of β -carotene emulsions. *Food Hydrocolloids*, 28: 258-266.

Investigating the effect of whey protein-starch conjugate on quality attributes of oil-in-water emulsion

Ali Reza Sadeghian¹, Rassoul Kadkhodaei^{*2}, Reza Farhoosh³, Arash Koocheki⁴, Masoud Najaf Najafi⁵

1-PhD. Student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

2-Associate professor, Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology

*Corresponding author (r.kadkhodaei@rifst.ac.ir)

3-Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

4-Associate professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

5- Assistant professor, Department of Food science and Technology, Institute of Scientific - Applied Higher Education Jihad-e-Agriculture

Abstract

Whey proteins are of wide application in the formation and stabilization of food emulsions. However, due to their high sensitivity to environmental conditions they quickly lose their functional properties. Glycolation of whey protein fractions is one of the methods used to modify their structure and improve their functional characteristics. The present work was carried out with the aim to prepare whey protein- starch conjugates and investigate the effect of protein to polysaccharide ratio on the quality attributes of oil-in-water emulsion. The results indicated that surface electrical charge decreased by increasing starch to protein ratio. On the other hand, changes in the surface and interfacial tension did not follow a clear trend in response to altering the mass ratio of protein. The drop size distribution curves were monomodal and nearly normal for all samples and became noticeably sharp with minimum width at protein to starch ratio 1:1. The finest and largest droplets were observed in the aforementioned sample and the one stabilized by modified starch, respectively. Studying the flow behavior of emulsions also revealed that starch containing sample exhibited the characteristics of near-Newtonian fluid, whilst the others were shown to have shear thinning pseudoplastic properties which became more distinct by increasing protein ratio leading to highest consistency index and lowest flow behavior index at %100 whey protein.

Keywords: Emulsion; Flow behavior; Maillard reaction; Modified starch; Whey protein