

تأثیر غلظت‌های مختلف مالتو دکسترین و پروتئین تغلیظ شده آب پنیر بر ویژگی‌های نانوامولسیون اسانس آویشن در آب

مینا میری^۱، آرش کوچکی^{۲*}، محبت محبی^۳، مسعود نجف نجفی^۳

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- استادیار گروه صنایع غذایی، مجتمع آموزش عالی جهاد کشاورزی خراسان رضوی

(تاریخ دریافت: ۹۴/۰۶/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۸/۲۳)

چکیده

هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر مالتو دکسترین (MD) و پروتئین تغلیظ شده آب پنیر (WPC) بر ویژگی‌های نانوامولسیون اسانس روغنی آویشن بود. به این منظور نمونه‌های امولسیون روغن در آب حاوی ۵ درصد (وزنی/وزنی) اسانس آویشن در سوسپانسیون آبی حاوی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد (وزنی/وزنی) MD و WPC به نسبت ۲۵:۷۵، ۵۰:۵۰ و ۷۵:۲۵ با کمک امواج فراصوت تهیه شد و اندازه ذرات، پایداری فیزیکی، گرانیروی و رفتار جریان آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ویژگی‌های امولسیون‌ها، به طور معنی داری تحت تأثیر نوع، نسبت و غلظت ترکیبات سوسپانسیون قرار داشت. میانگین اندازه قطر قطرات در محدوده نانو و بین ۱۲۸/۵۶۲۱ تا ۲۳۲/۶۳۱۰ نانومتر بود، به صورتی که اندازه ذرات امولسیون‌های محتوی مالتو دکسترین، کوچک‌تر از امولسیون‌های حاوی پروتئین بود. نتایج مشابهی نیز برای گرانیروی به دست آمد. در نقطه مقابل، پایداری امولسیون‌ها با افزایش نسبت WPC، کاهش یافت. ولی در تمام امولسیون‌ها، افزایش غلظت (از ۱۰ به ۳۰ درصد) باعث افزایش اندازه ذرات، گرانیروی و کاهش پایداری گردید.

کلید واژگان: نانوامولسیون، مالتو دکسترین، پروتئین تغلیظ شده آب پنیر، فراصوت، پایداری امولسیون

*مسئول مکاتبات: koocheki@um.ac.ir

۱- مقدمه

سامانه‌های امولسیون از دو فاز غیر قابل امتزاج شامل فاز روغنی (فاز پراکنده) و فاز آبی (فاز پیوسته) تشکیل شده‌اند. هر قطره روغن در فاز پراکنده توسط یک لایه بین سطحی متشکل از مولکول‌های سورفکتانت یا امولسیون کننده احاطه می‌شود [۱]. وجود این مولکول‌ها بین دو فاز امولسیون، کشش بین سطحی را کاهش داده و مانع تجمع قطرات در فاز پراکنده می‌شود.

نانو امولسیون‌ها، امولسیون‌هایی هستند که اندازه ذرات فاز پراکنده در آن‌ها در محدوده ۲۰-۳۰۰ نانومتر می‌باشد [۲]. نانوامولسیون‌ها مزایای بسیار زیادی دارند. اندازه بسیار کوچک ذرات باعث کاهش نیروهای جاذبه نظیر حرکت براونی شده و در نتیجه مانع خامه‌ای شدن و رسوب کردن امولسیون در طول دوره نگهداری می‌شود. به این ترتیب از تجمع ذرات امولسیون جلوگیری شده و در نتیجه سامانه به مدت بیشتری پایدار می‌ماند [۳]. نانوامولسیون‌ها به دلیل ذرات کوچک و افزایش نسبت سطح به حجم قطرات، در مقایسه با سایر انواع امولسیون‌ها دارای پتانسیل بیشتری برای ریزپوشانی ترکیبات موثره مولد عطر و طعم هستند [۴،۵].

مهمترین مساله در این سامانه‌های امولسیونی، پایداری آن‌ها است. با توجه به اینکه پایداری امولسیون بیشتر از نوع سینتیکی است تا ترمودینامیکی؛ و نیز اینکه امولسیون‌های پروتئینی در مقادیر pH نزدیک به نقطه ایزوالکتریک پایداریشان را از دست می‌دهند، در سال‌های اخیر توجه زیادی به به‌کارگیری مخلوط‌های پروتئین-پلی ساکارید شده است. پایداری سامانه‌های امولسیونی به خصوصیات کاربردی هر یک از اجزاء، ماهیت و قدرت برهم کنش‌های پروتئین-پلی ساکارید بستگی دارد [۶]. برهم‌کنش‌های بین پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها می‌تواند پایداری سامانه را افزایش داده و مصارف زیادی در صنایع غذایی و دارویی داشته باشد [۶]. انتخاب یک ترکیب پروتئین-پلی ساکاریدی مناسب به عنوان امولسیون کننده به طور محسوسی پایداری امولسیون را در مقایسه با زمانی که از پروتئین به تنهایی استفاده می‌شود، افزایش می‌دهد [۶].

پروتئین‌ها نقش مهمی به عنوان پایدار کننده سامانه‌های امولسیونی ایفا می‌کنند، در حالیکه پلی ساکاریدها نقش قوام

دهندگی و نگهداری آب را بر عهده دارند. حلالیت و گرانیروی بالای مواد پلی ساکاریدی در ایجاد سامانه‌های امولسیونی اهمیت زیادی دارد و از این حیث، پلی ساکاریدهایی مانند مالتودکسترین و مشتقات نشاسته قادرند در غلظت‌های پایین، گرانیروی بالا و حلالیت مطلوبی ایجاد کنند، و لذا به طور وسیعی در سامانه‌های امولسیونی استفاده می‌شوند [۷،۸]. "تقریباً" اکثر پلی‌ساکاریدها، علی‌رغم خواص کاربردی برجسته‌ای که در افزایش قوام و گرانیروی، تشکیل ژل، تثبیت امولسیون‌ها و کف دارند، به علت عدم برخورداری از فعالیت سطحی مناسب فاقد قدرت امولسیون کنندگی هستند. در حالیکه، پروتئین‌ها با کاهش کشش سطحی و بین سطحی می‌توانند به خوبی در سطح فیما بین آب و روغن یا هوا و آب قرار گرفته و پایداری امولسیون را افزایش دهند [۹،۱۰]. به علاوه، این ویژگی پروتئین‌ها به حفظ مواد معطر و اسانس‌ها کمک کرده و کاربردهای وسیعی در صنایع غذایی و دارویی یافته است.

پروتئین‌های آب پنیر به دلیل داشتن خواص کاربردی گسترده از جمله توانایی ژله‌ای شدن و نیز ارزش تغذیه‌ای بالا اهمیت زیادی در صنایع غذایی دارند. این پروتئین از سه جزء 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 پروتئین آب پنیر باعث شده که به طور وسیعی به عنوان امولسیون کننده در صنایع غذایی به کار برده شود [۱۱].

مالتودکسترین به علت داشتن گروه‌های هیدروفوبی در ساختمان خود خاصیت امولسیون کنندگی داشته و پس از قرار گرفتن در سطح بین روغن و آب از طریق ایجاد دافعه فضایی موجب تثبیت امولسیون می‌شود [۱۰].

ثبات سینتیکی قطرات فاز پراکنده سامانه امولسیونی حاوی اسانس آویشن و ممانعت از دو فاز شدن امولسیون پس از تشکیل، بسیار حائز اهمیت است. در سامانه‌های امولسیونی، تغییر در ویژگی‌های غشای قطرات فاز پراکنده و نیز فعل و انفعالات بین آن‌ها تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر پایداری و خواص رئولوژیکی امولسیون دارد و در نتیجه از بعد تکنولوژیکی و حسی بسیار حائز اهمیت است [۱۲]. لذا انتخاب یک مخلوط مناسب متشکل

(به میزان ۵٪ وزنی/وزنی ماده خشک سوسپانسیون) اضافه و توسط همزن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شدند. برای تهیه امولسیون اولیه روغن در آب از یک هموژنایزر آزمایشگاهی اولتراتوراکس (مدل T-25 شرکت IKA، آلمان) استفاده شد. هم زدن با سرعت ۱۳۵۰۰ دور دقیقه در مدت زمان ۱ دقیقه و در دمای اتاق انجام شد. سپس برای تهیه نانو امولسیون از یک دستگاه مولد امواج فراصوت (مدل HD3200 شرکت Bandeline، آلمان) استفاده شد. حداکثر توان خروجی دستگاه، ۷۵۰ وات و سونوتروود استفاده شده، پروب تیتانیومی VST70 به قطر ۱۹ میلی‌متر و مدت زمان عملیات ۵ دقیقه در فرکانس ۲۰ کیلوهرتز بود. پروب در فاصله ۲ سانتی متری از سطح امولسیون و در داخل امولسیون قرار داده شد. به منظور حفظ دما در محدوده ۲۰ درجه سانتی‌گراد در طول فرآیند، یک سیرکولاتور یخچال دار (مدل F25 شرکت Julabo، آلمان) به سیستم فراصوت متصل گردید. برای انجام آزمایشات بعدی، همه نانو امولسیون‌های تهیه شده در لوله‌های آزمایشگاهی درب دار (فالکون) ۴۰ میلی‌لیتری نگه داری شدند. pH تمامی امولسیون‌ها در محدوده ۷ تنظیم شد [۱۳].

۲-۲-۲- سنجش اندازه ذرات

متوسط قطر (D_{43}) و توزیع اندازه قطرات امولسیون به کمک دستگاه سنجش اندازه ذرات (مدل Nano-Zeta sizer، شرکت Malvern، انگلستان) که پراکنش و شکست نور لیزر را بر مبنای مدل لورنتز-می و تئوری فرانهور به اندازه ذرات مربوط می‌سازد، اندازه‌گیری شد. برای محاسبه متوسط قطر از معادله زیر استفاده شد:

$$D_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} (\mu\text{m})$$

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:

از پروتئین و پلی‌ساکارید که نقش پایدارکننده و امولسیون‌کنندگی داشته باشد، ضروری است. از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر مخلوط پروتئین آب پنیر-مالتودکسترین بر تشکیل و ثبات نانو امولسیون آویشن در آب انجام شد. علاوه بر این، به دلیل احتمال ترسیب و دوفازی شدن سامانه، نسبت‌های مختلف مخلوط پروتئین آب پنیر و مالتودکسترین تهیه شد و تأثیر این فرمولاسیون‌ها بر اندازه ذرات، پایداری و گرانروی نانو امولسیون حاوی اسانس روغنی آویشن بررسی گردید تا نسبت مناسب سامانه نانو امولسیونی اسانس آویشن مشخص گردد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی

اسانس روغنی آویشن از شرکت اکسیر گل سرخ و WPC (با ۸۰ درصد پروتئین) از شرکت فرآورده های لبنی گلشاد خریداری شد. مالتو دکسترین تجاری (با دکستروز اکی والان ۱۴-۱۲) از فروشندگان مواد شیمیایی در مشهد خریداری شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده نیز از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- آماده سازی امولسیون

سوسپانسیون کلئیدی اولیه با حل کردن مخلوطی از پروتئین تغلیظ شده آب پنیر و مالتو دکسترین در آب دیونیزه به نسبت‌های وزنی/وزنی ۲۵-۷۵، ۵۰-۵۰ و ۷۵-۲۵ درصد برای دست‌یابی به غلظت ۱۰، ۲۰ و ۳۰٪ وزنی/وزنی و هم زدن این محلول به مدت ۴۵ دقیقه با همزن مغناطیسی (مدل RCT، ساخت شرکت IKA، آلمان) تهیه شد. سپس برای ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌ها، به سوسپانسیون‌ها سدیم آزاید (به میزان ۰/۰۲٪ وزنی/وزنی) اضافه شد. در مرحله بعد سوسپانسیون‌ها به مدت ۲۴ ساعت تا آب‌گیری کامل در دمای یخچال قرار داده شدند. پس از آب‌گیری، سوسپانسیون‌ها از یخچال خارج شده و پس از رسیدن دمای آنها به دمای محیط، اسانس روغنی آویشن

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- تأثیر WPC و MD بر اندازه ذرات

امولسیون

منحنی‌های توزیع اندازه ذرات امولسیون تثبیت شده با WPC، مال‌تو دکسترین و مخلوط آنها در نسبت‌های مختلف و سه غلظت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد در شکل ۱ آورده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، همه منحنی‌های توزیع ذرات تک قله‌ای داشتند که نشان دهنده یکنواختی توزیع اندازه قطرات در همه نمونه‌هاست. با این حال پهنای منحنی‌ها با هم متفاوت بود و بیشترین گستردگی در منحنی مربوط به امولسیون حاوی مقدار بیشتر مال‌تو دکسترین مشاهده شد که مؤید پراکندگی وسیع‌تر اندازه قطرات در این امولسیون است. علاوه بر این، با افزایش نسبت مال‌تو دکسترین به پروتئین آب پنیر از ۲۵ به ۷۵ منحنی به سمت چپ کشیده شد. به عبارت دیگر، با افزایش مقدار مال‌تو دکسترین، پراکندگی اندازه ذرات کاهش یافت. با افزایش غلظت مخلوط از ۱۰ تا ۳۰ درصد، منحنی‌ها به صورت نرمال باقی ماندند ولی پهنای آنها بیشتر شد. به عبارتی با افزایش غلظت از یکنواختی اندازه ذرات کاسته و پراکندگی اندازه ذرات وسیع‌تر شد. این دامنه توزیع اندازه در نمونه تثبیت شده با WPC کوچک‌تر و در حضور مخلوط پروتئین-پلی ساکارید بسیار باریک‌تر بود به طوری که در امولسیون مخلوط حاوی ۷۵:۲۵ پروتئین-پلی ساکارید در کمینه مقدار خود بود. اصولاً کاهش پهنای منحنی توزیع اندازه به معنای کوچک بودن دامنه نوسان قطرات و نزدیکی اندازه آنها به هم است و از شاخص‌های مهم در تعیین پایداری امولسیون محسوب می‌شود [۱۱]. تغییر مکان این منحنی‌ها به ناحیه اندازه قطرات کوچک‌تر حاکی از این است که مخلوط پروتئین-پلی ساکارید نسبت به هر یک از اجزاء به تنهایی در پوشش دهی مناسب قطرات و پایداری آنها بعد از تشکیل مؤثرتر بوده است [۱۱]. در مطالعاتی که روی اثر امولسیون‌کنندگی مخلوط ایزوله پروتئینی سویا و صمغ عربی انجام گرفته است نیز نتایج مشابهی در مورد جایجایی منحنی توزیع اندازه قطرات به نواحی با اندازه کوچک‌تر گزارش شده است [۱۵].

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

در این معادله $d(V, 10)$ ، $d(V, 50)$ و $d(V, 90)$ قطر ذرات به ترتیب در ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصد حجم تجمعی می‌باشند [۱۳].

۲-۲-۳- سنجش گرانروی و ویژگی‌های رئولوژیکی

امولسیون

گرانروی ظاهری (μ_{app}) و بررسی رفتار جریان نمونه‌ها با استفاده از ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (مدل DV-III Ultra، شرکت بروکفیلد، آمریکا) انجام شد. کلیه سنجش‌ها با بکارگیری دوک SC4-18 در محدوده درجه برش S^{-1} ۳۰۰-۱۰ (دوره‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ دور در دقیقه) و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به عمل آمد. برای مدل سازی رفتار جریان از نرم افزار سیگما پلات نسخه ۷ استفاده شد [۱۳].

۲-۲-۴- بررسی پایداری امولسیون

نمونه امولسیون تازه به لوله‌های درب دار مدرج ۴۰ میلی لیتری منتقل و به مدت ۴ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور بررسی پدیده خامه‌ای شدن، تمامی امولسیون‌ها پس از ۱، ۲، ۳ و ۴ هفته کنترل شدند. پس از نگهداری، برخی از امولسیون‌ها دوفاز شده بودند، لایه خامه‌ای در بالا و لایه سرم در قسمت پایینی امولسیون بود. کل ارتفاع امولسیون (HE) و ارتفاع قسمت فوقانی (HC) اندازه گیری شده و درصد جداسازی طبق معادله زیر با محاسبه نسبت HC به HE به دست آمد [۱۴]:

$$= HC/HE \times 100 = \text{درصد جدا سازی}$$

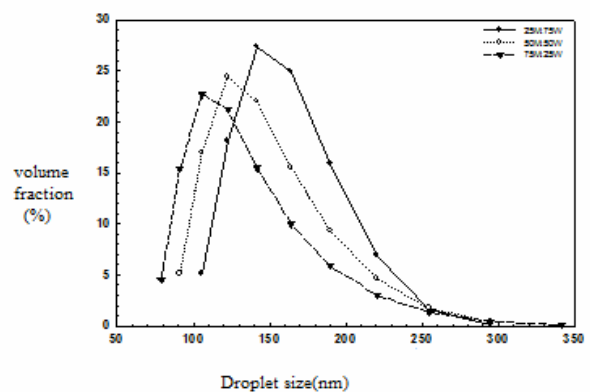
۲-۲-۵- تحلیل آماری

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.

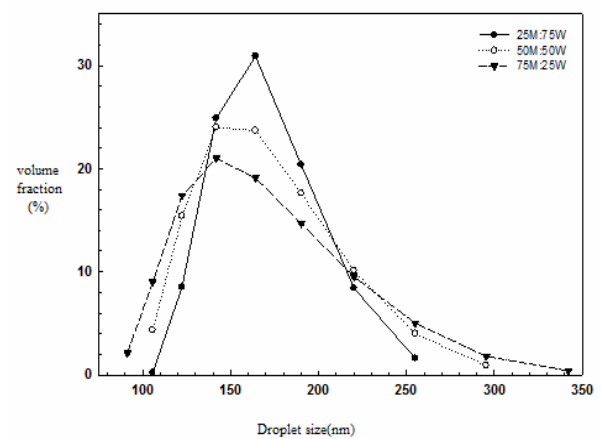
متوسط اندازه قطر قطرات تمام امولسیون‌ها بین ۱۲۸/۵۶ تا ۲۳۲/۶۳ نانومتر متغیر بود (جدول ۱). امولسیون‌های تهیه شده با سطوح بالاتر مالتودکسترین نسبت به امولسیون‌های حاوی مقادیر بالاتر پروتئین آب پنیر، اندازه ذرات کوچکتری داشتند ($p < 0.05$). این موضوع احتمالاً به دلیل تفاوت در توانایی تشکیل امولسیون توسط این دو پلیمر است. سرعت جذب این دو پلیمر بر سطح قطرات اسانس، ویژگی‌های شکل پذیری و هم چنین برهم کنش‌های مولکولی در لایه مشترک فاز روغن-آب می‌تواند بر اندازه ذرات و پایداری امولسیون موثر باشد [۱۶]. تحقیقات نشان داده است که جذب سطحی پروتئین در لایه مشترک آب-روغن، بسیار آهسته می‌باشد و پروتئین‌های موجود در فاز پیوسته به کندی جذب سطح روغن می‌شوند [۱۷ و ۱۸]. در محلول‌های آبی، آرایش فضایی پروتئین‌های کروی مانند پروتئین‌های شیر و پروتئین‌های آب پنیر به این صورت است که اسیدهای آمینه آب دوست در سطح و اسیدهای آمینه آب گریز در داخل قرار می‌گیرند. این پروتئین‌ها باید آرایش فضایی خود را تغییر دهند تا بتوانند به عنوان امولسیون کننده عمل کنند [۱۰]. بنابراین، طولانی بودن زمان دانتوراسیون و تغییرات آرایش فضایی پروتئین‌های آب پنیر در لایه مشترک دو فاز، احتمال بر هم کنش‌های قطرات و تجمع آنها را افزایش می‌دهد.

نتایج سنجش قطر متوسط قطرات نشان داد که مخلوط پروتئین-پلی‌ساکارید باعث کاهش اندازه قطرات اسانس شدند (جدول ۱). به نظر می‌رسد کوچکتر شدن اندازه قطرات در حضور مخلوط پروتئین-پلی‌ساکارید به دلایل مختلف مانند تغییر در ساختار پروتئین و ایجاد پیوندهای جدید که از برهم‌کنش پروتئین-پلی‌ساکارید نشأت می‌گیرد باشد [۱۹ و ۲۰]. نکته حائز اهمیت در این رابطه اثر هم افزایی مخلوط پروتئین-پلی‌ساکارید در قدرت امولسیون کنندگی است. البته باید افزود که اتصال زنجیره‌های حجیم مالتودکسترین 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 [۲۱]. این ویژگی در مرحله تشکیل امولسیون و طی نگهداری آن نقش مهمی را ایفا می‌کند.

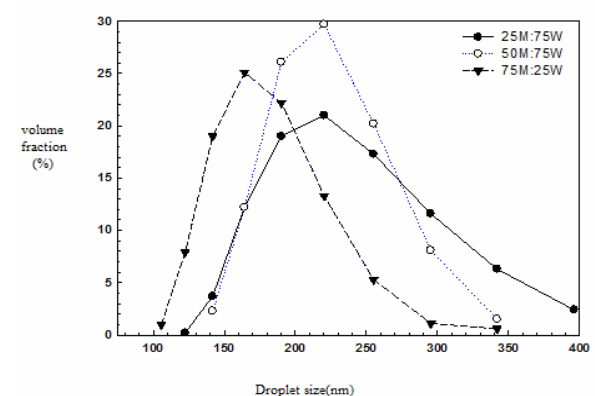
با تغییر غلظت از ۱۰ به ۳۰ درصد، عدد اسپان نیز افزایش یافت (جدول ۱). این افزایش اندازه اسپان ممکن است به دلیل تشدید



A



B



C

Fig 1 Particle size distribution for emulsions with different WPC and MD ratios. Concentrations: 10% (a), 20% (b) and 30% (c).

۲-۳- تأثیر نسبت‌های مختلف پروتئین-پلی

ساکارید بر گرانروی

رفتار جریان امولسیون در نسبت‌های مختلف پروتئین-پلی ساکارید و غلظت‌های ۱۰ تا ۳۰ درصد در دامنه درجه برشی مورد مطالعه در شکل ۲ آورده شده است. همان گونه که مشاهده می‌شود با افزایش درجه برش، گرانروی به صورت غیرخطی در تمامی نمونه‌ها کاهش یافت که مؤید رفتار غیر نیوتنی آنهاست. بررسی تغییرات گرانروی 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 گرانروی ظاهری کاهش یافت. لازم به ذکر است که در درجات برش بالا ($< 300 \text{ s}^{-1}$) گرانروی ظاهری امولسیون‌ها تقریباً مستقل از درجه برش بود و به رفتار نیوتنی شباهت داشت. نتایج مطالعات مشابه نشان داد که بروز رفتار شبه پلاستیک رقیق شونده با برش در امولسیون‌ها احتمالاً به دلیل شکسته شدن ذرات و کاهش اندازه ذرات در هنگام اعمال تنش باشد [۱۶]. از این رو گرانروی ظاهری آنها به جهت شکسته شدن تجمعات قطرات در اثر اعمال تنش به سرعت کاهش یافت و به تدریج که گویچه‌ها در راستای نیروی برش قرار گرفتند به حد ثابتی رسیدند و افزایش بیشتر سرعت برش تأثیر چندانی بر آن نداشت [۱۳]. همان گونه که از منحنی‌های جریان پیداست سرعت کاهش گرانروی ظاهری با افزایش نسبت مالتو دکسترین به WPC کاهش یافت. کوچک‌تر بودن اندازه گویچه‌ها در امولسیون‌های حاوی مخلوط WPC- مالتو دکسترین نیز موید این نتیجه‌گیری است. این نتیجه‌گیری را می‌توان با بررسی رفتار جریانی امولسیون حاوی مالتو دکسترین تایید کرد [۱۳].

برهم کنش بین پلیمرهای پروتئین-پلی ساکارید در سطح مشترک روغن و آب (فاز پیوسته) باشد [۱۶]. در این شرایط، احتمال ایجاد برهم کنش بین قطرات و تشکیل شبکه عرضی^۱ و یا خوشه‌ای شدن^۲ افزایش می‌یابد که این امر باعث ناپایداری و ترسیب سیستم می‌گردد.

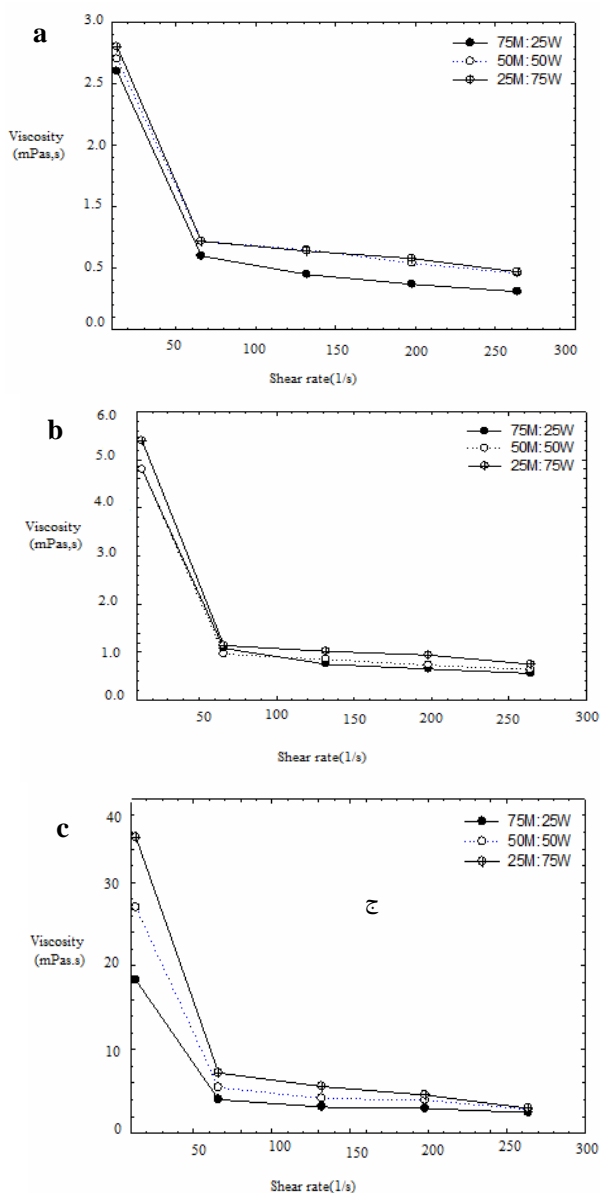
چنانچه ملاحظه شد مخلوط‌های حاصل از نسبت‌های مختلف پروتئین- مالتو دکسترین قدرت امولسیون کنندگی یکسانی نداشتند و شاخص‌های کیفی امولسیون حاصل از آنها نیز متفاوت بود. این موضوع توسط سایر محققان نیز گزارش شده است [۲۲ و ۲۳]. اصولاً نسبت بهینه پروتئین-کربوهیدرات نسبتی است که مخلوط حاصل بتواند سطح بیشتری از 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 سرم آلبومین گاوی- دکستران [۲۴]، پروتئین آب پنیر-دکستران [۱۶] و صمغ شنبلیله-پروتئین پساب سویا [۲۳] نسبت بهینه به ترتیب ۲۵:۷۵، ۵۰:۵۰ و ۷۵:۲۵ تعیین شده است. در این تحقیق نسبت بهینه پروتئین- مالتو دکسترین ۷۵:۲۵ است و سایر نسبت‌ها از اندازه ذره بالاتری برخوردار بودند. احتمال می‌رود در این شرایط مولکول‌های مالتو دکسترین مازاد در فاز آبی امولسیون پراکنده شده و از طریق ایجاد بهم پیوستگی نقصانی^۳ باعث پراکندگی قطرات و کاهش اندازه آنها شده باشد. به نظر می‌رسد در نسبت ۲۵:۷۵ به علت کم بودن مقدار مالتو دکسترین و ناکافی بودن تعداد گروه‌های هیدروکسیل احیا کننده همه مولکول‌های پروتئین تغییر ساختار پیدا نکردند و در نتیجه بخشی از این مولکول‌ها بدون تغییر باقی ماندند. این مولکول‌ها از خاصیت دوگانه دوست پایین‌تر و قدرت امولسیون کنندگی کمتری نسبت به انواع دیگر مخلوط برخوردارند و به علت عدم پوشش‌دهی مناسب سطح موجب درشت شدن قطرات می‌شوند.

1. Bridging network
2. Cluster formation
3. Depletion flocculation

Tab 1 Particle size and Span for emulsions with different WPC and maltodextrin ratio and concentrations at 25°C

Span			Droplet size (nm)			Ratio
%30	%20	%10	%30	%20	%10	
1.63±0.05	1.23±0.07	1.13±0.06	175.98±0.1833	161.34±1.1702	128.56±0.0648	W25*:M75
1.71±0.07	1.43±0.08	1.23±0.05	220.49±2.6050	164.95±0.0787	142.53±0.0921	W50:M50
1.85±0.06	1.57±0.05	1.34±0.03	323.6310±1.0085	166.41±0.1317	158.02±0.0860	W75:M25

WPC: W, Maltodextrin:M :*

**Fig 2** Apparent viscosity for emulsions with different WPC- maltodextrin ratios and concentrations: 10% (a), 20% (b) and 30% (c).

نکته جالب توجه کمتر بودن مقدار عددی گرانروی ظاهری در نمونه‌های دارای نسبت بالای مالتودکسترین نسبت به سایر مخلوط‌ها بود. این در حالی است که انتظار می‌رفت مخلوط مالتودکسترین-پروتئین باعث بیشتر شدن گرانروی شود. نتایج مشابهی نیز توسط سایر محققان عنوان شده است [۲۲،۲۵]. توضیحی که در این رابطه ارائه شده این است که اتصال پلی ساکارید به پروتئین و باز شدن ساختمان آن آبدوستی سطحی و شعاع هیدرودینامیک را افزایش می‌دهد که نهایتاً به زیاد شدن درجه هیدراسیون و گرانروی می‌انجامد [۲۶]. به نظر می‌رسد این مکانیسم در مورد همه مخلوط‌های پروتئین-کربوهیدرات صادق نیست و ماهیت کربوهیدرات در تغییر گرانروی تأثیر گذار است [۲۷]. بنابراین تصور می‌شود علت نتیجه‌ای که در پژوهش حاضر به دست آمده است را نیز باید در آرایش فضایی زنجیر مالتودکسترین در سطح قطرات و یا دافعه فضایی-الکترواستاتیک بین قطره‌ای که مانع از نزدیک شدن آنها به هم و درگیر شدن رشته‌های پلی ساکاریدی به عنوان عامل اصلی ایجاد گرانروی می‌شود، جستجو نمود.

علاوه بر این، معمولاً با افزایش غلظت مخلوط و در نتیجه افزایش گرانروی فاز پیوسته توسط مالتودکسترین، حداقل نیروی برشی مورد نیاز برای بروز پدیده کاویتاسیون نیز افزایش می‌یابد [۱۳]. این موضوع با کاهش تعداد حباب‌های فعال و تنش برشی در میدان کاویتاسیون همراه است. در این شرایط مقدار انرژی توزیع شده در داخل امولسیون برای تجزیه کامل قطرات، کافی نبوده و بنابراین باعث افزایش تعداد ذرات بزرگ‌تر شده و دامنه پراکنش آنها نیز افزایش می‌یابد. این نتایج با یافته‌های سایر پژوهشگران زمینه مطابقت داشت [۲۸، ۲۹، ۳۰].

با گزارش سایر پژوهشگران نیز مطابقت دارد [۳۱، ۳۲]. بر اساس این تحقیقات، افزایش گرانیروی با توجه به نوع پروتئین و کربوهیدرات مورد استفاده، به عواملی از جمله بهم پیوستگی نقصانی و یا ایجاد پل عرضی ارتباط داشت.

با افزایش غلظت ترکیب پروتئین و پلی‌ساکارید از ۱۰ به ۳۰ درصد، شاخص رفتار جریان امولسیون‌ها افزایش محسوسی را نشان داد (جدول ۲). استفاده از بیوپلیمرهایی نظیر پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها باعث ایجاد رفتار رقیق شونده و افزایش ضریب قوام امولسیون‌های روغن در آب می‌شوند [۲۸، ۳۳]. در حقیقت در غلظت‌های بالا، از ناحیه رقیق بیوپلیمرها گذشته و درگیری بین زنجیره‌های بیوپلیمری افزایش یافته و در نتیجه ضریب قوام افزایش می‌یابد. هرچند این افزایش ضریب قوام با افزایش غلظت چندان دور از انتظار نیست و در بسیاری از محلول‌های بیوپلیمری با افزایش غلظت افزایش ضریب قوام رخ می‌دهد. به عبارت دیگر، وجود تعداد زیاد مولکول‌های با وزن مولکولی بالا، مقاومت امولسیون نسبت به جریان را افزایش داده و باعث افزایش سودوپلاستیسیته می‌شود [۵، ۳۴، ۳۵].

در جدول ۲ پارامترهای شاخص رفتار جریان (n) و ضریب قوام (k) که بر مبنای قانون توان برای سامانه‌های امولسیونی محاسبه شده‌اند، آورده شده است. چنان که ملاحظه می‌شود ضریب تبیین 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. همان گونه که مشاهده می‌شود بیشترین ضریب قوام و کم‌ترین شاخص رفتار جریان در نمونه امولسیون حاوی مالتو دکسترین- پروتئین به نسبت W75:M25 وجود داشت. از سوی دیگر، نسبت‌های امولسیون تهیه شده با مخلوط‌های پروتئین-پلی‌ساکارید پارامترهای رفتار جریانی حذف‌شده بین پروتئین و مالتو دکسترین نشان دادند [۱۳]. این داده‌ها نشان می‌دهد که در حضور WPC و یا افزایش نسبت آن، رفتار نزدیک به نیوتنی که در امولسیون تهیه شده با مالتو دکسترین مشاهده شد به شبه پلاستیک تغییر پیدا کرد. افزایش ضریب قوام در نمونه‌های حاوی نسبت‌های مالتو دکسترین بیانگر افزایش گرانیروی با افزایش اندازه قطرات است (جدول ۱ و ۲)؛ که با در نظر گرفتن رفتار رقیق شونده‌گی با برش به هم پیوستگی گویچه‌ها را تایید می‌کند. این مشاهدات

Tab 2 Flow behavior (n) and consistency index (k) of emulsions with different WPC and maltodextrin ratios and concentrations

30%			20%			10%			Ratio
R^2	n	k (mPa.s ^{n})	R^2	n	k (mPa.s ^{n})	R^2	n	k (mPa.s ^{n})	
0.99	0.86±0.01	87.21±0.01	0.99	0.72±0.001	22.45±0.01	0.99	0.66±0.01	7.45±0.01	W25:M75
0.99	0.78±0.08	152.22±0.02	0.99	0.66±0.008	23.61±0.01	0.99	0.52±0.01	7.71±0.01	W50:M50
0.99	0.72±0.03	245.34±0.02	0.99	0.65±0.008	27.40±0.01	0.99	0.51±0.01	9.95±0.01	W75:M25

WPC: W, Maltodextrin:M *

کمی دوفاز شد. با افزایش درصد مخلوط پروتئین-پلی‌ساکاریدی سامانه امولسیونی پایداری امولسیون کاهش یافت که به‌نظر می‌رسد به دلیل تشکیل ذرات درشت در سیستم امولسیونی بوده است (جدول ۱) که منجر به دوفازی شدن سیستم امولسیونی حاوی اسانس آویشن گردیده است.

۳-۳- تأثیر MD و WPC بر پایداری

امولسیون

نتایج مربوط به بررسی پایداری امولسیون‌های تثبیت شده با نسبت‌های مختلف پروتئین و مالتو دکسترین در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که امولسیون حاوی ۱۰ درصد مخلوط پروتئین-پلی‌ساکارید، از نظر سینتیکی پایدار بوده و به میزان

تجمع و بزرگ شدن قطرات می‌باشد [۳۶]. این تغییرات در ارتباط با اندازه قطرات و نحوه توزیع آن‌ها در فاز پراکنده است. طبق قانون استوکس، سرعت حرکت ذرات با مربع شعاع مرتبط است. بنابراین، پایداری امولسیون با کاهش اندازه ذرات و افزایش گرانیوی افزایش می‌یابد. نحوه توزیع اندازه ذرات و متوسط قطر قطرات عامل بسیار مهمی در پایداری امولسیون و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن است. بنابراین، باتوجه به اینکه افزایش مقدار مالتودکسترین باعث کاهش اندازه ذرات در سامانه امولسیونی گردید، نسبت‌های بالاتر مالتودکسترین به پروتئین می‌تواند به ثبات امولسیونی منجر شود.

با افزایش نسبت پروتئین به مالتودکسترین پایداری امولسیون کاهش یافت ($p < 0.05$). این امر نیز احتمالاً به دلیل افزایش اندازه ذرات بوده است که منجر به دوفاز شدن سامانه گردیده است. احتمال دارد ناپایداری حاصل از افزایش میزان پروتئین به تجمع پروتئین‌های جذب نشده مربوط باشد، چون اگر میزان پروتئین برای پوشش سطح روغن کافی باشد پروتئین اضافی به صورت جذب نشده در سامانه باقی خواهد ماند. در واقع، امولسیون‌های حاوی مقادیر بالاتر مالتودکسترین از پایداری بیشتری نسبت به سایر امولسیون‌ها برخوردار بودند. ناپایداری امولسیون‌ها به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم‌ترین آنها

Tab 3 Emulsion stability of emulsions with different WPC and maltodextrin ratios and concentrations

separation			Ratio
30%	20%	10%	W25:M75
7±0.0098	2±0.0009	0±0	W50:M50
8.33±0.0124	3.6±0.0006	0±0	W75:M25
9.33±0.0203	5.6±0.0010	1±0.001	

افزایش میزان پروتئین از ۲۵ به ۷۵ درصد و غلظت سوسپانسیون از ۱۰ به ۳۰ درصد افزایش یافت. در مجموع چنین به نظر می‌رسد که با استفاده از مخلوط پروتئین آب پنیر و مالتودکسترین می‌توان به ترکیب دوگانه دوست با خواص سطحی مناسب دست یافت.

۵- منابع

- [1] Acosta, E. (2009). Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14(1): 3–15.
- [2] Jafari, S.M., He, Y., and Bhandari, B. (2007). Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. *Food Research International*, 40: 862-873.
- [3] Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., and Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108–109, 303–318.
- [4] McClements, D. (2005). *Food emulsions: Principles, practice, and techniques* (2nd ed.). Boca Raton: CRC.

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش از مخلوط پروتئین-مالتودکسترین در نسبت‌های مختلف و غلظت‌های مختلف به روش فراصوت تهیه شد و تأثیر آن بر شاخص‌های کیفی امولسیون روغن در آب بررسی گردید. در نسبت W25:M75 پروتئین-مالتودکسترین کوچکترین اندازه قطرات بدست آمد که نشان دهنده فعالیت سطحی مناسب مخلوط این دو بیوپلیمر است. مطالعه رفتار جریان و محاسبه شاخص‌های رئولوژیکی و نیز پایداری امولسیون‌ها 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 ممکن است به دلیل دافعه فضایی ناشی از قرار گرفتن زنجیرهای مالتودکسترین در سطح قطرات باشد. به نظر می‌رسد که گروه‌های هیدروکسیل مالتودکسترین با گروه‌های عاملی آمیدی و کربوکسیلی پروتئین‌های مستقر در سطح قطرات اتصال برقرار کرده است. بررسی نتایج نشان داد که نسبت پروتئین-پلی‌ساکارید تأثیر بسیار مهمی بر ویژگی‌های نانوامولسیون اسانس روغنی آویشن در آب داشت. در تمام امولسیون‌های مورد مطالعه اندازه قطر قطرات و گرانیوی با

- protein isolates- acacia gum conjugates. *Czech Journal Food Science*, 29: 129–136.
- [16] Akhtar, M., and 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.
- [17] Arboleya, J.C., and Wilde, P.G. (2005). Competitive adsorption of proteins with methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 19(3): 485-491.
- [18] Pugnali, L.A., Dickinson, E., Ettelaie, R., Mackie, A.R., and Wilde, P.J. (2004). Competitive adsorption of proteins and low-molecular weight surfactants: computer simulation and microscopic imaging. *Advances in Colloid and Interface Science*, 107(1): 27-49.
- [19] Kim, H.J., Decker, E.A. and McClements, D.J. (2002). Role of postadsorption conformation of α -lactoglobulin on its ability to stabilize oil droplets against flocculation during heating at neutral pH. *Langmuir*, 18: 7577-7583.
- [20] Lin, L.H., Chen, K.M., Liu, H.J., Chu, H.C., Kuo, T.C., Hwang, M.C. and 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] Guo, X. and Xiong, Y. L. (2013). Characteristics and functional properties of buckwheat protein-sugar Schiff base complexes. *LWT - Food Science and Technology*, 51: 397-404.
- [22] Xu, D., Wang, X., Jiang, J., Yuan, F. and Gao, Y. (2012). Impact of whey protein e Beet pectin conjugation on the physicochemical stability of β -carotene emulsions. *Food Hydrocolloids*, 28: 258-266.
- [23] Kasran, M., Cui, S.W. and 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.
- [24] Dickinson, E. and Galazka, V.B. (1992). Emulsion stabilization by protein-polysaccharide complex. In G.L. Philips, wedlock, D.J., and Williams, P.A. (Eds), *Gum*
- [5] Huang, X., Kakuda, Y., and Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsion: particle size distribution and interface activity. *Food Hydrocolloids*, 15: 533-542.
- [6] Dickinson, E., (1995). Emulsion stabilization by polysaccharides and protein–polysaccharide complexes. In: Stephen, A.M. (Ed.), *Food Polysaccharides and Their Applications*. Marcel Dekker, New York, pp. 501–515.
- [7] Reineccius, G.A. (1991). Carbohydrates for flavor encapsulation. *Food Technology*, 45: 144-147.
- [8] Goubet, I., Le Quere, J. L., and Voillery, A. (1998). Retention of aroma compounds by Carbohydrates: influence of their Physicochemical characteristics and of their physical state: *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 48: 1981-1990.
- [9] Dickinson, E. (1999). Adsorbed protein layers at fluid interfaces: interactions, structure and surface rheology. *Colloids Surf. B: Biointerf.* 15, 161–176.
- [10] McClements, D. (2004). Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 9(5): 305-313.
- [11] Dickinson, E. (2008). Emulsification and emulsion stabilization with protein–polysaccharide complexes. In: Williams, P.A., Phillips, G.O. (Eds.), *Gums and stabilizers for the food industry-14*. Royal Society, Cambridge UK, pp. 221–232.
- [12] Israelachvili, J.N. (1992). *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press, London, UK.
- [13] Sadeghian, A. Kadkhodae, R. Farhoosh, R. Koocheki, A., and Najaf Najafi, M. (2013). Investigating the effect of whey protein – starch conjugate on quality attributes of oil – in – water emulsion. *Journal of rifst*, 2(2): 139-152.
- [14] Helena C.F. Carneiro, Renata V. Tonon, Carlos R.F. Grosso, and Miriam D. Hubinger., (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall material. *Journal of food engineering*, 115(4): 443-451
- [15] Mu L., Zhao H., Zhao M., Cui Ch. and Liu L. (2011). Physicochemical properties of soy

- [31] Diftis, N., Billiaderis, K., and 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.
- [32] Benichou, A., Aserin, A., Lutz, R., and Garti, N. (2002). Formation and characterization of amphiphilic conjugates of whey protein isolate (WPI)/xanthan to improve surface activity. *Food Hydrocolloids*, 21: 379-391.
- [33] Karazhiyan, H., Razavi, Seyed M.A., Phillips, Glyn O., Fang, Y., Al-Assaf, S., Nishinari, K., and Farhoosh, R. (2009). Rheological properties of *Leodium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. *Food Hydrocolloids*, 23(8): 2062-2068.
- [34] Ibanoglu, E. (2002). Rheological behavior of whey protein stabilized emulsions in the presence of Gum Arabic. *Journal of food Engineering*, 52: 273-277.
- [35] Taherian, A. R., Fustier, P., and Ramaswamy, H. S. (2007). Effect of added weighting agent and Xanthan Gum on stability and rheological properties of beverage cloud emulsions formulated using modified starch. *Journal of Food Process Engineering*, 30: 204-224.
- [36] Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17: 25-39.
- and Stabilisers for the Food Industry. Vol.6. IRL Press, Oxford.
- [25] Paraman, I., Hettiarachchy, N. S., and Schaefer, C. (2007). Glycosylation and deamidation of rice endosperm protein for improved solubility and emulsifying properties. *Cereal Chemistry*, 84: 593-599.
- [26] Baniel, A., Caer, D., Colas, B., and 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.
- [27] Corzo-Martínez, M., Moreno, F. J., Villamiel, M. and Harte, F. M. (2010). Characterization and improvement of rheological properties of sodium caseinate glycosylated with galactose, lactose and dextran. *Food Hydrocolloids*, 24: 88-97.
- [28] Koocheki, A., Kadkhodae, R., Mortazavi, S.A., Shahidi, F., and Taherian, A.R. (2009). Influence of *Alyssum homolocarpum* seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 23: 2416-2424.
- [29] Behrend, O., Ax, K., and Schubert, H. (2000). Influence of continuous phase viscosity on emulsification by ultrasound. *Ultrasonic Sonochemistry*, 7:77-83.
- [30] Nerina, A., Camino, A., Perez, O.E., and Pilosof, A.M.R. (2009). Molecular and functional modification hydroxypropylmethylcellulose by high-intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 23: 1089-1095.

Effect of maltodextrin and whey protein concentrate on thyme essential oil nanoemulsion

Miri, M. ¹, Koocheki, A. ^{2*}, Mohebbat Mohebbi³, Masoud Najaf Najafi⁴

1. PhD student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, International unit of Ferdowsi University of Mashhad-Add: Khayam blv. Khorasan Razavi General office of Standard Org.
 2. PhD of food science, Associate professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad-Add: Ferdowsi University of Mashhad
 3. PhD of food science, Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad-Add: Ferdowsi University of Mashhad
 5. PhD of food science, Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Institute of Scientific Applied Higher Education Jihad-e-Agriculture
- (Received: 2015/03/26 Accepted: 2015/11/14)

The purpose of this study was to investigate the effect of maltodextrin (MD)-whey protein concentrate (WPC) mixture on physical properties of thyme essential oil nanoemulsion. For this purpose, ultrasonically-prepared emulsions (containing 5% (w/w) thyme essential oil) were prepared using mixture of MD and WPC at different concentrations (10, 20 and 30% w/w) and different ratios (25:75, 50:50 and 75:25). Emulsion properties such as droplet size, viscosity, flow properties and physical stability were studied. Results indicated that MD-WPC ratio and concentration of suspension had significant effect on emulsion properties. Mean diameter of droplets were between 128.5621-232.6310 nm, while droplet size of emulsions with maltodextrin was smaller than those for proteins. Same results observed for viscosity. On contrary, emulsion stability decreased with increasing WPC concentration. For all emulsions, increasing the concentration of MD-WPC from 10 to 30% w/w increased the particle size, viscosity and decreased their stability.

Keywords: Nanoemulsion, Maltodextrin, Whey protein concentrate, Ultrasonication, Emulsion stability

* Corresponding Author E-Mail Address: koocheki@um.ac.ir