

خواص ساختاری و مورفولوژیکی کمپلکس کنسانتره پروتئین آب پنیر-نشاسته اصلاح شده: تأثیر pH و نسبت بیوپلیمرها

محسن صهبایی اجلالی^۱، سیدمحمدعلی رضوی^{۲*}

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- قطب علمی هیدروکلوئیدهای طبیعی بومی ایران، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
* نویسنده مسئول (s.razavi@um.ac.ir)

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۳۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۵/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۴
تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۱/۰۵/۱۴

واژه‌های کلیدی

پروتئین آب پنیر
کمپلکس الکترواستاتیک
نشاسته اصلاح شده
هیدروکلوئید

در این پژوهش، تقابل بین کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) و نشاسته اصلاح شده با اکتانیل سوکسینیک انهدرید (OSAS) به عنوان تابعی از pH (۳، ۴، ۵ و ۶) و نسبت WPC به OSAS (۱:۲، ۱:۱ و ۲:۱) در غلظت کل ۱ درصد وزنی/وزنی با اندازه‌گیری خواص ساختاری (کدورت‌سنجی، اندازه ذرات، پتانسیل زتا، ویسکومتری، گروه‌های عملگر شیمیایی (FTIR) و مورفولوژیکی (SEM)) ارزیابی شد. بیشترین میزان پتانسیل زتا در نسبت ۱:۲ دو بیوپلیمر و pH=۳ مشاهده شد. با افزایش pH و کاهش نسبت WPC به OSAS میزان پتانسیل زتا کاهش یافت و در نسبت ۲:۱ و pH=۶ به کمترین مقدار خود رسید. کمترین اندازه ذرات در نسبت ۲:۱ و pH=۶ مشاهده گردید (۰/۸۱۹ میکرومتر) که با کاهش pH تا ۴ و افزایش نسبت بیوپلیمرها تا ۱:۲ به بیشترین مقدار رسید (۲/۲۶۰ میکرومتر). نتایج آزمون کدورت‌سنجی در تطابق با نتایج آزمون اندازه ذرات بود و بیشترین و کمترین میزان کدورت در نقاط مشابهی مشاهده گردید. بیشترین میزان ویسکوزیته در نسبت ۲:۱ و pH=۴ مشاهده شد (۱/۳۰۱ میلی پاسکال ثانیه). با کاهش نسبت OSAS به WPC و افزایش pH، کمترین میزان ویسکوزیته در نسبت ۱:۲ و pH=۶ مشخص شد (۱/۱۴۷ میلی پاسکال ثانیه). در تمامی صفات اندازه‌گیری شده اختلاف آماری معنی‌داری بین مقادیر WPC شاهد و محلول‌های کمپلکس وجود داشت ($P < 0/05$). در آزمون FTIR تضعیف پیک امید نوع دو و حذف پیک کربوکسیلات و گروه OSA گواهی بر تشکیل کمپلکس‌های الکترواستاتیکی بین WPC و OSAS بود. نتایج SEM نشان داد با تشکیل کمپلکس‌های الکترواستاتیک ساختارهای کروی WPC و OSAS تغییر کرده و تبدیل به ساختار شبکه‌ای و ورقه‌ای می‌گردد.



مقدمه

سیستم پایداری حاصل گردد. برهمکنش‌هایی از این دست موضوع، مورد علاقه بسیاری از دانشمندان حوزه صنایع غذایی شده است و تاکنون مقاله‌های مروری متعددی در این حوزه منتشر شده است (Dickinson, 1998; Kasapis, 2008; Ledward, 1993; Samant et al., 1993; Turgeon et al., 2003).

مواد غذایی سیستم‌های کمپلکس و هتروژنی هستند که از ساختارهای شیمیایی متفاوتی تشکیل شده‌اند. در محصولات که حاوی پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و الکترولیت‌ها هستند، برهمکنش‌های بین اجزای تشکیل‌دهنده مختلف بایستی به خوبی متعادل شود تا

پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها به‌عنوان عوامل ژل‌دهنده، قوام‌دهنده، پایدارکننده کف‌ها و امولسیون‌ها نقش مهمی در ویژگی‌های ساختاری، مکانیکی و فیزیکوشیمیایی مواد غذایی ایفا می‌کنند. خواص عملکردی-ساختاری پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها متأثر از برهمکنش آنها با یکدیگر و سایر اجزای سیستم‌های غذایی است (Tolstoguzov, 1991). بنابراین پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها به‌همراه یکدیگر به‌عنوان مواد اولیه عملگر در بسیاری از محصولات غذایی از قبیل محلول‌ها، ژل‌ها، امولسیون‌ها و کف‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. خواص عملکردی هریک از بیوپلیمرها با حضور بیوپلیمر دیگر اصلاح می‌شود. به‌عنوان مثال، حلالیت، پایداری کانفورماسیون، تشکیل ژل، فعالیت سطحی، ویژگی‌های امولسیفایری و ویژگی‌های کف‌کنندگی بسیاری از پروتئین‌ها به‌طور شدیدی تحت‌تأثیر برهمکنش با پلی‌ساکاریدها قرار می‌گیرد. فهم کامل از مبانی مولکولی برهمکنش‌های پروتئینی-پلی‌ساکاریدی و اثر این برهمکنش‌ها بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی مواد غذایی دانشمندان حوزه مواد غذایی را قادر می‌سازد تا در طراحی سیستم‌های غذایی به‌صورت سنجیده‌تر و سیستماتیک عمل کنند (Harnsilawat et al., 2006).

پروتئین‌های آب‌پنیر به‌عنوان ماده اولیه بارزش در فرمولاسیون محصولات غذایی به‌دلیل ویژگی‌های عملکردی، تغذیه‌ای و سلامتی‌بخش مطلوب بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرند (Firebaugh & Daubert, 2005; Hou et al., 2019). پروتئین‌های آب‌پنیر به دو صورت کنسانتره (WPC^۱) و ایزوله (WPI^۲) نسبت به سایر منابع پروتئینی مانند کازئین‌ها ارزان‌تر (Abbas et al., 2014) و هضم و جذب بالاتری دارند (Sindayikengera & Xia, 2006).
 نشاسته اصلاح‌شده با اکتنیل سوکسینیک انهیدرید (OSAS^۳) یک امولسیفایر بیوپلیمری آمفی‌فیلیک ارزان‌قیمت است. بخش انتهایی هیدروفوب آن می‌تواند روی فاز روغنی جذب‌شده و گروه‌های هیدروفیل آن روی فاز آبی جذب می‌شوند و با کاهش کشش سطحی منجر به پایداری امولسیون‌ها و کف‌ها می‌شود (Li et al., 2018). OSAS به‌دلیل پایداری در برابر درجه‌حرارت بالا و در گستره وسیعی از pH و قدرت یونی موردتوجه قرار گرفته است

برای فرمولاسیون مواد غذایی بر مبنای مخلوط بیوپلیمرها (پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها) ضروری است تأثیر برهمکنش آنها در محیط‌های آبی درک شود تا بتوان ساختار و ترکیب آنها را تحت شرایط مختلف موردبررسی قرار داد (Sadahira et al., 2015). در یک تحقیق درک فرایند کوآسرواسیون کمپلکس WPI و صمغ عربی در غلظت کل ۳ درصد وزنی/وزنی در pHهای ۳، ۳/۵، ۴، ۴/۳۵ و ۴/۵ و نسبت ۲:۱ WPI به صمغ انجام شد و نتایج آزمایش‌ها نشان داد که pH=۴، pH برای تشکیل کمپلکس است زیرا در این نقطه بیشترین میزان ویسکوزیته و کدورت مشاهده شد (Weinbreck et al., 2003). کمپلکس‌های الکترواستاتیکی WPI و پکتین در نسبت ۱:۸ تا ۱:۲ WPI به پکتین را در pH ۴ تا ۶ در غلظت کل ۰/۵ درصد وزنی/وزنی و حرارت‌دهی در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه با هدف بررسی پایداری حرارتی ذرات کمپلکس مورد مطالعه قرار گرفت (Krzeminski et al., 2014). در pH=۴ پکتین به شدت با نواحی کاتیونی روی سطح WPI طی حرارت‌دهی واکنش می‌دهد و بنابراین بیشترین برهمکنش الکترواستاتیک اتفاق می‌افتد. نتایج تحقیق نشان داد که با حرارت‌دهی کمپلکس WPI و پکتین در pH=۴ پایداری حرارتی WPI افزایش می‌یابد. فرایند کوآسرواسیون کمپلکس در مورد WPI و موسیلاژ دانه تمر هندی^۴، WPI-صمغ عربی در بازه pH ۲ تا ۵/۵ و غلظت کل ۱ درصد وزنی/وزنی مورد مطالعه قرار گرفت (González-Martínez et al., 2017). برهمکنش بهینه در مورد WPI و موسیلاژ تمر هندی در pH=۳/۶۸ و نسبت ۱:۰/۳ پروتئین-موسیلاژ و در مورد WPI-صمغ عربی در

¹ Whey protein concentrate

² Whey protein isolate

³ Octenyl succinic anhydride modified starch

⁴ Tamrinated seed mucilage

هیدروکلریک با خلوص ۳۷ درصد و سود (شرکت مرک، ساخت آلمان) تهیه گردید.

روش آماده سازی محلول ها

پودرهای WPC و OSAS توسط ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند. محلول های استوک OSAS و WPC از انحلال پودرها در آب دیونیزه تهیه گردید و پس از هم زدن به مدت ۱ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه (حدود ۲۵ درجه سانتی گراد)، در دمای یخچال (حدود ۴ درجه سانتی گراد) به مدت یک شبانه روز قرار گرفت تا به طور کامل هیدراته شود. از سدیم آزید ۰/۰۲ درصد وزنی/وزنی به محلول در جهت جلوگیری از رشد میکروبی استفاده گردید. از اسید کلریدریک و سود برای تنظیم pH قبل از آزمایش استفاده شد (Wang et al., 2015; Wu & McClements, 2015).

مقادیر مشخص از WPC و OSAS با انتخاب حجم مناسب از محلول استوک WPC و OSAS و در نسبت های ۱:۱، ۱:۲، ۱:۳ و ۱:۴ به WPC به OSAS روی یک همزن با دور ۳۰۰ دور در دقیقه با یکدیگر مخلوط شد تا به غلظت نهایی ۱ درصد وزنی/وزنی برسد، سپس pH محلول را با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۱، ۰/۵ و ۱ نرمال به مقادیر مشخص ۳، ۴، ۵ و ۶ با استفاده از pH متر (Canaway-SAT 401، سبلان آزماهای تهران، ساخت ایران) رسانده شد. از سود نیز در جهت تنظیم pH استفاده شد. سپس نمونه ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از قراردادن در حمام آب یخ و تنظیم مجدد pH، نمونه ها به مدت یک شبانه روز پیش از آزمون های پتانسیل زتا، کدورت سنجی و اندازه ذرات روی همزن با ۳۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت و آزمون های مربوطه انجام گردید (Oduse et al., 2017; Wu & McClements, 2019; Zhao et al., 2015).

اندازه گیری پتانسیل زتا

مقادیر پتانسیل زتا محلول های ۱ درصد وزنی/وزنی WPC، OSAS و مخلوط آنها در pH ها و نسبت های اختلاط مختلف بر مبنای تحرک ذرات و به وسیله پراکندگی نور لیزر توسط دستگاه اندازه گیری پتانسیل زتا (CAD-مدل Zeta

pH=۳/۴۶ و نسبت ۱/۴:۱ پروتئین به صمغ حاصل شد. آزمون FTIR تشکیل کمپلکس بین مولکولی از طریق برهمکنش های الکترواستاتیک و پیوندهای هیدروژنی را نشان داد. این مطالعه بیانگر آن بود که با انجام فرایند کمپلکس الکترواستاتیک، پایداری حرارتی WPI افزایش می یابد. کمپلکس WPI و کاپاکاراگینان در pH های ۳، ۴، ۴/۵، ۵/۸ و ۷، غلظت کل ۱ درصد وزنی/وزنی و نسبت ۱:۱ مورد بررسی قرار گرفت (Vargas-Castro et al., 2018). نتایج آزمایش ها نشان داد که pH ۴ تا ۴/۵، pH بهینه برای تشکیل کمپلکس است. بیشترین میزان ویسکوزیته در این pH مشاهده شد و کمپلکس از مقاومت بالاتری نسبت به تنش برشی و درجه حرارت در مقایسه با هر کدام از بیوپلیمرها به تنهایی برخوردار بود. در مطالعه دیگری فرایند کوآسرواسیون بین WPI و موسیلاژ دانه به (QSM^۱) به عنوان تابعی از pH (۲ تا ۷)، غلظت های بیوپلیمری (۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۵ درصد) و نسبت WPI به QSM (۱۰:۹۰ تا ۱۰:۱۰) مورد بررسی قرار گرفت (Ghadermazi et al., 2019). بالاترین کدورت و اندازه ذرات در pH=۴، نسبت ۷۰:۳۰، WPI:QSM و غلظت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی بیوپلیمری مشاهده شد. بررسی منابع نشان می دهد تاکنون هیچ تحقیقی درباره درک تقابل بین کنسانتره پروتئینی آب پنیر و نشاسته اصلاح شده با اکتیل سوکسینیک انهدرید منتشر نشده است.

از این رو، اهداف تحقیق حاضر بررسی خواص کمپلکس WPC و OSAS در محیط آبی در غلظت کل ۱ درصد وزنی/وزنی دو بیوپلیمر به عنوان تابعی از نسبت WPC به OSAS (۱:۱، ۲:۱ و ۳:۱) و pH (۳، ۴، ۵ و ۶) بوده است، برای این منظور، خواص ساختاری به کمک آزمون های اندازه گیری پتانسیل زتا، کدورت سنجی، اندازه ذرات، ویسکومتری و طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR^۲) و خواص ریزساختمانی با آزمون عکس برداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) اندازه گیری شدند.

مواد و روش ها

مواد

مواد این پژوهش شامل OSAS (HICAP100، سدیم اکتیل سوکسینات، شرکت Ingredion، ساخت آلمان)، WPC ۸۰ درصد (شرکت میلی، ساخت آلمان) و اسید

¹ Quince seed mucilage

² Fourier-transform infrared spectroscopy

آزمون طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FTIR) نمونه‌های WPC، OSAS و مخلوط WPC-OSAS که توسط خشک‌کن انجمادی (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و فشار ۰/۱ میلی‌بار) تهیه و آسیاب شده بودند، با استفاده از KBr تشکیل یک مخلوط را داده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر FTIR (Thermo Nicolet، ساخت آمریکا) مورد آزمون قرار گرفتند. طیف مرجع توسط KBr خالص تهیه شد. تمام طیف‌ها با رزولوشن ۴ بر سانتی‌متر در دامنه طول موج ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی‌متر به دست آمدند (Zhao *et al.*, 2019).

تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تصویر برداری میکروسکوپ الکترونی روبشی توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی (مدل MIRA3، شرکت TESCAN، ساخت چکسلواکی) در ولتاژ ۱۰ کیلوولت انجام شد (Mohammad Amini *et al.*, 2015).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی، دو تیمار pH (در ۴ سطح) و نسبت WPC به OSAS (در ۳ سطح) و در سه تکرار انجام گردید. آنالیز واریانس ANOVA و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Sigmaplot نسخه ۱۴ ترسیم شدند.

نتایج و بحث

پتانسیل زتا

پتانسیل زتا کمیتهی است که اشاره به برهمکنش‌های بار-بار بین دو بیوپلیمر دارد. مقدار پتانسیل زتای محلول ۱ درصد OSAS از میانگین ۶/۶۳- میلی‌ولت در pH ۳ تا ۲۲/۰۷- میلی‌ولت در pH=۶ متغیر بود (شکل ۱)، که به دلیل حضور گروه‌های کربوکسیلیک اسید در ساختار گروه اکتیل می‌باشد. در تحقیق‌های Wu و McClements (2015) پتانسیل زتای محلول ۰/۵ درصد وزنی/وزنی OSAS از میانگین ۵- میلی‌ولت در pH ۳ تا ۱۹/۴- میلی‌ولت در pH=۶ متغیر بود (Kholoosi *et al.*, 2021). پتانسیل زتای صمغ عربی و پتانسیل

Compact، ساخت فرانسه) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها جهت آزمون پتانسیل زتا ۱۰ برابر با آب مقطر رقیق شدند (Wu & McClements, 2015).

تعیین اندازه ذرات

اندازه ذرات محلول‌ها توسط دستگاه سنجش اندازه ذرات (شرکت شیمادزو، ساخت ژاپن) تعیین شد. ضریب شکست برای فاز پیوسته آب روی ۱/۳۳ تنظیم شد و ضریب شکست برای فاز پراکنده روی ۱/۴۵ که بر مبنای داده‌های دستگاه بود، تنظیم گردید (Wu & McClements, 2015).

اندازه‌گیری ویسکوزیته دینامیک

ویسکوزیته محلول‌های WPC، OSAS و مخلوط WPC-OSAS در نسبت و pHهای مشخص شده و در غلظت کل ۱ درصد وزنی/وزنی با استفاده از یک ویسکومتر لوله موئینه کالیبره شده آبلود (کانن آبلود، سمی میکروویسکومتر، شرکت کانن، ساخت آمریکا) تعیین شد. این دستگاه مجهز به یک حمام آب برای تنظیم دمای ثابت می‌باشد. نمونه‌ها توسط سمپلر وارد ویسکومتر شده و سپس توسط پوآر به قسمت بالایی بازوی ویسکومتر مکش اعمال گردید تا زمانی که مایع به درون حباب بالایی کشیده شود. زمانی که مکش برداشته شد در اثر نیروی جاذبه مایع جریان یافت. مدت زمانی که مایع از محل خط نشانه بالایی به خط نشانه پایینی می‌رسد توسط یک کرنومتر اندازه‌گیری گردید. سپس با استفاده از معادله pkt که در آن p دانسیته برحسب گرم بر سانتی‌متر مکعب، k ثابت ویسکومتر و t زمان عبور نمونه‌ها برحسب ثانیه می‌باشد، ویسکوزیته دینامیک تمامی نمونه‌ها برحسب میلی‌پاسکال ثانیه محاسبه گردید. تمامی اندازه‌گیری‌ها در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شدند (Karazhiyan *et al.*, 2009).

کدورت‌سنجی

چگالی نوری (OD^1) محلول‌های WPC، OSAS و مخلوط آنها در pHها و نسبت‌های مختلف، در غلظت کل بیوپلیمر ۱ درصد وزنی/وزنی توسط اسپکتروفتومتری نوری مرئی-فرابنفش (فوتونیکس AR، مدل ۲۰۱۵، ساخت ایران) در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از آب مقطر به عنوان نمونه شاهد برای تمامی نمونه‌ها استفاده شد (Wu & McClements, 2015).

¹ Optical density

کمپلکس وجود ندارد. مطابق شکل (۱)، در pH های ثابت ۳ و ۴ میزان پتانسیل زتا در تمام نسبت های مورد مطالعه مثبت است. به نظر می رسد در این pH ها میزان بار الکتریکی نشاسته به دلیل پروتونه شدن گروه های کربوکسیلیک اسید به قدری نیست که قادر به خنثی سازی بار مثبت پروتئین آب پنیر باشد و علیرغم تشکیل کمپلکس های الکترواستاتیکی بین WPC و OSAS، مقادیر پتانسیل زتا (میزان بار کمپلکس ها) مثبت است (Weinbreck et al., 2003). Kholoosi و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند با کاهش نسبت WPC در pH ثابت ۳ از نسبت ۱:۵ WPC به صمغ دانه شاهی تا نسبت ۱:۱، پتانسیل زتا از +۱۵ میلی ولت تا +۳ میلی ولت کاهش یافت. در سایر نقاط pH نیز روند مشابهی مشاهده گردید. Wu و McClements (۲۰۱۵)، دریافتند با افزایش غلظت OSAS از صفر تا ۲ درصد وزنی/وزنی در غلظت ثابت ژلاتین ۰/۵ درصد وزنی/وزنی و در pH ثابت ۵، میزان بار مثبت کمپلکس از +۸/۶ تا -۱۱/۸ میلی ولت کاهش یافت. Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹) میزان تغییرات پتانسیل زتا در pH ثابت ۴/۵ و در غلظت ثابت ۰/۵ درصد وزنی/وزنی WPI و صمغ کتیرا به عنوان یک پلی ساکارید آنیونی را با افزایش غلظت صمغ کتیرا از ۰/۰۵ تا ۰/۷۵ درصد وزنی/وزنی از ۳/۱۱+ تا ۶/۸۲- میلی ولت گزارش دادند. Behrouzain و همکاران (۲۰۲۰)، نیز روند مشابهی را در مورد کمپلکس WPI-صمغ دانه ریحان مشاهده کردند.

اثر متقابل pH و نسبت بر طبق نتایج آنالیز واریانس معنی دار بود ($P < 0/05$). با افزایش غلظت OSAS و افزایش pH، میزان پتانسیل زتا به پایین ترین مقدار خود می رسد. بیشترین بار منفی کمپلکس در نسبت ۲:۱ WPC به OSAS و به مقدار میانگین ۲۳/۲۰- میلی ولت به دست آمد. با افزایش میزان OSAS، نقطه تعادل الکترواستاتیک کمپلکس WPC-OSAS در مقادیر pH پایین تر اتفاق می افتد. بر اثر تشکیل کمپلکس بین WPC و OSAS انشعاب هایی که به واسطه بار الکتریکی به یکدیگر متصل شده اند، حاوی نواحی هستند که از لحاظ بار الکتریکی خنثی شده اند. این نواحی کانفورماسیون خود را به واسطه pH تغییر می دهند و بنابراین رفتار متفاوتی در فاز آبی با توجه به تغییرات pH از خود نشان می دهند (شکل ۱)، (Klein et al., 2010).

زتای صمغ دانه شاهی را به عنوان صمغ های آنیونی در بازه pH ۳ تا ۶ عددی منفی گزارش نمودند و روند تغییرات پتانسیل زتای آنها با pH مشابه OSAS بود. مطابق شکل (۱)، میزان پتانسیل زتای WPC نیز در بازه pH ۳ تا ۶ نیز از میانگین ۲۸/۷۲+ در pH ۳ تا ۱۰/۷۰- میلی ولت در pH=۶ متغیر بود (Klein et al., 2010). Behrouzain و همکاران (۲۰۲۰) روند مشابهی را برای پتانسیل زتای WPC و WPI گزارش کردند، بدین ترتیب که با کاهش pH، پتانسیل زتای آنها کاهش نشان داد.

مطابق نتایج آنالیز واریانس (داده ها نشان داده نشده است)، اثر pH بر پتانسیل زتای محلول های کمپلکس معنی دار بود ($P < 0/05$). با توجه به شکل (۱)، در هر نسبت دو بیوپلیمر، با افزایش pH از ۳ تا ۶، میزان پتانسیل زتای محلول های کمپلکس کاهش یافت. در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS، با افزایش pH از ۳ تا ۶، پتانسیل زتا از عدد میانگین ۲۲/۵۵+ تا ۱۲/۷۳- میلی ولت کاهش یافت. در نسبت ۱:۱ این روند کاهشی از ۱۸/۸۲+ تا ۱۵/۵۲- میلی ولت بود. روند مشابهی نیز در نسبت ۲:۱ مشاهده شد. علت آن است که گروه های آمین با بار مثبت WPC با گروه های منفی کربوکسیل در OSAS واکنش داده و میزان بار الکتریکی محلول کمپلکس کاهش می یابد. Klein و همکاران (۲۰۱۰) پتانسیل زتای محلول کمپلکس WPI-صمغ عربی در غلظت کلی ۱ درصد و نسبت ۳:۱ WPI به صمغ را در pH های ۳، ۴، ۵ و ۶ به ترتیب اعداد +۸، -۵، -۲۲ و -۲۸ میلی ولت گزارش نمودند. Raoufi و همکاران (۲۰۱۷) برای کمپلکس WPI-صمغ فارسی در نسبت ثابت ۱۰:۱ WPI به صمغ در pH های ۳، ۴، ۵ و ۶ به ترتیب اعداد +۱۵، +۱۲، -۸ و -۱۵ میلی ولت را گزارش نمودند که روند مشابهی با نتایج تحقیق حاضر دارد. Behrouzain و همکاران (۲۰۲۰)، نیز روند مشابهی را در مورد کمپلکس WPI-صمغ دانه ریحان گزارش کردند.

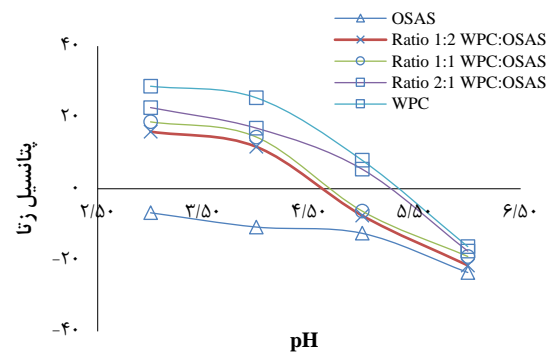
مطابق نتایج آنالیز واریانس (داده ها نشان داده نشده است)، اثر نسبت دو بیوپلیمر بر پتانسیل زتا نیز معنی دار بود ($P < 0/05$). با مشاهده شکل (۱) می توان دریافت در pH ثابت ۵ و در نسبت های ۲:۱ و ۱:۱ WPC به OSAS، پتانسیل زتا به ترتیب برابر ۷/۰۳- و ۵/۹۱- میلی ولت می باشد، در حالی که برای نسبت ۱:۲ WPC به OSAS، میانگین ۶/۵۸+ میلی ولت به دست آمد. احتمالاً در نسبت ۱:۲، میزان کافی OSAS برای پوشش دهی سطح ذرات

همکاران (۲۰۲۱)، نیز بیشترین اندازه ذرات را در غلظت کل ۰/۳ درصد وزنی/وزنی کمپلکس WPC و صمغ دانه شاهی در نسبت ۱:۵ WPC به صمغ در بازه pH ۲ تا ۷ را در pH=۳ و به میزان ۰/۷۷۴ میکرومتر به دست آوردند. مطابق جدول (۱)، روند مشابهی در مورد سایر نسبت‌های WPC به OSAS نیز مشاهده شد. علت بالاتر بودن اندازه قطر ذرات در مقایسه با پژوهش‌های فوق‌الذکر به پدیده فرکانس برخورد مولکول‌ها ارتباط داده می‌شود. به طوری که هرچه میزان غلظت بیشتر باشد به دلیل شرایط مناسب‌تر برخورد؛ تعداد برخورد و در نتیجه قطر ذره افزایش می‌یابد. در pH برابر ۵، قطر ذرات نسبت به pH=۴ کمتر است که می‌تواند به علت انقباض مولکولی و کاهش دافعه الکترواستاتیک باشد. در pH برابر ۳، اندازه ذرات کمپلکس کاهش می‌یابد، اگرچه در این نقطه، کمپلکس‌های الکترواستاتیکی بین WPC و OSAS اتفاق می‌افتد، اما در این pH به دلیل آنکه از نقطه ایزوالکتریک WPC فاصله گرفته است، پدیده توده‌ای شدن ذرات WPC اتفاق نمی‌افتد و یکی از دلایل ممکن برای کاهش اندازه ذرات، همین موضوع است. چنین روندی در تغییر اندازه ذرات با توجه به pH در تحقیق‌های Kholoosi و همکاران (۲۰۲۱)، Raoufi و همکاران (۲۰۱۷) و Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹) نیز مشاهده شد.

جدول ۱- اندازه ذرات OSAS، WPC و کمپلکس OSAS-WPC در غلظت کل ۱ درصد وزنی/وزنی به‌عنوان تابعی از pH

اندازه ذرات (میکرومتر)	pH	نسبت OSAS:WPC
۱/۱۳۳±۰/۰۲ ^g	۳	۱:۲
۲/۲۶۰±۰/۰۴ ^a	۴	
۱/۵۷۸±۰/۰۲ ^d	۵	
۰/۸۹۷±۰/۰۷ ⁱ	۶	
۱/۰۳۱±۰/۰۲ ^h	۳	۱:۱
۲/۰۸۲±۰/۰۴ ^b	۴	
۱/۳۷۵±۰/۰۳ ^e	۵	
۰/۸۵۸±۰/۰۳ ^j	۶	۲:۱
۰/۹۸۶±۰/۰۳ ^h	۳	
۱/۶۷۰±۰/۰۴ ^c	۴	
۱/۲۷۶±۰/۰۳ ^f	۵	
۰/۸۱۹±۰/۰۲ ^j	۶	WPC
۰/۷۴۵±۰/۰۳ ^k		
۰/۶۳۹±۰/۰۲ ^l		OSAS

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار در ۳ تکرار است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشند ($P < 0/05$).



شکل ۱- اثر pH بر پتانسیل زتای محلول OSAS، WPC و مخلوط‌های WPC-OSAS در غلظت کل ۱ درصد (وزنی/وزنی)

اندازه قطر ذرات

نتایج آزمون اندازه ذرات در جدول (۱) بیانگر این است که محلول آبی ۱ درصد وزنی/وزنی WPC (۰/۷۴۵ میکرومتر) و OSAS (۰/۶۳۹ میکرومتر) اندازه ذرات کوچک‌تری را در مقایسه با ذرات کمپلکس‌ها از خود نشان دادند و اختلاف آماری معنی‌داری بین اندازه ذرات WPC و OSAS وجود دارد. با توجه به نتایج آنالیز واریانس (داده‌ها نشان داده نشده است)، اثر pH بر اندازه ذرات معنی‌دار بود ($P < 0/05$). در نسبت ثابت ۱:۲، WPC به OSAS و در pH برابر ۶، اندازه ذرات کوچک‌تری نسبت به سایر نقاط pH مشاهده شد (۰/۸۹۷ میکرومتر). در pH برابر ۶، WPC و OSAS هر دو دارای بار منفی هستند و نیروهای دافعه از تشکیل کمپلکس بین آنها جلوگیری می‌کند، بنابراین ذراتی با اندازه بزرگ تشکیل نمی‌شود. با کاهش pH تا سطح ۵، اندازه ذرات بزرگ‌تر شدند (۱/۵۷۸ میکرومتر). بیشترین میزان برهمکنش الکترواستاتیک و افزایش اندازه ذرات در pH برابر ۴ مشاهده شد (۲/۲۶۰ میکرومتر)، زیرا در این pH، کمپلکس‌های محلول بیشتری بین WPC و OSAS تشکیل می‌شود (Behrouzain et al., 2020). Salminen و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی کمپلکس WPI-پکتین با درجه متوکسیل بالا در نسبت ۲:۱، WPI به پکتین و غلظت ۰/۷۵ درصد وزنی/وزنی در pH ۳ تا ۶ بیشترین اندازه ذرات را در pH برابر ۴/۵ (میانگین ۰/۲۹۱ میکرومتر) گزارش کردند.

Krzeminski و همکاران (۲۰۱۴)، در فرایند بررسی کمپلکس WPI و پکتین با درجه متوکسیل بالا در گستره pH ۲ تا ۷ و غلظت کل ۰/۶ درصد وزنی/وزنی و نسبت ۱:۵ WPI به پکتین، بالاترین اندازه ذرات را در pH=۴ و عدد میانگین ۰/۵۰۰ میکرومتر گزارش نمودند. Kholoosi و

مخلوط WPC-OSAS، بالاترین ویسکوزیته در pH برابر با ۴ در تمام نسبت‌ها مشاهده شد. باتوجه به جدول (۲)، ویسکوزیته محلول WPC در غلظت ۱ درصد وزنی/وزنی وابسته به pH است و در pH برابر ۴، بیشترین ویسکوزیته مشاهده شد (۱/۱۴۶ میلی‌پاسکال ثانیه)، که به دلیل گستره بالای نیروی جاذبه الکترواستاتیک و اندازه ذرات بزرگ WPC است. در مورد OSAS نیز اختلاف آماری معنی‌داری در مقادیر ویسکوزیته در pHهای مختلف مشاهده گردید. میزان ویسکوزیته در pH برابر ۶، به دلیل بار الکتریکی بالاتر آن، اندکی از سایر نقاط بیشتر است، اما به طور کلی ویسکوزیته آن کم است، زیرا OSASهای تجاری معمولاً ویسکوزیته پایین‌تری را نسبت به نشاسته‌های طبیعی دارند که ممکن است به دلیل فرایند هیدرولیز باشد (Shogren & Biresaw, 2007).

جدول ۲- ویسکوزیته دینامیک WPC، OSAS و کمپلکس WPC-OSAS در غلظت کل ۱ درصد وزنی/وزنی به‌عنوان تابعی از pH

ویسکوزیته (میلی‌پاسکال ثانیه)	pH	نسبت OSAS:WPC
۱/۱۷±۰/۰ ^k	۳	۱:۲
۱/۲۴±۰/۰ ^f	۴	
۱/۲۰±۰/۰ ⁱ	۵	
۱/۱۵±۰/۰ ^m	۶	
۱/۱۹±۰/۰ ^j	۳	۱:۱
۱/۲۶±۰/۰ ^e	۴	
۱/۲۲±۰/۰ ^g	۵	
۱/۱۶±۰/۰ ^l	۶	
۱/۲۱±۰/۰ ^h	۳	۲:۱
۱/۳۰±۰/۰ ^c	۴	
۱/۲۳±۰/۰ ^f	۵	
۱/۱۸±۰/۰ ^k	۶	
۱/۰۹±۰/۰ ^o	۳	WPC
۱/۱۵±۰/۰ ^m	۴	
۱/۱۰±۰/۰ ⁿ	۵	
۱/۰۷۲±۰/۰ ^p	۶	
۱/۲۴±۰/۰ ^f	۳	OSAS
۱/۲۸±۰/۰ ^d	۴	
۱/۳۱±۰/۰ ^b	۵	
۱/۳۳±۰/۰ ^a	۶	

اعداد به‌صورت میانگین±انحراف معیار در ۳ تکرار است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشند ($P < 0/05$).

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که بین اندازه ذرات نمونه‌ها با نسبت‌های مختلف بیوپلیمرها اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). باتوجه به جدول (۱)، بالاترین اندازه ذرات در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS در تمام نقاط pH مشاهده شد. در pH ثابت ۴، اندازه ذرات از عدد ۲/۲۶۰ میکرومتر در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS تا ۱/۶۷۰ میکرومتر در نسبت ۲:۱ WPC به OSAS کاهش یافت، و این کاهش ممکن است به دلیل کم‌بودن میزان OSAS برای پوشش‌دهی سطح WPC باشد که باعث می‌شود مولکول‌های OSAS به‌عنوان پلی برای تجمع ذرات پروتئینی عمل کرده باشد. به‌عبارت‌دیگر در غلظت‌های بالای WPC، پدیده توده‌ای شدن ذرات اتفاق می‌افتد که روی قطر ذرات اثر می‌گذارد. با افزایش نسبت OSAS به WPC از پدیده توده‌ای شدن جلوگیری شده و اندازه ذرات کنترل می‌شود (Mohammadi et al., 2019). بر مبنای نتایج Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹) در مورد کمپلکس WPC-صمغ کتیرا، با افزایش غلظت صمغ کتیرا از ۰/۰۵ تا ۰/۷۵ درصد وزنی/وزنی، اندازه ذرات در pH ثابت ۴/۵ از ۴/۰۷۰ تا ۳/۱۴۳ میکرومتر در pH=۴/۵ کاهش یافت. Wagoner و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند اندازه ذرات WPI-پکتین با درجه متوکسیل پایین در غلظت ۱ درصد وزنی/وزنی پکتین و pH=۴ با تغییر غلظت WPI از ۱ تا ۶ درصد وزنی/وزنی، اندازه ذرات از عدد میانگین ۰/۲۲۲ تا ۰/۳۵۳ میکرومتر افزایش یافت، که روند مشابهی با این تحقیق دارد.

مطابق نتایج آنالیز واریانس، اثر متقابل pH و نسبت دو بیوپلیمر نیز معنی‌دار بود ($P < 0/05$). با افزایش نسبت WPC به OSAS و کاهش pH تا ۴، اندازه ذرات محلول کمپلکس افزایش یافت، به طوری که در نسبت ۲:۱ WPC به OSAS و pH=۶ کمترین اندازه ذرات معادل ۰/۸۱۹ میکرومتر مشاهده شد که این عدد در pH=۴ و نسبت ۱:۲ WPC به OSAS به بیشترین مقدار خود رسید (جدول ۱). چنین روندی در تحقیق‌های Azarikia و Abbasi (۲۰۱۶) و Raoufi و همکاران (۲۰۱۷)، نیز مشاهده شد.

ویسکوزیته دینامیک

طبق نتایج آنالیز واریانس، اختلاف آماری بین ویسکوزیته نمونه‌ها در pHهای مختلف معنی‌دار بود ($P < 0/05$). در

۷ به ۶/۲، میزان ویسکوزیته از میانگین ۱۹/۱ تا ۲۴/۱ میلی‌پاسکال ثانیه افزایش می‌یابد که بیانگر تأثیر pH بر ویسکوزیته سیستم است.

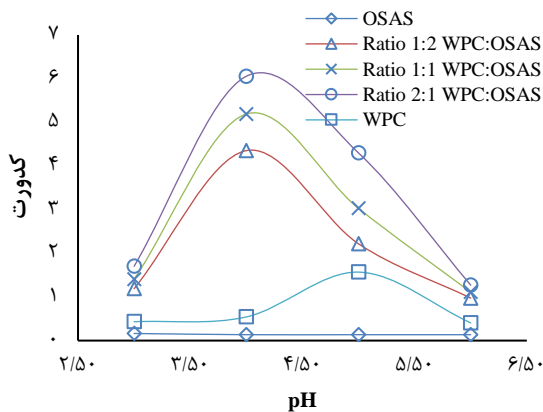
همان‌طور که در **جدول (۲)** مشاهده می‌شود، در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS، ویسکوزیته کمتری در مقایسه با دو نسبت دیگر در تمام نقاط pH مشاهده شد. محلول‌های پلی‌ساکاریدی معمولاً ویسکوزیته بالاتری نسبت به محلول‌های پروتئینی دارند و این روند در تطابق با یافته‌های سایر دانشمندان برای پروتئین سویا-صمغ گوارزانتان، WPI-کربوکسی‌متیل سلولز^۱ و سدیم آلزینات-ژلاتین می‌باشد (Raei et al., 2018)، از این رو، اثر نسبت WPC به OSAS بر ویسکوزیته مخلوط کمپلکس معنی‌دار بود ($P < 0/05$). در pH=۴ و نسبت ۲:۱ WPC به OSAS، بالاترین میزان ویسکوزیته مشاهده شد (۱/۳۰۱ میلی‌پاسکال ثانیه) که نشانگر آن است که در این نقطه علاوه بر برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی، بیشتر بودن میزان OSAS نیز منجر به افزایش ویسکوزیته شده است (Kholoosi et al., 2021; Liu et al., 2017). با افزایش یا کاهش نسبت، گروه‌های آمید مثبت روی WPC قادر به خنثی‌سازی گروه‌های باردار اکتیل روی OSAS نیستند، بنابراین مخلوط کمپلکس در نسبت ۱:۱ دارای مقاومت بالایی نسبت به جریان است (۱/۲۶۰ میلی‌پاسکال ثانیه). بار الکتریکی موجود روی کمپلکس WPC-OSAS میزان تشکیل کوآسروا نامحلول را کاهش داده و منجر به افزایش مقاومت در برابر جریان می‌گردد (Liu et al., 2017; Wang et al., 2015). با بررسی ویسکوزیته ظاهری محلول ۵ درصد وزنی/وزنی WPI-کاراگینان، با افزایش غلظت کاراگینان از ۰/۰۵ تا ۰/۲۵ درصد وزنی/وزنی، میزان ویسکوزیته از ۳/۷۴ تا ۱۹/۶ میلی‌پاسکال ثانیه افزایش می‌یابد که بیانگر تأثیر مقدار پلی‌ساکارید بر ویسکوزیته سیستم مورد مطالعه است. طبق نتایج آنالیز واریانس، اثر متقابل pH و نسبت WPC به OSAS نیز بر ویسکوزیته معنی‌دار بود ($P < 0/05$). همان‌طور که در **جدول (۲)** مشاهده می‌شود، با کاهش نسبت WPC به OSAS از ۱:۲ در pH=۶ تا ۲:۱ در pH=۴، میزان ویسکوزیته از ۱/۱۴۷ تا ۱/۳۰۱ میلی‌پاسکال ثانیه افزایش می‌یابد. اگرچه مطابق **جدول (۲)** ویسکوزیته OSAS کم است، اما نتایج این مطالعه نشان داد که می‌تواند روی ویسکوزیته محلول کمپلکس بیش از WPC تأثیرگذار

مطابق **جدول (۲)**، بین ویسکوزیته محلول‌های کمپلکس WPC-OSAS و محلول‌های بیوپلیمری WPC و OSAS در pHهای یکسان اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/05$). در توضیح این مطلب می‌توان گفت که تشکیل کمپلکس‌های محلول از طریق برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی، مولکول‌های آب بیشتری را به دام می‌اندازد. علاوه بر این، ظهور پیوندهای هیدروژنی در اطراف مولکول بیوپلیمر در طی تشکیل کمپلکس می‌تواند دلیل دیگری بر افزایش ویسکوزیته باشد (Lan et al., 2018). نتایج مشابهی در مورد کمپلکس WPI-پکتین (Wagoner et al., 2016) و کمپلکس ایزوله پروتئین کانولا-پکتین (Stone & Nickerson, 2012) گزارش شده است.

بر اساس نتایج آنالیز واریانس، اثر pH بر ویسکوزیته نمونه‌ها معنی‌دار بود ($P < 0/05$). مطابق **جدول (۲)**، در نسبت ثابت ۱:۲ WPC به OSAS و در pH برابر ۴، ویسکوزیته بالاتری در مقایسه با pH برابر ۳ مشاهده شد که می‌تواند به دلیل اندازه ذرات بالاتر کمپلکس و در نتیجه ویسکوزیته بیشتر محلول در این نسبت باشد. در pH=۵، میزان ویسکوزیته در مقایسه با pH=۴ کمتر است که ممکن است به دلیل تشکیل کمپلکس‌های نامحلول ناشی از کم بودن بار الکتریکی در این pH باشد که منجر به کاهش ویسکوزیته می‌گردد (Azarikia & Abbasi, 2016). در pH=۶، ویسکوزیته کمپلکس عدد پایینی را نشان داد (۱/۱۴۷ میلی‌پاسکال ثانیه) که دلیل آن تشکیل کمپلکس‌های محدود الکترواستاتیکی است که بین نواحی مثبت WPC و نواحی منفی OSAS اتفاق می‌افتد. همچنین اندازه ذرات کمپلکس در این pH نسبت به سایر pHها کوچک‌تر است. Kholoosi و همکاران (۲۰۲۱) بیشترین ویسکوزیته WPC-صمغ دانه شاهی در نسبت ۲:۵ WPC به صمغ را در pHهای ۳، ۴/۵ و ۶ و غلظت کل بیوپلیمر ۰/۳ درصد وزنی/وزنی در pH=۴/۵ و به میزان ۱/۱۴ میلی‌پاسکال ثانیه گزارش نمودند. Liu و همکاران (۲۰۱۷) نیز ویسکوزیته محلول WPI-صمغ کلزا را در pHهای ۲ تا ۶ و غلظت کلی ۱ درصد بیوپلیمری در نسبت ۴:۱ WPI به صمغ بررسی و بیشترین ویسکوزیته را در pH برابر ۳/۸ (۱/۱۸ میلی‌پاسکال ثانیه) گزارش کردند. Wang و همکاران (۲۰۱۵)، نیز گزارش دادند که در غلظت ۵ درصد وزنی/وزنی WPI و ۰/۲۵ درصد وزنی/وزنی کاراگینان، با کاهش pH از

¹ Carboxymethyl cellulose

ذکر شده است (Jones *et al.*, 2009; Santipanichwong *et al.*, 2008). Liu و همکاران (۲۰۱۷)، بالاترین میزان جذب برای محلول ۰/۰۲۵ درصد وزنی/وزنی WPI را در حدود ۰/۲ در pH=۵ گزارش نمودند. Azarikia و Abbasi (۲۰۱۶)، برای محلول ۰/۰۴ درصد وزنی/وزنی WPI بیشترین کدورت را در pH=۵ و به میزان ۰/۰۵ گزارش نمودند. Kholoosi و همکاران (۲۰۲۱)؛ نیز بیشترین میزان جذب را برای غلظت ۰/۳ درصد وزنی/وزنی WPC در pH=۴/۵ در حدود ۱ گزارش کردند.



شکل ۲- اثر pH بر کدورت WPC، OSAS و مخلوطهای WPC-OSAS در غلظت کل ۰/۵ درصد (وزنی/وزنی)

براساس نتایج آنالیز واریانس، اثر pH بر کدورت معنی دار بود ($P < 0.05$). باتوجه به شکل (۲)، در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS، با کاهش pH از ۶ به ۵، کدورت از ۱/۲۲۲ به ۴/۲۲۵ افزایش یافت و پس از رسیدن به مقدار حداکثری در pH=۴ (۶/۰۰۲) مجدد روند کاهشی به خود گرفت و در pH برابر ۳، به مقدار ۱/۸۱۲ رسید. این روند در دو نسبت دیگر نیز مشاهده شد. همچنین نتایج ارائه شده در شکل (۲) نشان می‌دهد در بین pHهای مورد مطالعه، pH بهینه کوآسرواسیون کمپلکس (pH_{opt}) در pH برابر ۴ مشاهده شد. (Behrouzain *et al.*, 2020)، نیز در نسبت‌های ۱:۴، ۱:۶/۶ و ۱:۹ WPI به صمغ دانه ریحان در غلظت ۰/۲ درصد وزنی/وزنی در بازه pH ۲ تا ۷ کدورت را بررسی کردند و در pH=۵ که pH بهینه برای فرایند کوآسرواسیون کمپلکس بود، بیشترین میزان جذب در تمام نسبت‌ها مشاهده شد. Liu و همکاران (۲۰۱۷)، بیشترین میزان جذب کمپلکس WPI-صمغ کلزا در نسبت ۱:۱ و غلظت کل ۰/۲ درصد وزنی/وزنی را در pH=۳/۵ و به میزان ۰/۶ گزارش کردند.

باشد (Schmitt *et al.*, 1998). علاوه بر اینکه برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی بین WPC و OSAS بر ویسکوزیته سیستم اثر می‌گذارد، اما ذکر این نکته ضروری است که تغییرات در ویسکوزیته تنها ناشی از برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک نیست و به سایر برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی و ویژگی‌های هیدراسیون مولکول‌ها نیز مربوط می‌شود. اختلاط بیوپلیمرها بر ویژگی‌های هیدراسیون پلیمر اثر می‌گذارد و این ممکن است به صورت سینرژیستی (هم‌افزایی) و یا آنتاگونیستی (ناسازگاری) باشد (Tolstoguzov, 1991). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک منجر به افزایش ویسکوزیته سیستم OSAS-WPC مخلوط می‌گردد.

کدورت

کدورت با اندازه‌گیری پراکنش نور به روش طیف‌سنجی به‌عنوان تابعی از pH، برای بررسی کمپلکس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Weinbreck *et al.*, 2003). شکل (۲) اثر pH ۳ تا ۶ را بر پروفایل جذب WPC-OSAS و OSAS، به‌عنوان تابعی از نسبت بیوپلیمرها (۱:۱، ۲:۱ و ۱:۲) نشان می‌دهد. کدورت OSAS در کل بازه pH ۳ تا ۶ در حدود ۰/۱ باقی ماند. باتوجه به آنیونی بودن OSAS در تمام pHهای مورد مطالعه، نیروهای دافعه الکترواستاتیک از تشکیل ذرات تجمع یافته جلوگیری نموده و در نتیجه میزان کدورت نیز تغییر چندانی نمی‌کند. افزایش اندک در میزان جذب OSAS ناشی از کاهش بار الکتریکی OSAS می‌باشد. Kholoosi و همکاران (۲۰۲۱)، جذب صمغ دانه شاهی را به‌عنوان یک پلی‌ساکارید آنیونی در غلظت ۰/۳ درصد وزنی/وزنی و pH بین ۲ تا ۷ برابر ۰/۵ گزارش نمودند که در کل بازه pH تغییر چندانی نداشت. به‌طور مشابه، Liu و همکاران (۲۰۱۷) مقدار جذب ۰/۰۰۵ را برای محلول ۰/۰۲۵ درصد وزنی/وزنی صمغ کلزا در pH ۲ تا ۷ به‌عنوان یک صمغ آنیونی گزارش کردند که در کل بازه، pH تغییر چندانی نداشت.

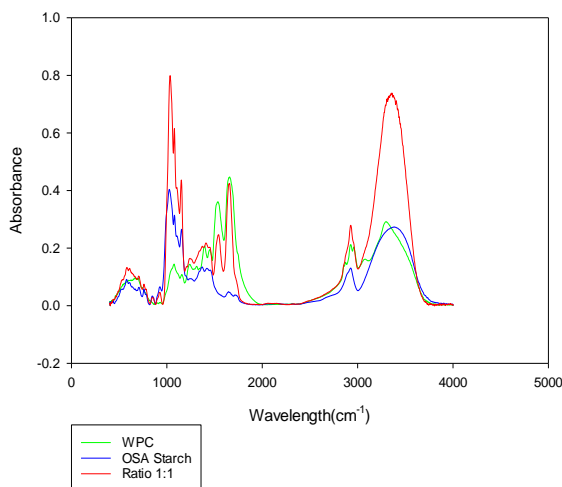
مطابق شکل (۲)، بیشترین میزان جذب برای WPC در pH برابر ۵ مشاهده شد (۱/۵۴۵). از آنجایی که بتا-لاکتوگلوبولین جزء تشکیل‌دهنده پروتئین آب پنیر است، رفتار تجمعی WPC را کنترل می‌کند (Puerta-Gomez & Castell-Perez, 2016). pH نقطه ایزوالکتریک (pH_{IP}) معادل با ۵ برای بتا-لاکتوگلوبولین در سایر منابع

باتوجه به نتایج آنالیز واریانس، اثر نسبت اختلاط بر کدورت محلول‌های WPC-OSAS معنی‌دار بود ($P < 0.05$). نتایج شکل (۲) نشان می‌دهد که بیشترین میزان کدورت در تمام pHها در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS مشاهده شد، که ممکن است به دلیل تشکیل کمپلکس‌های بزرگ‌تر در مقادیر بالای WPC باشد. کدورت از مقدار ۴/۳۲۳ در نسبت ۲:۱ WPC به OSAS تا ۶/۰۰۲ در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS افزایش یافت (Krzeminski et al., 2014). Behrouzain و همکاران (۲۰۲۰)، نیز در مورد کمپلکس WPI-صمغ دانه ریحان مشاهده کردند با افزایش نسبت WPI از ۱:۴ تا ۱:۶/۶، میزان کدورت از ۵/۱۵۵ تا ۵/۴۰۹ افزایش می‌یابد. همچنین بیشترین میزان کدورت (۶/۱۲۶) در نسبت ۱:۹ WPI-صمغ دانه ریحان گزارش شد. Raoufi و همکاران (۲۰۱۷)، بیشترین میزان کدورت را در نسبت ۱:۱ WPI-صمغ کتیرا در غلظت کل ۱ درصد (در حدود ۹) گزارش دادند، با کاهش یا افزایش نسبت از نقطه ۱:۱، میزان کدورت کاهش یافت و میزان کدورت در نسبت ۱:۱۰ WPI به صمغ در حدود ۶ به دست آمد. باتوجه به شکل (۲)، کدورت کمتر کمپلکس در نسبت ۲:۱ WPC به OSAS را می‌توان به حضور مقادیر اضافی OSAS نسبت داد که با ذرات پروتئین وارد واکنش نشده‌اند و دارای اندازه کوچکی هستند و منجر به کدورت پایین‌تر شده‌اند (Stone & Nickerson, 2012). البته دو علت دیگر نیز برای توصیف این مطلب ارائه شده است: با کاهش نسبت WPC به OSAS به طور کلی میزان جذب محلول کمپلکس کاهش می‌یابد و یا در این نسبت، تعادل بارهای الکتریکی به صورت بیشتری اتفاق می‌افتد (Behrouzain et al., 2020; Raoufi et al., 2017).

مطابق نتایج آنالیز واریانس اثر متقابل pH و نسبت معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بدین صورت که با افزایش نسبت تا ۱:۲ WPC به OSAS و کاهش pH تا ۴، میزان جذب به بیشترین میزان خود می‌رسد. کمترین میزان جذب در نسبت ۲:۱ WPC به OSAS در pH=۶ با تغییر دو عامل pH و نسبت، تبدیل به بیشترین مقدار در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS در pH=۴ می‌گردد که بیانگر اثر متقابل دو عامل pH و نسبت بر کدورت محلول است. این روند در تحقیق‌های Behrouzain و همکاران (۲۰۲۰)، Kholoosi و همکاران (۲۰۲۱) و Raoufi و همکاران (۲۰۱۷) نیز مشاهده شد.

باتوجه به پدیده‌هایی که در حضور WPC و OSAS در محلول آبی رخ می‌دهد، می‌توان افزایش کدورت را این چنین توصیف کرد: در pHهای بالا به علت وجود بار منفی در هر دو بیوپلیمر و دافعه الکترواستاتیک، سامانه حالت محلول و پایدار را داشته است. برهم‌کنش WPC و OSAS در pHهای بالاتر از pH ایزوالکتریک WPC، محدوده‌ای که هر دو بیوپلیمر دارای منفی می‌باشند در پژوهش‌های پیشین گزارش شده است (pH برابر با ۶). در pH=۵، با کاهش pH و افزایش بار مثبت WPC، برهم‌کنش بین دو بیوپلیمر به واسطه وجود جاذبه الکترواستاتیکی صورت گرفته و سبب تشکیل کوآسروا می‌گردد که با افزایش مقدار کوآسروا تشکیل شده، کدورت و در نتیجه میزان جذب افزایش می‌یابد. اگرچه در این نقطه به علت تشکیل کوآسروا نامحلول میزان جذب کاهش pH و برابری بارهای مثبت و منفی موجود در سامانه، تجمع، رسوب و به عبارت دیگر کوآسروا نامحلول تشکیل می‌گردد که موجب کاهش کدورت سامانه شده است (Behrouzain et al., 2020; Mohammadi et al., 2019). همان‌طور که اشاره شد، باتوجه به نسبت WPC به OSAS، بار الکتریکی ذرات و اندازه ذرات متفاوت خواهد بود. در pH=۵ بسته به نسبت اختلاط دو بیوپلیمر، تجمع و رسوب کمپلکس اتفاق افتاد و مخلوطی از کمپلکس‌های محلول و نامحلول تشکیل شد (de Kruijff et al., 2004; Schmitt et al., 1998; Weinbreck et al., 2003). با کاهش pH از ۵ به ۴، میزان تشکیل کمپلکس‌های نامحلول کاهش و میزان تشکیل کمپلکس‌های محلول افزایش یافت که دلیل آن بالاتر بودن پتانسیل زتای ذرات در این نسبت به pH=۵ است. اگرچه نتایج آزمون اندازه ذرات نشان داد که اندازه ذرات کمپلکس در pH=۴ بالاتر از pH=۵ است، اما به دلیل پتانسیل زتای بالاتر ذرات و پایداری و محلول بودن ذرات کمپلکس، میزان کدورت افزایش بیشتری نسبت به pH=۵ از خود نشان داد. همان‌طور که در شکل (۲) مشاهده می‌شود، در pH برابر با ۳ در تمامی نسبت‌ها نیز به دلیل تشکیل کمپلکس‌های محلول بین WPC و OSAS، میزان جذب نسبت به محلول‌های شاهد بالاتر است و اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده می‌گردد ($P < 0.05$). باتوجه به نتایج آزمون اندازه ذرات میزان جذب پایین‌تر در pH=۳ را می‌توان به اندازه کوچک‌تر ذرات کمپلکس نسبت داد (Raoufi et al., 2017).

۱۰۷۹/۰۱ در رابطه با ساختار کریستالی و پیک ۱۰۲۵/۰۹ در رابطه با ساختار آمورف OSAS است. پیک ۱۳۹۰ ناشی از ارتعاش‌های حاصل از خم شدن پیوند C-OH در مولکول OSAS است. پیک ۱۶۴۷/۱۲ بیانگر گروه کربوکسیلات است (COO). ارتعاش‌های کششی پیوند CO در گروه C-O-H در پیک‌های ۱۱۵۳/۷۱، ۸۴۷/۰۴ و ۷۵۹/۹۰ ظاهر شده‌اند. پیک مشخص OSA در نقطه ۱۷۱۱/۶۹ مشاهده گردید که نشان‌دهنده پیوند CO دوگانه است (Arik Kibar & Us, 2010; Wang et al., 2014).



شکل ۳- طیف تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR، بر حسب جذب) نمونه‌های کنسانتره پروتئینی آب پنیر (WPC)، نشاسته اصلاح شده با اکتانیل سوکسینیک انهدرید (OSAS) و کمپلکس OSAS-WPC در نسبت ۱:۱ و pH برابر با ۴

طیف کمپلکس OSAS-WPC برای بررسی برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی بین WPC و OSAS مورد استفاده قرار گرفت. از آنجایی که طیف OSAS-WPC متفاوت از طیف هریک از دو بیوپلیمر به تنهایی است، می‌توان نتیجه گرفت که دو بیوپلیمر از لحاظ ترمودینامیکی در تطابق با یکدیگر بوده و برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی بین گروه کربوکسیل OSAS و گروه‌های عملگر شیمیایی WPC اتفاق افتاده است (Raei et al., 2018). در طیف OSAS-WPC، در pH=۴ پیک‌های جذبی ۳۳۶۰/۸۶ و ۲۹۲۷/۶۷ پیک‌های معمول گروه OH و ارتعاش‌های کششی CH می‌باشد. پیک‌های ۱۶۵۶/۴۱ و ۱۵۴۲/۲۵ مرتبط با ارتعاش‌های پیوند دوگانه CO و پیوند NH می‌باشد. پیک امید نوع دو برای کمپلکس OSAS-WPC تضعیف می‌شود که می‌تواند نشان‌دهنده تشکیل کمپلکس بین OSAS-WPC در pH برابر

گروه‌های عملگر شیمیایی

باند‌های مرتبط با امید نوع یک وابسته به ساختار ثانویه اسکلت پروتئین هستند و باند‌های مهمی برای ارزیابی مقداری ساختار ثانویه پروتئین می‌باشند. باندهای در رابطه با امید نوع دو در نتیجه پیوند کششی CN و خم شدن صفحه‌ای NH اتفاق می‌افتد. بنابراین جابه‌جایی و تغییر این دو باند گستره واکنش WPC با OSAS را مشخص می‌کند. هنگامی که WPC با OSAS وارد واکنش می‌شود، باندهای مربوط به امید نوع یک و امید نوع دو باقی می‌مانند و باندهای مربوط به کربوکسیلات و OSA در مخلوط قابل شناسایی نخواهند بود. علاوه بر این، تغییرات پیک‌های امید نوع یک و امید نوع دو و کاهش شدت آنها بیانگر تغییرات کانفورماسیونی است که از طریق برهم‌کنش WPC و OSAS اتفاق می‌افتد (Guerrero et al., 2014). مطالعه‌های FTIR چشم‌انداز روشن‌تری از برهم‌کنش‌های شیمیایی بین بیوپلیمرها را فراهم می‌کند.

شکل (۳) طیف FTIR (نمودارهای جذب) OSAS، WPC

و OSAS-WPC (در نسبت ۱:۱) را نشان می‌دهد. با ملاحظه طیف جذب WPC می‌توان دریافت که پیک ۳۳۰۳/۳۴ متناظر با ارتعاش‌های کششی پیوند OH می‌باشد. پیک جذبی دیگر در ۳۰۷۲/۴۴ ارتعاش‌های جذبی مربوط به پیوند کششی NH امید نوع دو است. WPC، حاوی مقداری چربی می‌باشد که می‌توان به حضور آن در چند پیک پی‌برد. پیک ۲۹۶۲/۰۹ بیانگر پیوند کششی نامتقارن CH در گروه CH₃ اسید چرب، پیک ۲۹۲۷/۸۳ متناظر با پیوند کششی نامتقارن CH₂ در اسید چرب و پیک ۲۸۷۲/۱۹ بیانگر پیوند کششی نامتقارن CH در اسید چرب می‌باشد. پیک جذبی در ۱۶۵۷/۷۸ مربوط به پیوند کششی CO است (واحد استیل CONH₂ ویژگی گروه امید نوع یک). پیک‌های ۱۵۳۵/۷۸ و ۱۴۴۹/۳۴ مربوط به خمش NH و کشش CN است که از ویژگی‌های گروه امید نوع دو است. باند ۱۴۴۹/۳۴ نمایانگر تغییر شکل پیوند CH در گروه CH₂ پروتئین‌هاست. پیک ۱۳۹۵/۶۴ نشانگر پیوند کششی متقارن گروه COO در ساختار اسیدهای چرب است (Davis et al., 2004; González-Martínez et al., 2017). در مورد OSAS، پیک ۳۳۸۴/۸۱ در رابطه با کشش پیوند هیدروژنی گروه هیدروکسیل است (شکل ۳). پیک مربوط به پیوند CH که ناشی از ارتعاش‌های کششی (تغییر شکل محوری) است در نقطه ۲۹۲۷/۳۷ ظاهر شده است. پیک مربوط به نقطه

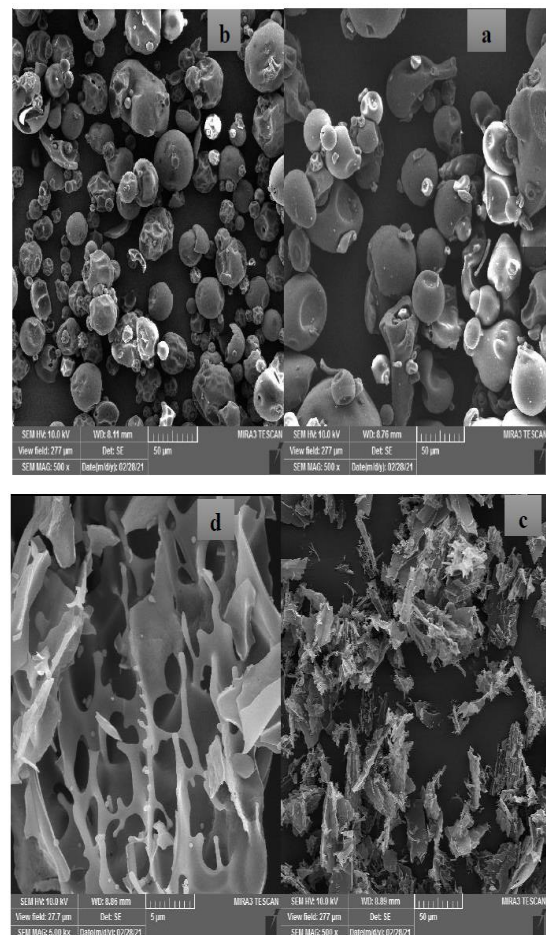
ریزساختمان

تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) نشان داد ذرات WPC کروی شکل هستند (شکل ۴-الف). مطابق شکل ۴-ب) که به خوبی گرانول‌های نشاسته را نشان داده است، OSAS نیز دارای ساختار کروی می‌باشد. تصاویر کمپلکس WPC-OSAS نشان داد که برهم‌کنش‌های بین این دو بیوپلیمر طی فرایند خشک کردن انجمادی منجر به ایجاد ساختار شبکه‌ای و ورقه‌ای می‌شود که دارای ساختاری غیریکنواخت، همراه با واکنش‌هایی در ساختار خود است (شکل ۴-ج و د) که می‌تواند مکان مناسبی برای به‌دام‌انداختن ترکیبات زیست‌فعال باشد (Huang *et al.*, 2012). نتایج آزمون SEM، مانند آزمون FTIR برهم‌کنش بین WPC و OSAS را تأیید می‌کند. با توجه به تغییر خواص مورفولوژیکی در آزمون SEM در مورد مخلوط WPC-OSAS نسبت به WPC و OSAS در محلول آبی می‌توان انتظار رفتار بین‌سطحی متفاوتی از WPC را برای کمپلکس WPC-OSAS پیش‌بینی کرد.

نتیجه‌گیری

این تحقیق با هدف بررسی اثر pH و نسبت WPC به OSAS بر خواص ساختاری و مورفولوژیکی کمپلکس دو بیوپلیمر انجام گرفت. در بخش اول نتایج آزمون‌های ساختاری نشان داد، پتانسیل زتای سامانه با افزایش نسبت WPC به OSAS شباهت بیشتری به نمونه شاهد (WPC) پیدا کرده است. با افزودن OSAS به WPC، نقطه تعادل کمپلکس به مقادیر پایین‌تر جابه‌جا شد که به دلیل اثر OSAS بر بار الکتریکی سیستم و جابه‌جایی نقطه تعادل بارهای الکترواستاتیک در WPC بود. همین امر منجر به بروز رفتارهای عملکردی متفاوتی در کمپلکس WPC-OSAS نسبت به WPC گردید. بر مبنای نتایج اندازه ذرات، کمپلکس‌های OSAS-WPC تحت تأثیر pH و نسبت WPC به OSAS، اندازه ذرات بالاتری را در مقایسه با WPC شاهد از خود نشان دادند که به دلیل برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک و رفتار تجمعی آنها می‌باشد. بالاترین اندازه ذرات در نسبت ۱:۲ و در pH=۴ مشاهده شد. بیشترین ویسکوزیته در نسبت ۲:۱ WPC به OSAS و در pH=۴ مشاهده شد. یعنی حضور OSAS و برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک بر رفتار جریان WPC تأثیرگذار بود. بالاتر بودن میزان ویسکوزیته در این pH به دلیل بیشتر بودن نسبت در محلول کمپلکس می‌باشد.

با ۴ باشد که این موضوع در نتایج Raei و همکاران (۲۰۱۸) و González-Martínez و همکاران (۲۰۱۷)، نیز مشاهده شدند. جابه‌جایی پیوند هیدروژنی در بازه ۳۲۰۰ تا ۳۳۰۰ متناظر با ارتعاش‌های کششی پیوند قوی OH است و این بدین معناست که پیوندهای هیدروژنی تأثیر مهمی بر برهم‌کنش بین گروه‌های آمید WPC و گروه هیدروکسیل OSAS دارند. González-Martínez و همکاران (۲۰۱۷)، نیز به جابه‌جایی پیک گروه OH را در کمپلکس WPI-WPI موسیلاژ تمر هندی به‌عنوان گواهی بر تشکیل کمپلکس بین WPI و صمغ اشاره کردند. به نظر می‌رسد که تغییراتی در ساختار ثانویه WPC ایجاد می‌گردد که منجر به توسعه برهم‌کنش دو بیوپلیمر می‌گردد. پیک ۱۴۵۸/۳۴ مربوط به گروه COO و پیک ۱۷۱۱/۶۹ مربوط به گروه OSA حذف شده‌اند (González-Martínez *et al.*, 2017).



شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) از WPC (الف) OSAS، (ب) کمپلکس WPC-OSAS، (ج) در pH ۴ و نسبت ۱:۱ بزرگنمایی ۵۰۰ برابر و کمپلکس WPC-OSAS و (د) در pH ۴ و نسبت ۱:۱ بزرگنمایی ۵۰۰۰ برابر

ویسکومتری، کدورت سنجی، FTIR و SEM گذاشته است.

تقدیر و تشکر

از حمایت‌های دانشگاه فردوسی مشهد (گرت شماره ۵۲۰۴۴) و صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (گرت ۹۶۰۱۵۵۴۰) در انجام این طرح پژوهشی سپاسگزاری می‌شود.

مشارکت نویسندگان

محسن صهبایی اجلائی: جمع‌آوری داده، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، نوشتن پیش‌نویس مقاله؛ سیده محمدعلی رضوی: ارائه ایده پژوهشی و طراحی مطالعه، بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه، تأیید نسخه نهایی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

تشکیل ذرات با اندازه بزرگ‌تر و همچنین تشکیل کمپلکس‌های الکترواستاتیک با بار الکتریکی متفاوت نسبت به WPC منجر به بروز رفتار جریانی جدیدی شد. بالاترین کدورت در بین تمام نسبت‌ها و pHهای مورد آزمایش در pH=۴ و در نسبت ۱:۲ WPC به OSAS مشاهده شد، که به علت برهم‌کنش الکترواستاتیک WPC با OSAS و همچنین بالاتر بودن نسبت WPC به OSAS است. آزمون FTIR نیز نشانگر برهم‌کنش بین WPC و OSAS از طریق تضعیف پیک امید نوع دو، جابه‌جایی پیک پیوند OH و حذف پیک‌های OSA و کربوکسیلات بود. در بخش خواص مورفولوژیکی، نتایج SEM مشخص کرد که ساختار WPC و OSAS هریک جداگانه کروی هستند درحالی‌که پس از تشکیل کمپلکس OSAS-WPC، پودر حاصل ساختاری شبکه‌ای و ورقه‌ای از خود نشان داد. نتایج پژوهش حاضر بیانگر آن است که برهم‌کنش الکترواستاتیک OSAS با WPC تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های ساختاری و مورفولوژیکی براساس نتایج آزمون‌های تعیین اندازه ذرات، پتانسیل زتا،

منابع

- Abbas, S., Bashari, M., Akhtar, W., Li, W. W., & Zhang, X. (2014). Process optimization of ultrasound-assisted curcumin nanoemulsions stabilized by OSA-modified starch. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(4), 1265-1274. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.12.017>
- Arik Kibar, E. A., & Us, F. (2014). Evaluation of Structural Properties of Cellulose Ether-Corn Starch Based Biodegradable Films. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 63(7), 342-351. <https://doi.org/10.1080/00914037.2013.845190>
- Azarikia, F., & Abbasi, S. (2016). Mechanism of soluble complex formation of milk proteins with native gums (tragacanth and Persian gum). *Food Hydrocolloids*, 59, 35-44. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.10.018>
- Behrouzain, F., Razavi, S. M. A., & Joyner, H. (2020). Mechanisms of whey protein isolate interaction with basil seed gum: Influence of pH and protein-polysaccharide ratio. *Carbohydrate Polymers*, 232, 115775. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115775>
- Davis, J. P., Foegeding, E. A., & Hansen, F. K. (2004). Electrostatic effects on the yield stress of whey protein isolate foams. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 34(1), 13-23. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2003.10.014>
- de Kruif, C. G., Weinbreck, F., & de Vries, R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9(5), 340-349. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.09.006>
- Dickinson, E. (1998). Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 9(10), 347-354. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00057-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00057-0)
- Firebaugh, J. D., & Daubert, C. R. (2005). Emulsifying and Foaming Properties of a Derivatized Whey Protein Ingredient. *International Journal of Food Properties*, 8(2), 243-253. <https://doi.org/10.1081/JFP-200060245>
- Ghadermazi, R., Khosrowshahi Asl, A., & Tamjidi, F. (2019). Optimization of whey protein isolate-quince seed mucilage complex coacervation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 368-377. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.026>
- González-Martínez, D. A., Carrillo-Navas, H., Barrera-Díaz, C. E., Martínez-Vargas, S. L., 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.037>

- Guerrero, P., Kerry, J. P., & de la Caba, K. (2014). FTIR characterization of protein-polysaccharide interactions in extruded blends. *Carbohydrate Polymers*, *111*, 598-605. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.005>
- Harnsilawat, T., Pongsawatmanit, R., & McClements, D. J. (2006). Characterization of β -lactoglobulin-sodium alginate interactions in aqueous solutions: A calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study. *Food Hydrocolloids*, *20*(5), 577-585. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.05.005>
- Hou, P., Pu, F., Zou, H., Diao, M., Zhao, C., Xi, C., & Zhang, T. (2019). Whey protein stabilized nanoemulsion: A potential delivery system for ginsenoside Rg3 whey protein stabilized nanoemulsion: Potential Rg3 delivery system. *Food Bioscience*, *31*, 100427. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100427>
- Huang, G.-Q., Sun, Y.-T., Xiao, J.-X., & Yang, J. (2012). Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry*, *135*(2), 534-539. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.140>
- Jones, O. G., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2009). Formation of biopolymer particles by thermal treatment of β -lactoglobulin-pectin complexes. *Food Hydrocolloids*, *23*(5), 1312-1321. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.11.013>
- Karazhiyan, H., Razavi, S. M. A., Phillips, G. O., Fang, Y., Al-Assaf, S., Nishinari, K., & Farhoosh, R. (2009). Rheological properties of *Lepidium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. *Food Hydrocolloids*, *23*(8), 2062-2068. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.019>
- Kasapis, S. (2008). Phase Separation in Biopolymer Gels: A Low- to High-Solid Exploration of Structural Morphology and Functionality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *48*(4), 341-359. <https://doi.org/10.1080/10408390701347769>
- Kholoosi, Z., Mazaheri Tehrani, M., & Razavi, S. M. A. (2021). Optimization of the interaction of whey protein concentrate-crees seed gum using response surface methodology (RSM) and investigating the foaming properties of the optimal sample. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *17*(4), 437-449. <https://doi.org/10.22067/iftstrj.v17i4.86853> (in Persian)
- Klein, M., Aserin, A., Ishai, P. B., & Garti, N. (2010). Interactions between whey protein isolate and gum Arabic. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *79*(2), 377-383. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.04.021>
- Krzeminski, A., Prell, K. A., Weiss, J., & Hinrichs, J. (2014). Environmental response of pectin-stabilized whey protein aggregates. *Food Hydrocolloids*, *35*, 332-340. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.014>
- Lan, Y., Chen, B., & Rao, J. (2018). Pea protein isolate-high methoxyl pectin soluble complexes for improving pea protein functionality: Effect of pH, biopolymer ratio and concentrations. *Food Hydrocolloids*, *80*, 245-253. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.021>
- Ledward, D. A. (1993). Creating textures from mixed biopolymer systems. *Trends in Food Science & Technology*, *4*(12), 402-405. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90044-B](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90044-B)
- Li, D., Li, L., Xiao, N., Li, M., & Xie, X. (2018). Physical properties of oil-in-water nanoemulsions stabilized by OSA-modified starch for the encapsulation of lycopene. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *552*, 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.04.055>
- Liu, J., Shim, Y. 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.006>
- Mohammad Amini, A., Razavi, S. M., & Mortazavi, S. A. (2015). Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. *Carbohydr Polym*, *122*, 282-292. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.01.020>
- Mohammadi, S., Jafari, S. M., Azari kia, F., & Mirzaei, H. (2019). Evaluation of rheological and structural characteristics of whey protein concentrate- gum tragacanth complex coacervation. *Journal of food science and technology(Iran)*, *16*(87), 225-237. <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-23801-en.html> (in Persian)
- Oduse, K., Campbell, L., Lonchamp, J., & Euston, S. R. (2017). Electrostatic complexes of whey protein and pectin as foaming and emulsifying agents. *International Journal of Food Properties*, *20*(sup3), S3027-S3041. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1396478>
- Puerta-Gomez, A. F. & Castell-Perez, M. E. (2016). Studies on self-assembly interactions of proteins and octenyl succinic anhydrate (OSA)-modified depolymerized waxy rice starch using rheological principles. *Journal of Applied Polymer Science*, *133*(27). <https://doi.org/10.1002/app.43603>
- Raei, M., Rafe, A., & Shahidi, F. (2018). Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates. *Journal of Food Engineering*, *228*, 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.02.007>

- Raoufi, N., Fang, Y., Kadkhodae, R., Phillips, G. O., & Najafi, M. N. (2017). Changes in Turbidity, Zeta Potential and Precipitation Yield Induced by Persian Gum-Whey Protein Isolate Interactions During Acidification. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), e12975. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12975>
- Sadahira, M. S., Lopes, F. C., Rodrigues, M. I., Yamada, A. T., Cunha, R. L., & Netto, F. M. (2015). Effect of pH and interaction between egg white protein and hydroxypropylmethylcellulose in bulk aqueous medium on foaming properties. *Carbohydr Polym*, 125, 26-34. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.02.033>
- Salminen, H., & Weiss, J. (2014). Effect of Pectin Type on Association and pH Stability of Whey Protein—Pectin Complexes. *Food Biophysics*, 9(1), 29-38. <https://doi.org/10.1007/s11483-013-9314-3>
- Samant, S. K., Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., & Rege, D. V. (1993). Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations. *International Journal of Food Science & Technology*, 28(6), 547-562. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb01306.x>
- Santipanichwong, R., Suphantharika, M., Weiss, J., & McClements, D. J. (2008). Core-Shell Biopolymer Nanoparticles Produced by Electrostatic Deposition of Beet Pectin onto Heat-Denatured β -Lactoglobulin Aggregates. *Journal of Food Science*, 73(6), N23-N30. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00804.x>
- Schmitt, C., Sanchez, C., Desobry-Banon, S., & Hardy, J. (1998). Structure and Technofunctional Properties of Protein-Polysaccharide Complexes: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(8), 689-753. <https://doi.org/10.1080/10408699891274354>
- Shogren, R., & Biresaw, G. (2007). Surface properties of water soluble maltodextrin, starch acetates and starch acetates/alkenylsuccinates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 298(3), 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.10.070>
- Sindayikengera, S., & Xia, W. S. (2006). Nutritional evaluation of caseins and whey proteins and their hydrolysates from Protamex. *J Zhejiang Univ Sci B*, 7(2), 90-98. <https://doi.org/10.1631/jzus.2006.B0090>
- Stone, A. K., & Nickerson, M. T. (2012). Formation and functionality of whey protein isolate-(kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes. *Food Hydrocolloids*, 27(2), 271-277. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.08.006>
- Tolstoguzov, V. B. (1991). Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. *Food Hydrocolloids*, 4(6), 429-468. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80196-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80196-3)
- Torres, O., Murray, B., & Sarkar, A. (2016). Emulsion microgel particles: Novel encapsulation strategy for lipophilic molecules. *Trends in Food Science & Technology*, 55, 98-108. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.006>
- Turgeon, S. L., Beaulieu, M., Schmitt, C., & Sanchez, C. (2003). Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8(4), 401-414. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(03\)00093-1](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(03)00093-1)
- Vargas-Castro, S., Delgado-Macuil, R., Ruiz-Espinosa, H., Zaca-Moran, P., Rojas-López, M., & Amador-Espejo, G. G. (2018, November 14-16). Characterization of whey protein isolate-kappa carrageenan complex coacervates at different pH levels [Conference presentation]. 8th Food Science, Biotechnology and Safety Congress, Puerto Vallarta, Jalisco, Mexico.
- Wagoner, T., Vardhanabhuti, B., & Foegeding, E. A. (2016). Designing Whey Protein-Polysaccharide Particles for Colloidal Stability. *Annu Rev Food Sci Technol*, 7, 93-116. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-041715-033315>
- Wang, J., Su, L., & Wang, S. (2010). Physicochemical properties of octenyl succinic anhydride-modified potato starch with different degrees of substitution. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 9(3), 424-429. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3832>
- Wang, Z., Zhang, S., & Vardhanabhuti, B. (2015). Foaming Properties of Whey Protein Isolate and λ -Carrageenan Mixed Systems. *Journal of Food Science*, 80(8), N1893-N1902. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12940>
- Weinbreck, F., de Vries, R., Schrooyen, P., & de Kruijff, C. G. (2003). Complex Coacervation of Whey Proteins and Gum Arabic. *Biomacromolecules*, 4(2), 293-303. <https://doi.org/10.1021/bm025667n>
- Wu, B.-c., & McClements, D. J. (2015). Microgels formed by electrostatic complexation of gelatin and OSA starch: Potential fat or starch mimetics. *Food Hydrocolloids*, 47, 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.021>
- Zhao, Y., Khalid, N., Shu, G., Neves, M. A., Kobayashi, I., & Nakajima, M. (2019). Complex coacervates from gelatin and octenyl succinic anhydride modified kudzu starch: Insights of formulation and characterization. *Food Hydrocolloids*, 86, 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.040>

Structural and Morphological Characteristics of Whey Protein Concentrate-Modified Starch Complex: Effect of pH and Biopolymers Ratio

Mohsen Sahbaei Ejlali¹, Seyed Mohammad Ali Razavi^{2*}

1- Department of Food Science & Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

2- Center of Excellence in Native Natural Hydrocolloids of Iran, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding author (s.razavi@um.ac.ir)

Abstract

In this study, interaction between WPC and OSAS as a function of pH (3, 4, 5 and 6) and biopolymers ratio (1:2, 1:1 and 2:1) at total concentration of 1% w/w was investigated by measuring the structural (turbidity, particles size, Zeta potential, viscometry, FTIR) and morphological (SEM) properties. Maximum zeta potential was observed at 2:1 biopolymers ratio and pH=3. With increasing pH and decreasing ratio of WPC:OSAS, zeta potential value decreased. At ratio 1:2 and pH 6 minimum zeta potential was gained. Minimum particles size was observed at ratio 1:2 and pH=6 (0.819 μm) in which with decreasing pH to 4 and increasing ratio up to 2:1, it was maximized (2.260). Turbidity results was in accordance with particles size measurements and maximum and minimum results was observed at the same points. At ratio 1:2 and pH=4, maximum viscosity was observed (1.301 mPa.s). Reducing the ratio and increasing pH led to minimum viscosity at pH=6 and ratio 2:1 (1.147 mPa.s). In all measured characters, there was significant difference between control (WPC) and complex samples. FTIR study revealed that by complexation between WPC and OSAS, amid II peak was weakened and carboxylated and OSA group's peak were removed. SEM images showed that with formation of electrostatic complex, spherical structures of WPC and OSAS was changed to porous network and sheet structures.

Keywords: Electrostatic complex, Hydrocolloid, Modified starch, Whey proteins

