

برهمکنش الکترواستاتیکی موسیلاژ گیاهی با پروتئین آب‌پنیر

رضا قادرمزی^{۱*}، اصغر خسروشاهی^۲، فردین تمجیدی^۳، محمدحسین عزیزی^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۴- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۰۸ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۰۱)

چکیده

در این مطالعه برهمکنش الکترواستاتیکی بیوپلیمرهای موسیلاژ دانه به-ایزوله پروتئین آب‌پنیر مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از آنالیزهای کدورت سنجی، پتانسیل زتا و بازده کواسرویت‌ها برای تعیین شرایط بهینه کواسرواسیون استفاده شد. سپس خواص کواسرویت‌های حاصله توسط بررسی ظاهری، میکروسکوپ‌های الکترونی و نوریمورد بررسی قرار گرفت. کدورت در نسبت ۷۰:۳۰ به حداکثر مقدار خود برابر ۲۲۰۰ NTU رسید. بیشترین بازده کواسرویت‌ها (۸۰/۶۷ درصد) در pH برابر با ۴ حاصل شد. نتایج نشان داد که بهترین شرایط کواسرواسیون در نسبت ۷۰:۳۰ پروتئین به موسیلاژ و pH ۴ حاصل می‌شود. بررسی‌های ظاهری و میکروسکوپی نشان دادند که ذرات کواسرویت به شکلمجموعه‌ای از ذرات کوچک‌تر و کنار هم هستند. عکس SEM نیز نشان داد که ذرات حاصله بعد از خشک شدن ظاهری غیریکنواخت و ناهمگون دارند. این نوع از کواسرویت‌ها را می‌توان به عنوان بافت دهنده، حامل ترکیبات زیست فعال و جایگزین چربی در محصولات غذایی و دارویی بکار برد.

کلید واژگان: کواسرواسیون، به دانه، آب‌پنیر

* مسئول مکاتبات: r.ghadermazi@urmia.ac.ir

۱- مقدمه

بررسی تعاملات بین پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها در محصولات غذایی اهمیت فراوانی دارد زیرا این نوع تعاملات می‌تواند بر خواص عملکردی مانند خواص کف‌کنندگی، امولسیفایری، دناتوراسیون پروتئین‌ها و همچنین بافت، ظاهر و طعم محصولات غذایی تأثیر بگذارند [۱]. بنابراین تشخیص رفتار مخلوط پلیمرها و نوع واکنش‌های بین آن‌ها در محلول‌های آبی می‌تواند در بهبود کارایی این ترکیبات در صنایع غذایی و دارویی بسیار مفید باشد [۲]. کواسرویت‌ها تاکنون برای اهدافی مانند انکپسولاسیون ترکیبات حساس و ناپایدار، به‌عنوان وسایل حمل ترکیبات زیست‌فعال، جایگزینی چربی، تولید شبه‌گوشت، تهیه مواد آرایشی، جداسازی و بازیافت پروتئین‌ها، تشکیل ژل و هیدروژل، تولید فیلم و پوشش خوراکی، امولسیون‌کنندگی، تثبیت آنزیم و پایداری کف استفاده شده‌اند [۳، ۴]. واکنش‌های بین پلیمرها به دو صورت دافعه یا جاذبه می‌تواند اتفاق بیافتد. اگر دو پلیمر دارای بار سطحییکسانی باشند دافعه حاصل بین بارهای همنام باعث می‌شود که پلیمرها به‌صورت جدا از هم در سیستم موجود باشند اما زمانی که دارای بار مخالف باشند واکنش‌ها از نوع جاذبه بوده و دو حالت ممکن است اتفاق بیافتد: ۱) تشکیل کمپلکس‌های محلول کوچک در pH بالای pH ایزوالکتریک پروتئین: هرچند در این pH اکثر گروه‌های پروتئین بار منفی دارند ولی بخش‌های از پپتیدها دارای بار مثبت هستند و می‌توانند با هیدروکلوئیدهای دارای بار منفی کمپلکس‌های ضعیفی که رسوب نمی‌کنند را تشکیل دهند [۵]. ۲) تشکیل کواسرویت‌ها رسوب: اگر واکنش‌ها قوی باشند که در pHهای کمتر از pH ایزوالکتریک اتفاق می‌افتد. درنهایت با توجه به این موارد محلول حاوی پلیمرها ممکن به صورت‌هاییک فاز یا دو فاز دیده شود. اگر واکنش‌ها قوی باشند از این حالت که با نام کواسرواسیون جدایی فازی نیز نام می‌برند، دو فاز مشاهده می‌شود که معمولاً یک فاز غنی و دیگری تهی از پلیمر است [۱، ۶]. پدیده کواسرواسیون به دو دسته ساده و پیچیده طبقه‌بندی می‌شود. کواسرواسیون ساده زمانی اتفاق می‌افتد که در محلول فقط یک هیدروکلوئید وجود دارد. درحالی‌که در کواسرواسیون پیچیده دو نوع هیدروکلوئید وجود دارند [۳]. مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر کواسرواسیون pH، قدرت یونی و نسبت پلیمرها هستند [۷]. واکنش‌های الکترواستاتیکی، باندهای

هیدروژنی و واکنش‌های هیدروفوبی می‌توانند در تشکیل کمپلکس‌های محلول و نامحلول شرکت کنند [۴]. بسته به pH سیستم، نوع، غلظت و نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید ممکن یکپاچه همه این واکنش‌ها در بار سطحی ذره مؤثر باشند یعنی ممکن است آ) پروتئین و پلی‌ساکارید دارای بار مخالف، باهم دیگر "واکنش الکترواستاتیکی" بدهند که بسته به اینکه دو پلیمر همدیگر را خنثی کرده باشند یا نه ذرات حاصل ممکن است باردار یا خنثی باشند؛ ب) ابتدا توده‌های پروتئینی تشکیل شوند و سپس این توده‌ها از طریق "واکنش‌های هیدروفوبی" سایر ذرات آزاد (کواسرویت‌ها و پلی‌ساکاریدها) در سیستم را جذب سطح خود کنند که باز در این حالت ممکن سطح ذره جدید باردار یا خنثی باشد؛ پ) بعد از تشکیل این توده‌های پروتئینی، این ذرات از طریق باندهای هیدروژنی در داخل کواسرویت‌ها انکپسوله شوند که در این حالت در صورت فراهم بودن شرایط بهینه معمولاً سطح ذره خنثی خواهد بود [۸، ۹].

در این مطالعه قصد داریم تا شرایط بهینه واکنش الکترواستاتیکی بین دو پلیمر موسیلاژ دانه به و ایزوله پروتئین آب‌پنیر را مورد بررسی قرار دهیم و سپس شکل ظاهری و مورفولوژیکی آن‌ها را بررسی نماییم.

۲- مواد و روش‌ها

دانه به از یک سوپرمارکت محلی در استان آذربایجان غربی شهرستان ارومیه خریداری شد. ایزوله پروتئین آب‌پنیر (WPI) با بیش از ۹۰٪ پروتئین از شرکت Arla Food Ingredients (Viby J, Denmark) تهیه شد. اسید هیدروکلریک (هیدروکلریک اسید) و سدیم هیدروکسید (سدیم هیدروکسید) از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) تهیه شد. سدیم آزید از شرکت Qualikems هند خریداری شد. تمامی مواد دارای درجه آزمایشگاهی بودند. در تمامی آزمایش‌ها از آب دیونیزه برای تهیه نمونه‌ها استفاده شد.

۲-۱- استخراج موسیلاژ دانه

برای استخراج موسیلاژ دانه به (QSM) از روش‌استبار و همکاران (۲۰۱۵) همراه با کمی تغییر استفاده شد. دانه‌های تمیز و فاقد پالپ به آب دیونیزه اضافه (۱ دانه: ۱۰۰ آب) و دو ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس توسط همزن مغناطیسی به هم زده شدند. برای اطمینان از استخراج کامل موسیلاژ از

دانه‌ها، مخلوط به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. برای صاف کردن و جداسازی دانه‌ها از پارچه کتان تمیز استفاده شد. در نهایت موسیلاژ در دمای ۵۰ درجه سلسیوس توسط آون مجهز به سیرکولاتور هوا بعد از ۲۴ ساعت خشک شد. موسیلاژ حاصل توسط هاون کاملاً پودر شده و تا زمان استفاده در کیسه‌های پلاستیکی برای جلوگیری از تبادل هوا با بیرون و جذب رطوبت نگهداری شدند [۱۰].

۲-۲- آماده‌سازی محلول‌های استوک WPI و

QSM و کواسرواسیون

محلول‌های ۱ درصد وزنی/حجمی پلیمرها (WPI و QSM) هرکدام جداگانه آماده شدند. مخلوط‌ها ۲ ساعت در دمای اتاق هم زده و به منظور آگیری کامل پلیمرها، محلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به هرکدام از محلول‌ها ۰/۰۲ درصد سدیم آزید به عنوان عامل جلوگیری کننده از رشد میکروب‌ها اضافه شد. برای انجام کواسرواسیون بعد از افزودن مقادیر مناسب از محلول پلیمرها به همدیگر، به مدت ۱۰ دقیقه توسط همزن مغناطیسی مخلوط شدند. سپس برای کاهش pH از ۷ تا ۳ از هیدروکلریک اسید ۰/۱ مولار و برای کاهش pH از ۳ تا ۲ از هیدروکلریک اسید ۰/۲ مولار استفاده شد و در صورت نیاز برای تنظیم pH از سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار استفاده شد. برای اطمینان از انجام کامل واکنش افزودن اسید به آرامی انجام شد به طوری که برای این کار هر ۳ ثانیه یک قطره از اسید توسط سرنگ (با قطر سوزن ۰/۷ و طول ۳۰ میلی‌متر) در حین هم زدن آرام توسط همزن مغناطیسی با سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه انجام شد. نهایتاً برای ترویج کامل کواسرواسیون محلول‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

۲-۳- تعیین pH مناسب کواسرواسیون

ابتدا با استفاده از تغییرات پتانسیل زتای نمونه‌های WPI و QSM در یک غلظت ثابت (۰/۱ درصد وزنی/حجمی) در مقابل تغییرات pH (از ۲ تا ۷) محدوده pH بهینه برای انجام کواسرواسیون مشخص شد. برای تعیین بارالکتریکی سطحی ذرات که به پتانسیل زتا (ζ) موسوم استاز دستگاه زتا سایزر (مدل Nano ZS، شرکت Malvern انگلستان) استفاده شد که بر مبنای میزان جابه‌جایی الکتروفرور تیک بار الکتریکی سطحی ذرات کار می‌کند. نتیجه آزمون در دمای ۲۵ درجه

سلسیوس به دست آمد.

کدورت نمونه‌های WPI، QSM و نسبت‌های متفاوت WPI:QSM (۱۰:۹۰، ۲۰:۸۰، ۳۰:۷۰، ۴۰:۶۰، ۵۰:۵۰، ۶۰:۴۰، ۷۰:۳۰، ۸۰:۲۰، ۹۰:۱۰، ۴۰:۶۰، ۵۰:۵۰، ۶۰:۴۰، ۷۰:۳۰، ۸۰:۲۰، ۹۰:۱۰) در pH برابر ۴ اندازه‌گیری شد تا نسبت بهینه پلیمرها بر اساس حداکثر دانسیته نوری تعیین شود. این pH قبلاً توسط پتانسیل زتا به عنوان pH بهینه تعیین شده بود.

۲-۵- تأثیر pH روی بازده کواسرویت‌ها

ابتدا دیسپرسیون WPI-QSM با نسبت ۷۰:۳۰ در pH‌های مختلف (۷ تا ۲) با غلظت کل ۰/۵ درصد وزنی/حجمی تهیه و به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد تا کواسرویت‌ها کاملاً رسوب کنند. سپس به آرامی و با دقت فاز بالایی که فاقد کواسرویت بود دور انداخته شد و فاز پایینی حاوی کواسرویت تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس توسط آون خشک شد. برای اندازه‌گیری بازده کواسرویت از فرمول زیر استفاده شد [۱۱]:

$$CY (\%) = (M_1 / [M_2 + M_3]) \times 100 \quad (1)$$

که در این معادله CY: بازده کواسرواسیون، M_1 : جرم کواسرویت خشک، M_2 : جرم‌های پروتئین و M_3 : جرم موسیلاژ است.

۲-۶- عکس میکروسکوپ نوری کمپلکس

کواسرویت‌ها

برای تهیه عکس میکروسکوپ نوری از میکروسکوپ نوری (Olympus BH2, Japan) با بزرگنمایی 10X استفاده شد. برای مشاهده عکس ذرات کواسرویت، حدود ۲۰ میکرو لیتر نمونه روی سطح لام شیشه‌ای قرار گرفت و سطح آن با یک لامل شیشه‌ای دیگر پوشیده شد سپس عکس‌ها توسط دوربین دیجیتالی گرفته شد [۱۲].

۲-۷- میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM)

کمپلکس کواسرویت‌ها

مطالعه‌ی ریخت‌شناسی نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FE-SEM) مدل TESCAN S8000G ساخت کشور جمهوری چک صورت گرفت. پس از پوشش طلای سطح شکست، در ولتاژ ۳۰ کیلوولت ریز نگاره‌هایی عمود بر سطح شکست نمونه‌ها تهیه گردید.

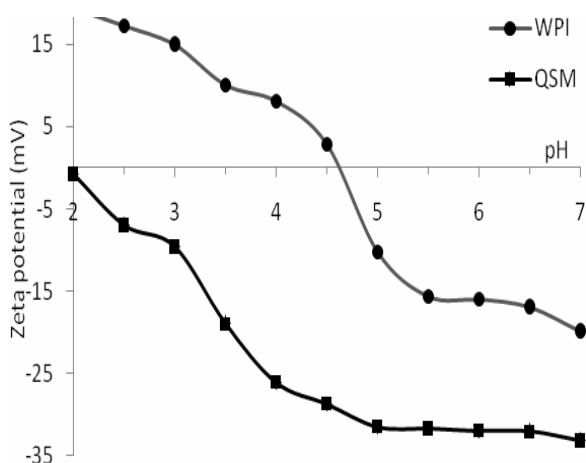


Fig 1 The effect of pH on the zeta potential of WPI and QSM. The different letters on the columns indicate a significant difference between them ($p < 0/05$).

پروتئین‌ها دارای گروه‌های آمین و کربوکسیل در ساختار خود هستند که بسته به pH محیط می‌توانند خاصیت کاتیونی، آنیونی و یا دارای بار خالص صفر (نقطه ایزوالکتریک یا PI) باشند. WPI دارای رفتار متفاوتی نسبت به QSM بود، به‌طوری‌که در pH‌های بیشتر از نقطه ایزوالکتریک (حدود ۴/۶) دارای بار منفی و خاصیت آنیونی و در کمتر از pH ایزوالکتریک دارای بار مثبت و خاصیت کاتیونی بود. در نقطه ایزوالکتریک پتانسیل زتای WPI برابر صفر بود. محدوده پتانسیل زتای WPI برای pH‌های ۲ تا ۷ به ترتیب ۲۰+ تا ۲۰- میلی ولت بود. تشکیل کمپلکس بین پروتئین با پلی‌ساکارید به طور عمده در نتیجه تعاملات الکترواستاتیکی حاصل از قسمت‌های باردار سطح پروتئین‌هایکروپا گروه‌هایباردار پلی‌ساکاریدها رخ می‌دهد و این اتفاق معمولاً در یک pH در نزدیکی نقطه ایزوالکتریک پروتئین رخ می‌دهد [۱۳، ۱۴]. در pH‌های پایتتر از pH ایزوالکتریک (نقاطی که دو پلیمر دارای بار مخالف هم هستند) بیشترین اختلاف پتانسیل در pH برابر ۴ مشاهده شد بطوریکه مقدار پتانسیل زتا برای پروتئین و موسیلاژ به ترتیب برابر ۸/۱۴ و ۲۶/۱- میلی ولت بود.

نسبت پروتئین به پلی‌ساکارید یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر در فرایند کواسرواسیون است که می‌تواند با تأثیر روی تعادل بار بین پروتئین و پلی‌ساکارید واکنش‌های الکترواستاتیکی بین آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد [۱۵]. در ۲ مقدار جذب قرائت شده برای نسبت‌های مختلف WPI:QSM در pH ۴ نشان داده شده است. به‌طورکلی با افزایش سهم WPI مقدار کدورت نیز افزایش یافت تا در نسبت ۷۰:۳۰ به حداکثر مقدار

۲-۸- آنالیز آماری

برای یافتن نقطه بهینه کواسرواسیون سه غلظت مختلف (۰/۵، ۰/۱ و ۰/۰۵ درصد وزنی/حجمی) از نسبت‌های مختلف پروتئین به موسیلاژ (۱۰:۹۰ تا ۹۰:۱۰) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تمامی آزمایش‌ها از سه تکرار به دست آمدند و میانگین $\pm$ انحراف استاندارد آن‌ها گزارش شد. آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SAS 2000 نسخه ۹/۱ انجام شد. تمامی آزمایش‌های به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جهت مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (LSD) در سطح احتمال ۰/۵ استفاده شد.

۳- یافته‌ها و بحث

۳-۱- شرایط بهینه انجام واکنش الکترواستاتیکی

بین دو پلیمر

هرچند که مکانیسم توده‌ای شدن پیچیده بین پروتئین-پلی‌ساکارید هنوز کاملاً مشخص نشده است اما به‌طورکلی محققان بر این باورند که زمانی که شرایط انجام واکنش‌های درون مولکولی مانند الکترواستاتیک، پیوند هیدروژنی و واکنش‌های هیدروفوب مهیا باشد کواسرویت‌های پروتئین-پلی‌ساکارید تشکیل می‌شوند. معمولاً کواسرویت‌ها در حادفاصل نقطه ایزوالکتریک پروتئین و pKa پلی‌ساکارید تشکیل می‌شوند [۴]. با توجه به تغییرات پتانسیل زتای پلیمرها در اثر تغییر pH می‌توان pH مطلوب کواسرواسیون را انتخاب کرد. تغییرات پتانسیل زتای دیسپرسیون‌های WPI و QSM در مقابل pH‌های ۲ تا ۷ در

نشان داده شده است. QSM در رنج گسترده‌ای از pH دارای بار الکتریکی منفی بوده و دارای خواص آنیونی است. بیشترین خاصیت آنیونی QSM در pH ۷ با پتانسیل زتای ۳۵- میلی ولت مشاهده شد. این خاصیت آنیونی QSM می‌تواند به خاطر وجود گروه‌های کربوکسیل موجود در ساختار کربوهیدرات‌های موجود در مونومرهای اسیدهای اورونیک آن باشد [۱۱]. با کاهش pH دیسپرسیون QSM، پتانسیل زتای آن افزایش یافت و در pH برابر ۲ به ۰/۷۵- میلی ولت رسید.

۳-۲- شکل ظاهری و میکروسکوپی ذرات

کواسرویت

همان‌طور که در شکل ۳a نشان داده شده است بعد از انجام واکنش الکترواستاتیکی بین دو پلیمر و گذشت حدود یک ساعت نگهداری در دمای یخچال کواسرویت‌های رسوب کرده در ته ظرف را به‌خوبی می‌توان مشاهده کرد و فاز بالایی به شکل کاملاً شفاف و فاقد کواسرویت است. عکس میکروسکوپ نوری ذرات کواسرویت نسبت $WPI:QSM=70:30$ ، در شکل ۳b نشان داده شده است. در به نظر می‌رسد که ذرات کواسرویت به هم چسبیده‌اند و توده‌های بزرگ‌تر کواسرویت‌ها را تولید کرده‌اند. این توده‌ها دارای ظاهری متراکم بوده و دارای تعداد بالایی از دانه‌های کواسرویت می‌باشند که به شکل رشته‌های کنار هم قابل مشاهده هستند که این ویژگی‌ها کاربرد آن‌ها برای محافظت از ترکیبات حساس غذا-دارو را بهتر می‌کند. حسن وند و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که با کاهش pH تا ۴ کواسرویت‌های کوچک‌تر کنار هم قرار گرفته و ذرات بزرگ‌تر با ساختارهای مجموعه مانند را می‌سازند [۱۲]. گونزالز-مارتینز و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که در نسبت بهینه دو پلیمر WPI و موسیلاژ تمر هندی (با نسبت ۱ به ۰/۳) دانه‌های جدای کواسرویت‌ها تمایل به تشکیل ساختارهای مشخص ماکرو-کمپلکس دارند، ولی با دور شدن از این نسبت بهینه به دلیل عدم توازن بارهای ماکرویون‌ها ساختارهای ماکرو تمایل به از هم پاشیدن و تبدیل به ساختارهای میکرو جداگانه را دارند [۱۷].

۳-۳- عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی

(SEM) ذرات کواسرویت

در تصویر ریخت‌شناسی کواسرویت WPI-QSM در نسبت ۷۰ به ۳۰ بعد از خشک شدن به روش انجمادی نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در این بزرگنمایی (۵۰ میکرون) کواسرویت دارای سطحی متخلخل و ناهمگون هستند. شکل غیریکنواخت پلیمرها به دلیل نحوه خشک کردن است چراکه خشک کردن به روش فریزدرای نسبت به روش اسپری‌درای ذراتی با شکل‌های ناهمگون ایجاد می‌کند [۱۱].

خود رسید (۲۲۰۰ NTU) که اختلاف معنی‌داری با مقادیر قرائت شده برای سایر نسبت‌ها داشت ($p<0/05$)؛ در ادامه با افزایش مقدار WPI کدورت کاهش یافت بنابراین این نسبت به‌عنوان بهترین نسبت انتخاب شد. دیسپرسیون‌های QSM و WPI خالص دارای کمترین میزان کدورت بودند. کاوشیک و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که با افزایش مقدار پروتئین نسبت به پلی‌ساکارید دانه بزرگ تا نسبت ۳ به ۱ مقدار دانسیته نوری افزایش می‌یابد ولی با افزایش بیشتر مقدار پروتئین تغییر معنی‌داری در میزان دانسیته نوری مشاهده نشد زیرا که تمام مکان‌های منفی موجود در پلی‌ساکارید با سایت‌های مثبت پروتئین دانه بزرگ واکنش داده‌اند و مکان‌های باقی‌مانده دارای بار مثبت پروتئین اضافی هستند [۱۶]. تیمیلسنا و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که با افزایش نسبت پروتئین دانه چیا-صمغ دانه چیا تا ۶:۱ کدورت افزایش یافت اما با افزایش بیشتر این نسبت کدورت به شکل معنی‌داری کاهش یافت که دلیل این کاهش را ناتوانی پروتئین‌های اضافی در اتصال به پلی‌ساکاریدهای صمغ اعلام کردند که به شکل پروتئین آزاد در دیسپرسیون باقی می‌مانند [۱۱]. مقدار بسیار بالاتر کدورت نمونه‌های ایزوله پروتئین آب‌پنیر-موسیلاژ دانه به نسبت به دیسپرسیون‌های خالص ایزوله پروتئین آب‌پنیر و موسیلاژ دانه به می‌تواند به خاطر انجام واکنش‌های الکترواستاتیک و تشکیل ذرات درشت‌تر کواسرویت باشد که چگالی نوری بیشتری دارند [۱۶].

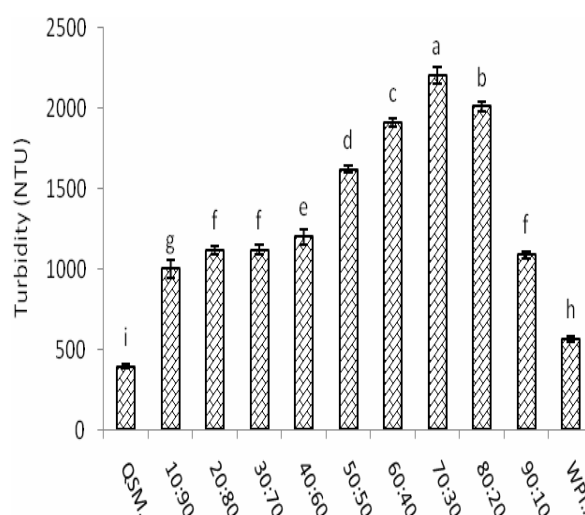


Fig 2 Turbidity of different ratio of WPI:QSM at 0/5% W/V and pH 4. The different letters on the columns indicate a significant difference between them ($p<0/05$).

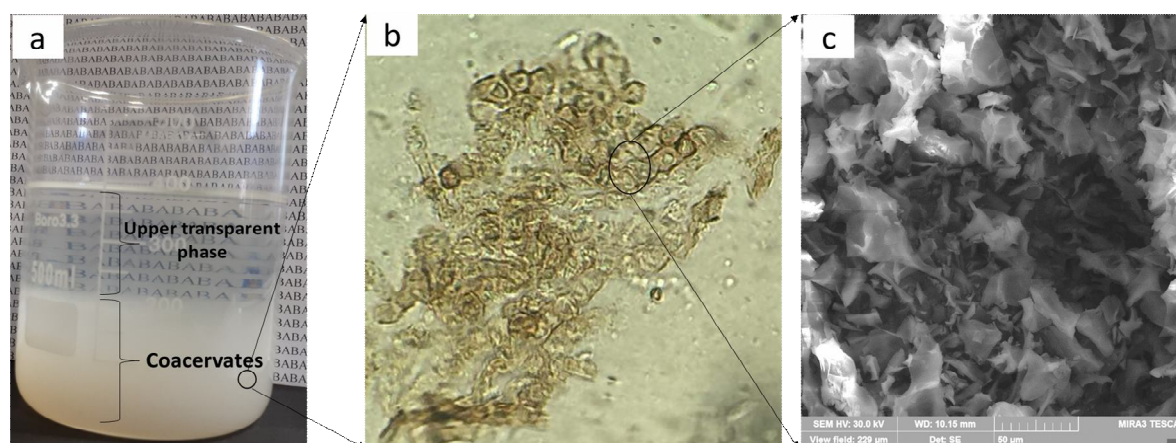


Fig 3 Digital photograph (a), Optical microscopic (b) of liquid coacervates after production, and SEM image of coacervates after freeze drying (c).

۳-۴- تأثیر pH روی بازده کواسرویت‌ها

یکی دیگر از پارامترهای که برای بهینه‌سازی فرایند کواسرواسیون استفاده می‌شود بازده کواسرویت‌ها است [۱۱]. بازده کواسرویت‌های نسبت ۷۰:۳۰، برای غلظت کل ۰/۵ درصد در pH های ۷ تا ۲ در شکل ۴ نشان داده شده است. با کاهش pH از ۷ تا ۴ بازده افزایش یافت ولی با کاهش بیشتر pH تا ۲ بازده کاهش یافت. بیشترین بازده کواسرویت‌ها در pH ۴ حاصل شد. البته در pH ۵/۵، ۶ و ۷ هیچ‌گونه کواسرویتی مشاهده نشد. بنابراین می‌توان گفت که pH —تأثیر معنی‌داری ($p < 0.05$) روی بازده کواسرویت‌های WPI-QSM دارد. این نتایج تأیید کننده داده‌های حاصل از کدورت سنجی هستند. جین و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند بیشترین بازده کواسرویت‌ها در pH بهینه است [۱۸].

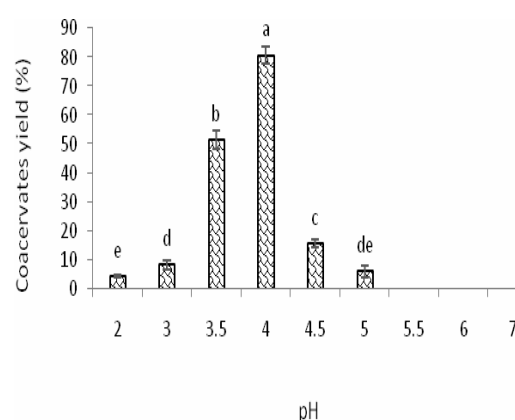


Fig 4 Coacervate yields of 70:30 ratio at different pH (7-2). The different letters on the columns indicate a significant difference between them ($p < 0/05$).

۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق بهترین شرایط کواسرواسیون ایزوله پروتئین آب پنیر و موسیلاژ دانه به توسط روش‌های کدورت سنجی، پتانسیل زتا و بازده کواسرواسیون مورد بررسی قرار گرفت. حداکثر مقدار بازده کواسرویت (۸۰/۶۷ درصد) و کدورت (۲۲۰۰ NTU) در pH بهینه ۴ و نسبت بهینه ۷۰:۳۰ به دست آمد. بنابراین با توجه به نتایج پتانسیل زتا، کدورت سنجی و بازده کواسرواسیون $pH_{opt}=4$ و نسبت بهینه ۷۰ به ۳۰ ایزوله پروتئین آب پنیر به موسیلاژ دانه به به‌عنوان بهترین شرایط انجام کواسرواسیون انتخاب شدند. نتایج بازده کواسرویت‌ها با نتایج کدورت سنجی تطابق داشتند. نتایج عکس‌های میکروسکوپ نوری نشان داد که در نسبت بهینه توده‌های بزرگ فیبری به جای ذرات تکی تشکیل می‌شوند. عکس‌های SEM پودرها نشان داد که کواسرویت‌ها دارای سطحی ناهموار، غیریکنواخت و متخلخل هستند بنابراین می‌توان از این کواسرویت برای حمل ترکیبات غذا- دارو در صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان صمیمانه از حمایت مالی صورت گرفته توسط صندوق حمایت از پژوهشگران جوان (Iran National Science Foundation: INSF) (No. 96011426/2018) تشکر می‌نمایند.

۶- منابع

- [10] Abbastabar, B., Azizi, M.H., Adnani, A., Abbasi, S. (2015). Determining and modeling rheological characteristics of quince seed gum. *Food Hydrocolloids*, 43: 259-264.
- [11] Timilsena, Y.P., Wang, B., Adhikari, R., Adhikari, B. (2016). Preparation and characterization of chia seed protein isolate–chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 52: 554-563.
- [12] Hasanvand, E., Rafe, A., Emadzadeh, B. (2018). Phase separation behavior of flaxseed gum and rice bran protein complex coacervation. *Food Hydrocolloids*, 82: 412-423.
- [13] Doublier, J.-L., Garnier, C., Renard, D., Sanchez, C. (2000). Protein–polysaccharide interactions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 5(3-4): 202-214.
- [14] Wagoner, T., Vardhanabhuti, B., Foegeding, E.A. (2016). Designing whey protein–polysaccharide particles for colloidal stability. *Annual Review of Food Science and Technology*, 7: 93-116.
- [15] Schmitt, C., Sanchez, C., Thomas, F., Hardy, J. (1999). Complex coacervation between b-lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. *Food Hydrocolloids*, 13: 483–496.
- [16] Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C.J., Adhikari, B. (2015). Complex coacervation between flaxseed protein isolate and flaxseed gum. *Food Research International*, 72: 91-97.
- [17] González-Martínez, D., Carrillo-Navas, H., Barrera-Díaz, C., Martínez-Vargas, S., Alvarez-Ramírez, J., Pérez-Alonso, C. (2017). Characterization of a novel complex coacervate based on whey protein isolate–tamarind seed mucilage. *Food Hydrocolloids*, 72: 115-126.
- [18] Jain, A., Thakur, D., Ghoshal, G., Katare, O.P., Shivhare, U.S. (2016). Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87: 101-113.
- [1] Klemmer, K.J., Waldner, L., Stone, A., Low, N.H., Nickerson, M.T. (2012). Complex coacervation of pea protein isolate and alginate polysaccharides. *Food Chemistry*, 130: 710-715.
- [2] Anvari, M., Pan, C.H., Yoon, W.B., Chung, D. (2015). Characterization of fish gelatin–gum arabic complex coacervates as influenced by phase separation temperature. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79: 894-902.
- [3] Espinosa-Andrews, H., Ilez, J.G.B.e.-G., Cruz-Sosa, F., Vernon-Carter, E.J. (2007). Gum Arabic–chitosan complex coacervation. *Biomacromolecules*, 8: 1313-1318.
- [4] Liu, J., Young Shim, Y., Shen, J., Wang, Y., Reaney, M.J.T. (2017). Whey protein isolate and flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) gum electrostatic coacervates: Turbidity and rheology. *Food Hydrocolloids*, 64: 18-27.
- [5] Klein, M., Aseri, A., Ishai, P.B., Garti, N. (2010). Interactions between whey protein isolate and gum Arabic. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79: 377-383.
- [6] Girard, M., Sanchez, C., Laneuville, S.I., Turgeon, S.L., Gauthier, S.E. (2004). Associative phase separation of beta-lactoglobulin/pectin solutions: A kinetic study by small angle static light scattering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 35: 15-22.
- [7] Weinbreck, F., Nieuwenhuijse, H., Robijn, G.W., De Kruif, C.G. (2004). Complexation of Whey Proteins with Carrageenan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3550–3555.
- [8] Schmitt, C., Sanchez, C., Despond, S., Renard, D., Thomas, F., Hardy, J. (2000). Effect of protein aggregates on the complex coacervation between b-lactoglobulin and acacia gum at pH 4.2. *Food Hydrocolloids*, 14: 403-413.
- [9] Torza, S., Mason, S.G. (1970). Three-phase interactions in shear and electrical fields. *Journal of Colloid and Interface Science*, 33(1): 67-83.

Electrostatic interaction of plant mucilage with whey protein

Ghadermezi, R.^{1*}, KhosrowShahiAsl, A.², Tamjidi, F.³, Azizi, M. H.⁴

1. Ph.D. student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
3. Assistant Professor, Department of Food Science & Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
4. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, TarbiatModares University, Tehran, Iran

(Received: 2019/09/30 Accepted:2019/12/22)

In this study, the electrostatic interaction between quince seed mucilage with whey protein isolate was investigated. For this purpose, turbidity analysis, zeta potential and yield of coacervation were used to determine the optimum complex coacervation conditions. Then, the properties of the coacervates were evaluated by appearance, SEM and light microscopy. The turbidity reached its maximum value of 2200 NTU at 70:30 ratio of protein:mucilage. The highest yield of coacervates (80.67%) was obtained at pH 4. The results showed that the best coacervation conditions were obtained at 70:30 ratio and pH 4. Surface morphology and light microscopic images showed that the coacervate particles are a collection of smaller particles. The SEM image also showed that these particles had a heterogeneous appearance after drying. These types of coacervates can be used as texturizer, carriers of bioactive agents and fat substitutes in food and pharmaceutical products.

Keywords: Coacervation, Quince Seed, Whey Protein.

* Corresponding Author E-Mail Address: r.ghadermazi@urmia.ac.ir