مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۹ شماره ۱/ سال ۱۳۹۸/ صفحات ۷۱ تا ۸۲

تاثیر آلبومین تخم مرغ بر ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی و ریز ساختاری امولسیون روغن در آب تولیدی توسط اولتراسوند

سعید میرعرب رضی[۱]، علی معتمدزادگان*[۲]، سید احمد شهیدی[۳] و علی رشیدی‌نژاد[۴]

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱/۲۲

[۱]دانش آموخته دکتری، تکنولوژی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
[۲] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
[۳] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی آیت الله آملی آمل
[۴] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه مسی، نیوزلند
* مسئول مکاتبه: Email: amotgan@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: پروتئین‌ها به خصوص آلبومین تخم مرغ با خصوصیات امولسیفایری نقش مهمی در تولید امواسیون‌ها دارند. **هدف**: این آزمایش به منظور بررسی خصوصیات امولسیون روغن در آب (۲۰ درصد روغن) تحت تاثیر غلظت-های مختلف آلبومین انجام پذیرفت. **روش کار**: در این پژوهش خصوصیات فیزیکی (پایداری و خامه ای شدن)، رئولوژیکی (رفتار جریان و روبش فرکانس) و ریز ساختاری امولسیون‌های حاوی مقادیر مختلف آلبومین تخم مرغ (۰/۱-۰/۵ درصد) بررسی شد. **نتایج**: پایداری امولسیون حاوی ۰/۱ درصد آلبومین ٦٧ درصد بود و با افزایش غلظت آلبومین بهبود یافت. میزان خامه‌ای شدن امولسیون (بعد از۱۲ روز نگهداری در دمای محیط) با افزایش غلظت آلبومین، کاهش یافت. نتایج آزمون رفتار جریان نشان داد که با افزایش سرعت برشی، ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های امولسیونی به تدریج کاهش یافت که این نتایج بیانگر رفتار شل شوندگی با برش و همچنین وجود حلقه پسماند بیانگر رفتار تیکسوتروپیک امولسیون‌ها بود. مدل کارئو بیشرین ضریب تبیین را جهت برازش داده‌ها داشت و در این مدل ویسکوزیته برشی صفر، پسماند و ویسکوزیته ظاهری (در سرعت برشی ثابت $50s^{-1}$) در امولسیون حاوی ۰/۳ درصد آلبومین بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. با استفاده از آزمون روبش کرنش، ناحیه خطی ویسکوالاستیک در حدود کرنش ۰/۱ درصد تعیین شد. در امولسیون‌های حاوی مقادیر مختلف آلبومین، مدول ذخیره بیشتر از مدول افت بود و با افزایش فرکانس هر دو مدول افت و ذخیره افزایش یافتند. در امولسیون حاوی ۰/۳ درصد آلبومین مدول ذخیره بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. تانژانت افت و ویسکوزیته کمپلس، تحت تاثیر فرکانس، به ترتیب افرایش و کاهش یافتند. نتایج حاصل از بررسی ریز ساختار امولسیون نشان داد که با افزایش میزان پروتئین اندازه قطرات همگن‌تر و از میزان قطرات بزرگ کاسته شد. **نتیجه گیری نهایی**: با توجه به نتایج بدست آمده امولسیون های حاوی ۳ و ۵ درصد آلبومین خصوصیات بهتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند.

واژگان کلیدی: آلبومین،امولسیون، ریز ساختار، رئولوژی، مدل کارئو

مقدمه

امولسیون‌ها به عنوان سیستم‌های کلوئیدی ناهمگون و شامل دو مایع غیر قابل امتزاج آب وروغن تعریف می-شوند، به طوری که یکی از فازها به صورت قطراتی با قطر بین۱۰۰-۰/۱ میکرون (فازپراکنده) در فاز دیگر (فازپیوسته) پراکنده شده است (مک کلمنتز و لی ۲۰۱۰؛ کریمی و همکاران ۲۰۱۳). مهمترین مشکل سیستم‌های امولسیونی ناپایداری ترمودینامیکی آن‌ها است. درواقع به علت مثبت بودن انرژی آزاد گیبس تشکیل امولسیون، وجود نیروی کشش بین سطحی و اختلاف دانسیته بین دو فاز تماسی آب و روغن، سامانه امولسیونی به راحتی و با گذر زمان شکسته و دو فاز می‌شود (کریمی و همکاران ۲۰۱۳). پایدارسازی امولسیون‌ها با به کارگیری امولسیفایرها امکانپذیر است. عوامل امولسیون‌کننده دارای ساختاری دوگانه دوست (حاوی گروه‌های قطبی وگروه‌های غیرقطبی) هستند، یعنی توانایی اتصال به هر دو فاز آب و روغن را دارا می باشند. این عوامل در سطح مشترک بین دو فاز قرار گرفته و سطح قطرات فاز پراکنده را با ایجاد یک لایه نازک به دور آن پوشش می‌دهند و به این ترتیب فشارهای بینابینی را کاهش داده و از به هم چسبیدن و یکی شدن قطرات جلوگیری کرده و در نتیجه موجب پایداری امولسیون می‌گردند (مک کلمنتز ۲۰۰٤؛ خالوفی و همکاران ۲۰۰۹). متداولترین امولسیفایرهای به کاربرده شده در صنعت موادغذایی، سورفاکتانت‌ها و بیوپلیمرهای آمفیفیلیک است. این امولسیفایرها بسته به خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و مولکولی خود از قابلیت‌های متفاوتی جهت تشکیل امولسیون و پایداری آن برخوردار هستند (دیکینسون ۲۰۰۹). پروتئین‌ها تمایل شدیدی به جذب در سطح مشترک آب و روغن داشته و باعث ایجاد لایه‌هایی در اطراف ذرات روغن می‌شوند، بنابراین می‌توانند هم نقش امولسیون کنندگی و هم نقش تثبیت کنندگی را ایفا نمایند (دیکینسون ۲۰۰۳). سفیده تخم مرغ دارای حدود ٤۰ نوع پروتئین مختلف است (ون دنبرگ و همکاران ۲۰۱۵). اوآلبومین، جزء اصلی پروتئین سفیده بوده (حدود ٥٤٪) و وزن مولکولی آن در حدود ٤۲/۷ کیلو دالتون می‌باشد. از این پروتئین به دلیل ویژگی‌های امولسیفایری و تولید کف به صورت گسترده در صنعت غذا استفاده می‌شود (نیو و همکاران ۲۰۱٤). اقبال و همکاران (۲۰۱۵) اثر پروتئین سفیده تخم مرغ را بر خصوصیات امولسیون روغن ذرت در آب بررسی کردند و گزارش کردند که ویسکوزیته و کدورت امولسیون با افزایش غلظت پروتئین افزایش یافت. نیو و همکاران (۲۰۱۵) خصوصیات امولسیون حاوی صمغ عربی و اوآلبومین را تحت تاثیر تنش های محیطی بررسی کردند و نسبت ۱ به ۲ اوآلبومین به صمغ عربی را به عنوان بهترین نسبت انتخاب نمودند. از آنجایی که پروتئین سفیده تخم مرغ دارای خاصیت فعالیت سطحی می باشد تعیین میزان غلظتی از آن که می تواند امولسیون پایدار تولید نماید حائز اهمیت است بدین منظور در این پژوهش تاثیر مقادیر مختلف آلبومین تخم مرغ بر خصوصیات فیزیکی، رئولوژیکی و ریز ساختار امولسیون روغن در آب (۲۰ درصد روغن) بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه امولسیون

آلبومین (Applichem , Germany, A4344, 0250, lot 7K005289) با مقادیر مشخص به مدت ۲ ساعت در آب دیونیزه همزده و تا روز بعد (جهت هیدراته شدن کامل) در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شد. امولسیون روغن در آب با پخش کردن ۲۰ درصد وزنی-وزنی روغن آفتابگردان (فامیلا، ایران) در محلول آلبومین (۰/۱، ۰/۳، ۰/٥، ۱، ۳ و ٥ درصد وزنی/وزنی) تهیه شد. امولسیون اولیه با استفاده از اولتراتوراکس (IKA T25 Basic, Germany) با سرعت ۱۱۰۰۰ rpm برای ۲ دقیقه تهیه و در ادامه مخلوط توسط اولتراسوند پروبی (مدل UP400A، شرکت توسعه فناوری مافوق صوت، ایران)

با فرکانس ۲۰ کیلوهرتز و شدت W/cm^2 ۱۰۰ به مدت ۲ دقیقه هموژن گردید (نیو و همکاران ۲۰۱۵) و سپس آزمون‌های زیر بر روی آن انجام گرفت.

پایداری امولسیون و خامه ای شدن

امولسیون‌های تهیه شده به مدت ۱۰ دقیقه با دور۳۵۰۰rpm در دمای محیط سانتریفوژ شدند و براساس معادله ۱ میزان فاز جدا شده محاسبه گردید (نیو و همکاران ۲۰۱۵):

معادله (۱)

$$\text{درصد میزان فاز جدا شده} = \frac{\text{حجم سرم}}{\text{حجم کلی امولسیون}} \times ۱۰۰$$

میزان پایداری بر اساس تفاضل میزان فاز جدا شده از ۱۰۰ محاسبه شد. جهت بررسی خامه‌ای شدن، نمونه‌ها بلافاصله بعد از تهیه درون ظرف استریل درب دار ریخته و در محل ساکن به مدت ۱۲ روز نگهداری و بر اساس معادله ۲ مقدار خامه ای شدن محاسبه شد (نیو و همکاران ۲۰۱۵):

معادله (۲)

$$\text{درصد خامه ای شدن} = \frac{\text{ارتفاع لایه سرم}}{\text{ارتفاع کل امولسیون}} \times ۱۰۰$$

آزمون های رئولوژیکی

آزمونهای رئولوژیکی با استفاده ازدستگاه رئومتر (Physica, MCR 301, Anton Paar GmbH, Germany) مجهز به هندسه استوانه هم محور دوگانه (باارتفاع ٤٠ میلیمتر و قطر به ترتیب از خارج به داخل ۲۳/۸۲، ۲٤/٦٦ و ۲۷/۵۹ میلی متر) در دمای ۲۰ °C انجام گرفت. رفتار جریانی پس از ۵ دقیقه استراحت به صورت دو مرحله ای رفت s^{-1} ۳۰۰-۰/۰۰۱ و برگشت s^{-1} ۳۰۰-۰/۰۰۱ انجام پذیرفت و برای آنالیز داده‌ها از نرم افزارRheoplus نسخه ۳/٤ و برای ترسیم گراف‌ها از نرم افزارهای اکسل (۲۰۰۷) و سیگما پلات (ورژن ۱۲) استفاده شد و ویسکوزیته ظاهری در s^{-1} ۵۰ گزارش گردید. از مدل‌های رئولوژیکی مختلف از جمله پاورلا(۳)، هرشل بالکلی(٤)، بینگهام(۵)، کراس(٦) و کارئو(۷) برای برازش داده‌های رفتارجریانی مرحله رفت استفاده شد (صالحی و کاشانی نژاد ۲۰۱۵):

$$(۳)\ \tau = k\gamma^n$$

$$(٤)\ \tau = k\gamma^n + \tau_0$$

$$(۵)\ \tau = \tau_0 + \eta_p\gamma$$

$$(٦)\ \eta_a = \eta_\infty + \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{1+(\alpha_c\gamma)^m}$$

$$(۷)\ \eta_a = \eta_\infty + \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{(1+(\lambda_c\gamma)^2)^N}$$

که τ تنش برشی (Pa)، γسرعت برشی s^{-1}، k ضریب قوام ($Pa.s^n$)، τ_0 تنش تسلیم (Pa) ، n شاخص رفتار جریان، η_p ویسکوزیته پلاستیک بینگهام، α_c، λ_c ثابت های زمانی مرتبط با زمان استراحت پلیمر در محلول و m و N توان‌های بدون واحد می‌باشند.

در آزمون‌های نوسانی محدوده ویسکوالاستیک خطی با استفاده از آزمون روبش کرنش بدست آمد. این آزمون در ناحیه کرنش ۰/۰۱ تا ۱۰۰ ٪، دمای ۲۰ °C و فرکانس ۱ هرتز انجام پذیرفت. آزمون روبش فرکانس در محدوده فرکانسی ۰/۰۱ تا۱۰ هرتز، دمای ۲۰ °C کرنش ۰/۱% انجام پذیرفت. نتایج بدست آمده تحت عنوان مدول‌های الاستیک (G′) و ویسکوز (G″)، تانژانت افت (tan(δ)) و ویسکوزیته کمپلکس (η*) در برابر فرکانس گزارش شد.

میزان وابستگی به فرکانس در مدول های الاستیک (معادله ۸) و ویسکوز (معادله ۹) را می‌توان با قانون توان به صورت زیر نمایش داد:

$$(۸)\ G' = a.\omega^b$$

$$(۹)\ G'' = c.\omega^d$$

که ω بیانگر فرکانس (هرتز)، a ($Pa.s^n$) و c ($Pa.s^n$) عرض از مبدا و b و d شیب مربوط به نمودار مدول‌های الاستیک و ویسکوز می‌باشند (بهروزیان و همکاران ۲۰۱٦؛ الغونه و همکاران ۲۰۱٦).

---

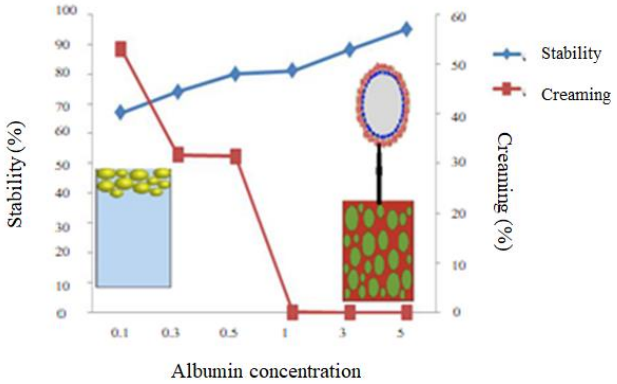
1 Power-law
2 Herschel–Bulkley
3 Bingham
4 Cross
5 Carreau

بررسی ریز ساختار

بعد از تهیه امولسیون‌ها یک قطره از آن روی لام مخصوص میکروسکوپ نوری (Nikon, Eclipse) قرار گرفت و تصاویری با بزرگنمایی ۱۰ تهیه شد (نیو و همکاران ۲۰۱۵).

نتایج و بحث

شکل ۱ پایداری امولسیون‌های حاوی مقادیر مختلف آلبومین را تحت تاثیر نیروی سانتریفوژ نشان می‌دهد. بعد از سانتریفوژ، در برخی از نمونه‌های امولسیونی دو فاز شدن صورت پذیرفت که این میزان دوفازی با افزایش غلظت آلبومین کاهش یافت. پایداری امولسیون حاوی ۰/۱ درصد آلبومین ٦٧ درصد بود. میزان پایداری امولسیون‌ها با افزایش غلظت آلبومین افزایش یافت به طوریکه در غلظت ٥ درصد آلبومین میزان پایداری ۹۵ درصد بود. دلیل این امر می‌تواند دناتوره شدن قسمت‌های آبگریز پروتئین در سطوح بینابینی آب-روغن و احاطه کردن اطراف سطح قطرات روغن در امولسیون باشد که و قسمت‌های آبدوست در فاز آبی جهت‌گیری کرده و در نتیجه مانع اتصال قطرات روغن یا زهکشی آب می‌شود (ارسلبی و ایبانگلو ۲۰۱۰). خامه ای شدن امولسیون بعد از ۱۲ روز نگهداری در دمای محیط اندازه گیری شد. میزان خامه ای شدن در نمونه حاوی ۰/۱ درصد آلبومین ٥٣ درصد بود ولی در نمونه‌های حاوی ۳ و ٥ درصد آلبومین خامه ای شدن رخ نداد. در غلظت‌های بالاتر، آلبومین می‌تواند مانع از حرکت قطرات توسط شکل گیری شبکه سه بعدی شود. قطرات روغن به صورت ضعیفی فلوکوله شده و ساختار ممکن است طی زمان به دلیل حرکت براونی قطرات و نیروی جاذبه بازسازی و سبب کاهش تعداد پیوندهای بین قطرات و در نتیجه تخریب ساختار شود. این پدیده سبب کاهش تنش تسلیم و پدیده خامه‌ای شدن می‌شود (کرستتونوسیچ و همکاران ۲۰۱۵).

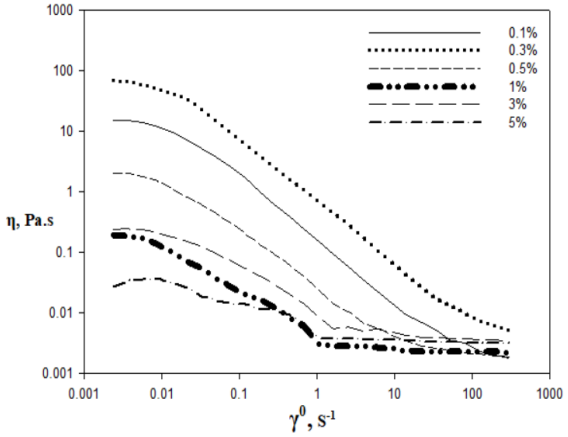


شکل ۱-تاثیر غلظت آلبومین بر میزان پایداری و خامه ای شدن امولسیون

Figure 1- Effect of albumin concentration on stability and creaming of emulsions

آزمون رفتار جریان

شکل ۲ تغییرات ویسکوزیته در برابر سرعت برشی را در امولسیون‌های حاوی مقادیر مختلف آلبومین نشان می‌دهد. با افزایش سرعت برشی ویسکوزیته امولسیون به تدریج کاهش یافت که بیانگر رفتار رقیق شونده با برش در نمونه‌های امولسیون است. با افزایش سرعت برشی، قطرات امولسیون در جهت جریان جهت گیری و مقاومت کمتری نسبت به جریان پیدا می‌کنند و به این ترتیب ویسکوزیته با افزایش سرعت برشی کاهش می-یابد (ارسلبی و ایبانگلو ۲۰۱۰).



شکل۲- تغییرات ویسکوزیته ظاهری امولسیون در برابر سرعت برشی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف آلبومین

Fig 2- Effect of albumin concentration of shear thinning behavior of emulsions

طبق نتایج بدست آمده مدل کارئو با داشتن بیشترین ضریب تبیین به عنوان بهترین مدل انتخاب شد. در جدول ۱ پارامترهای مرتبط با مدل کارئو نشان داده شده است. برای گالاکتومانان‌ها و دیگر پلی ساکاریدهای غیر ژل دهنده ناحیه ای با شیب کم نیوتنی در سرعت‌های برشی خیلی کم و خیلی بالا مشاهده می-شود که به ترتیب ویسکوزیته صفر و بینهایت نامیده شد. برای این نوع پلی ساکاریدها داده‌های منحنی جریان می‌تواند با مدل‌هایی نظیر کراس (کراس و همکاران ۱۹۸۱) و کارئو (کارئو ۱۹۷۲) توصیف شود. گزارش شده است که مدل‌های کراس و کارئو قادر به توصیف وابستگی به سرعت برشی دیسپرسیون‌های پکتین‌های متوکسیل بالا و دانه خرنوب (داسیلوا و رائو ۱۹۹۲)، صمغ کونژاک[1](جاکون و همکاران ۱۹۹۳)، محلول صمغ کهور[2](یو و رائو ۱۹۹۵) و دیگر صمغ‌ها (لاینای و همکاران، ۱۹۷) می‌باشد.

طبق نتایج گزارش شده در جدول ۱، ویسکوزیته سرعت برشی صفر (η_0) با افزایش غلظت آلبومین کاهش یافت. در غلظت‌های بالا، آلبومین می‌تواند مانع فشردگی قطرات روغن و در نتیجه کاهش ضریب قوام شود. سلیمانپور و همکاران (۲۰۱۳) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. بیشترین ویسکوزیته سرعت برشی صفر مربوط به امولسیون حاوی ۰/۱ درصد آلبومین (۱۳/۱۲Pa.s) و کمترین مقدار مربوط به نمونه حاوی ۵ درصد آلبومین (۰/۰۲۸Pa.s) بود. با افزایش غلظت آلبومین میزان m کاهش یافت. نتایج شاخص رفتار جریان بیانگر تغییر رفتار از نیوتنی به شل شوندگی با برش بود. بیشترین میزان m در امولسیون حاوی ۰/۱ درصد آلبومین (۰/۵٤۱) و کمترین مقدار در امولسیون حاوی ۵ درصد آلبومین (۰/۱۲۳) مشاهده شد. کوچکی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که تغییرات میزان شاخص قوام بستگی به اندازه مولکولی دارد و با افزایش غلظت و وزن مولکولی شاخص قوام کاهش می‌یابد.

مقادیر ویسکوزیته ظاهری در سرعت برشی ۵۰ بر ثانیه در امولسیون‌های حاوی مقادیر مختلف آلبومین نیز در جدول ۱ نشان داده شده است. ویسکوزیته ظاهری در امولسیون حاوی ۰/۳ درصد آلبومین بیشتر از سایر تیمارها بود .سان و همکاران(۲۰۰۹) گزارش کردند که افزایش غلظت پروتئین اثر معنی داری بر ویسکوزیته امولسیون نداشت ($p<0.05$). نجفی و همکاران (۲۰۱٦) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند.

بررسی رفتار جریانی مخلوط‌ها در دو مرحله افزایش و کاهش سرعت برشی نشان داد که ویسکوزیته سیستم-های مخلوط در سرعت برشی ثابت، کاهش یافت و نمودارها دارای حلقه پسماند بودند که نشان دهنده رفتار تیکسوتروپی و وابسته به زمان است و مساحت ناحیه بین نمودار رفت و برگشت میزان تیکسوتروپی را نشان می دهد (استف ۱۹۹٦). در جدول ۱ مساحت ناحیه پسماند در امولسیون‌های حاوی مقادیر مختلف آلبومین نشان داده شده است. تیکسوتروپی در یک دیسپرسیون بر اثر شکست ساختار تحت نیروهای برشی ایجاد می‌شود. ذرات ضعیف در یک سوسپانسیون و یا پیوندهای بین مولکولی ضعیف در اثر نیروهای برشی می‌شکنند (کوکسوی و کیلیک ۲۰۰٤). در این مطالعه رفتار تیکسوتروپی برای غلظت ۰/۳ درصد آلبومین بالاترین میزان بود که نشان دهنده این است که فاز پراکنده بسیار ضعیف است.

[1]Konjac
[2]Mesquite

جدول ۱- تاثیر مقادیر مختلف آلبومین بر ویسکوزیته ظاهری، پسماند و پارامترهای مدل کارئو

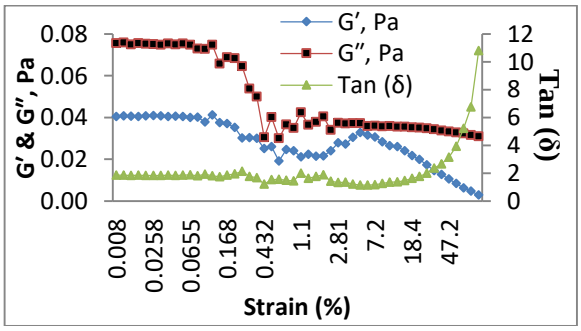
Table 1- Effect of albumin concentration on apparent viscosity, hysteresis area and parameter that was extracted using Carreau model

Albumin Concentration (%)	η_0 (Pa.s)	M	Hysteresis (pa/s)	Apparent viscosity (pa.s)
0.1	13.12	0.541	368.3	0.000342
0.3	92.2	0.489	486.2	0.0131
0.5	1.73	0.489	3.32	0.0023
1	0.249	0.221	0.27	0.0022
3	0.22	0.22	0.05	0.0037
3	0.028	0.132	0.04	0.008

آزمون نوسانی

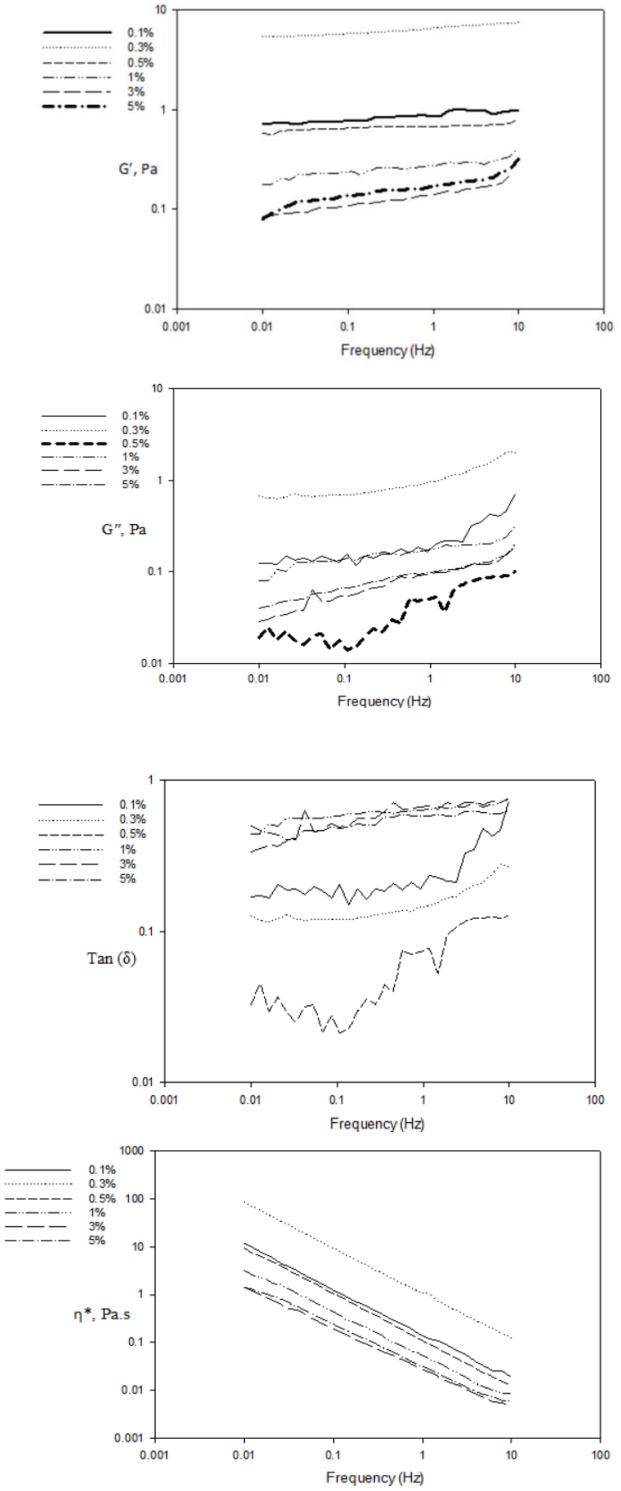
نتایج آزمون کرنش متغیر امولسیون حاوی ۳٪ آلبومین در شکل ۳ نشان داده شده است. تمامی پارامترها شامل مدول الاستیک، مدول ویسکوز و زاویه فازی جهت تعیین ناحیه خطی بکار گرفته شدند. ناحیه خطی ویسکوالاستیک ناحیه ای است که هر سه مقدار مدول الاستیک، ویسکوز و زاویه فازی ثابت باشند. این داده‌ها مقدار کرنش خطی امولسیون را در حدود ۰/۱٪ تعیین کردند.

آزمون روبش فرکانس در دمای ۲۰ °C، فرکانس ۰/۰۱ تا ۱۰ هرتز و کرنش ۰/۱ درصد انجام گرفت. با افزایش فرکانس هر دو مدول افت و ذخیره افزایش یافت (شکل ٤). افزایش مدل افت با افزایش فرکانس را می‌توان این گونه تفسیر نمود که زمانی فرکانس‌های پایین به ماده اعمال می‌شود ماده زمان کافی برای بازسازی پیوندهای شکسته شده را در چرخه فرکانس دارد ولی هنگامی که فرکانس‌های بالا اعمال می‌شود ماده فرصت بازسازی پیوندهای شکسته را را نداشته و با شکستن پیوندها، جزء ویسکوز افزایش یافته و ماده رفتار ویسکوالاستیک را نشان می‌دهد. همچنین افزایش فرکانس احتمالا سبب تشکیل شبکه ماکرومولکولی در امولسیون می‌شود که سبب افزایش مدل ذخیره با افزایش فرکانس می‌شود. در امولسیون‌های حاوی مقادیر مختلف آلبومین مدول ذخیره بیشتر از مدول افت بود. بالاتر بودن مدول ذخیره از مدول افت بیانگر وجود ساختار ژلی در سیستم می‌باشد (طاهریان و همکاران ۲۰۰٦؛ دیفتیس و همکاران ۲۰۰۵). در امولسیون حاوی ۰/۳ درصد آلبومین مدول ذخیره بسیار بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. ویسکوزیته کمپلکس مقاومت به جریان نمونه در حالت ساختار یافته را نشان می‌دهد که بیانگر مقاومت جریان الاستیک یا ویسکوز به حرکت‌های نوسانی است. هر چه ویسکوزیته کمپلکس بیشتر باشد مقاومت به جریان در حالت ساختار یافته بیشتر است و بالعکس (شارما ۲۰۱۰). با افزایش فرکانس، ویسکوزیته کمپلکس کاهش یافت که بیانگر رفتار غیرنیوتنی نمونه-های امولسیونی است و با افزایش فرکانس میزان تانژانت افت افزایش یافت (شکل ٤). فرکانس‌های بالا نشان دهنده وضعیت ماده غذایی طی تکان‌های شدیدی است علت افزایش زاویه فاز با افزایش فرکانس را می-توان این گونه توضیح داد که هنگامی که فرکانس های پایین به ماده اعمال می‌شود ماده زمان کافی برای بازسازی پیوندهای شکسته شده را در چرخه فرکانس دارد ولی هنگامی که فرکانس‌های بالا اعمال می‌شود ماده فرصت بازسازی پیوندهای شکسته شده را نداشته و هنگامی که پیوندها شکسته شوند جزء ویسکوز افزایش می‌یابد و ماده رفتار مایع ویسکوالاستیک نشان می‌دهد (اورت و مک لئود ۲۰۰۵).



شکل ۳- تغییرات مدول الاستیک و ویسکوز در آزمون روبش کرنش در نمونه امولسیون حاوی ۳ درصد آلبومین

Fig 3- Changes in storage modulus and loss modulus of emulsion containing 3% albumin in strain sweep test



شکل ۴- تغییرات مدول الاستیک، ویسکوز، تانژانت افت و ویسکوزیته کمپلس تحت تاثیر فرکانس در امولسیون‌های حاوی غلظت‌های مختلف آلبومین

Fig 4- Changes in storage modulus (a), loss modulus (b), tan (δ) (c) and complex viscosity (d) of emulsions containing different concentration of albumin in frequency sweep test

طبق نظریه دینامیک پلیمر، برای یک سیال شبه مایع، وابستگی فرکانس به مدول الاستیک رابطه قانون توان را نشان می‌دهد.برای ژل‌های کوالانسی مقدار b صفر می‌باشد در حالیکه در ژل‌های فیزیکی بیشتر از صفر می‌باشد. مقادیر پایین b بیانگر خصوصیات ژل‌های الاستیک است در حالیکه در مقادیر نزدیک به یک، سیستم مانند ژل ویسکوز عمل می‌کند. زمانی که مقادیر b و d نزدیک به صفر باشد مدول ذخیره و افت تغییر معنی داری با فرکانس ندارند (حصاری نژاد و همکاران ۲۰۱٤). طبق نتایج گزارش شده در جدول ۲ بیشترین مقادیر مربوط به a و c مربوط به امولسیون حاوی ۰/۳ درصد آلبومین می‌باشد که به ترتیب مقادیر ۵/۱۵ و ۰/۵را دارا بودند.

جدول ۲- تاثیر غلظت آلبومین بر روی مقادیر شاخص توان مدول‌های الاستیک و ویسکوز

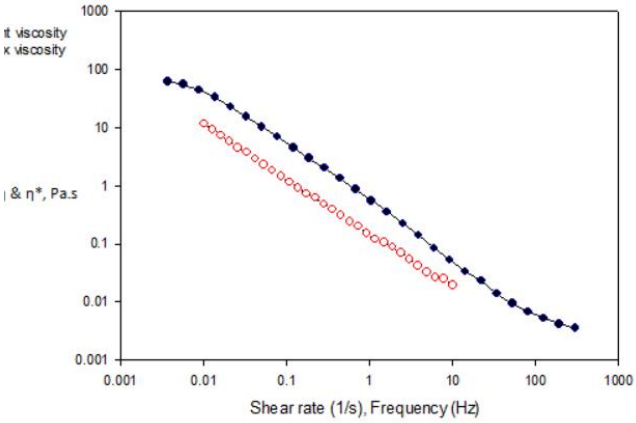
Table 2- Rheological parameters of egg albumin emulsions after fitting storage and loss moduli data using Power-law model

Albumin Concentration (%)	R^2	$G''=c.\omega^d$		R^2	$G'=a.\omega^b$.	
		d	C		b	a
0.1	0.75	0.046	0.092	0.883	0.0126	0.689
0.3	0.85	0.037	0.5	0.983	0.0122	0.515
0.5	0.80	0.067	0.011	0.834	0.007	0.599
1	0.90	0.033	0.092	0.888	0.019	0.189
3	0.97	0.057	0.029	0.955	0.030	0.078
5	0.98	0.046	0.039	0.927	0.032	0.092

تایید حضور ژل ضعیف در سیستم های مدل با قانون کوکس مرز

برای بسیاری از محلول‌های پلیمری هنگامی که مقادیر یکسان از فرکانس و سرعت برشی در نظرگرفته شود وابستگی به فرکانس ویسکوزیته کمپلکس که در آزمون‌های نوسانی اندازه گیری می‌شود و وابستگی به نرخ برشی پایای ویسکوزیته ظاهری، تقریبا بر روی هم منطبق هستند. این ارتباط که به قانون کوکس مرز معروف است برای بسیاری از محلول‌های پلیمری مشاهده می‌شود (لیزارگا و همکاران ۲۰۰٦). یکی از

خصوصیات مهم این قانون ایجاد همبستگی بین روش تغییر شکل که می‌تواند به صورت نامحدود و بطور اساسی غیر خطی باشد (جریان برشی پایا) و روش دیگری که تغییر شکل‌ها کوچک و خطی است، می‌باشد (گاناسکارانا و آکی ۲۰۰۰). طبق نتایج بدست آمده و در شکل۵ نمونه‌های امولسیونی از قانون کوکس مرز تبعیت نکردند. عدم تبعیت از این قانون نشانه ای از غیر یکنواختی ساختاری در غذاست. بسیاری از مغایرت‌ها با قانون کوکس مرز به تضعیف و از بین رفتن ساختار در اثر تغییر شکل کرنش اعمال شده یک سیستم می‌باشد که در جریان برشی نوسانی کم بوده و در جریان برشی پایا به اندازه کافی بزرگ می‌باشد و پیوندها و اجتماعات بین مولکولی را می‌شکنند. زمانی که مغایرت از قانون کوکس مرز به تضعیف و از بین رفتن ساختار در جریان برشی پایا نسبت داده می‌شود که ویسکوزیته کمپلکس معمولا بالاتر از ویسکوزیته ظاهری قرار می‌گیرد. مطابق تعریف، کرنش اعمال شده در آزمون‌های نوسانی کوچک است ولی در اندازه گیری های برشی یه قدری بزرگ است که اتصالات درون و بین مولکولی را می‌شکنند (گاناسکارانا و آکی ۲۰۰۰).

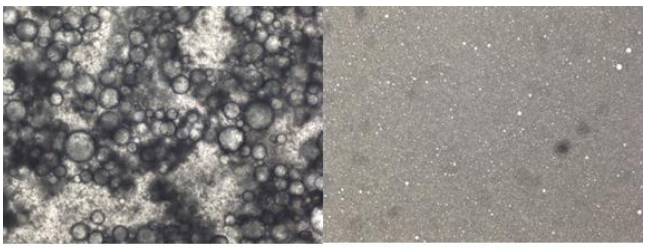


شکل ۵- منحنی کوکس مرز داده‌های رئولوژیکی امولسیون حاوی ۰/۱% آلبومین

Figure 5- Cox-Merz plot of emulsion containing 0.1% albumin

ریز ساختار امولسیون

با افزایش غلظت پروتئین میزان همگنی قطرات امولسیون بیشتر شد (شکل ٦). در امولسیون‌های با میزان پروتئین پایین (۰/۱ درصد) توزیع اندازه قطرات به صورت گسترده بود و امولسیون حاوی قطرات بزرگ می‌باشد. لیکن، با افزایش میزان پروتئین اندازه قطرات همگن‌تر شده و از میزان قطرات بزرگ کاسته شده است. توزیع اندازه قطرات یکنواخت تر به پایداری امولسیون کمک می‌کند. با افزایش غلظت پروتئین احتمالا شبکه‌ای تشکیل می‌شود که مانع تجمع و انبوهش قطرات می‌شود. ارسلبی و ایبانگلو (۲۰۱۰) گزارش کردند تشکیل شبکه ضعیف مانع فلوکه شدن امولسیون و در نتیجه ممانعت از خامه ای شدن می‌شود.



شکل ۶- ریز ساختار امولسیون های حاوی مقادیر ۰/۱ و ۵٪ آلبومین

Figure 6- Microstructure of emulsions containing 0.1 and 5% albumin

بحث و نتیجه گیری

نتایج نشان داد با افزایش درصد آلبومین پایداری امولسیون نیز افزایش می‌یابد. تغییرات ویسکوزیته در برابر سرعت برشی در امولسیون ۲۰ درصد روغن در آب نشان داد که با افزایش سرعت برشی ویسکوزیته امولسیون به تدریج کاهش می‌یابد که بیانگر رفتار رقیق رقیق‌شونده با برش در این امولسیون‌ها بود. مقادیر ویسکوزیته ظاهری در سرعت برشی ۵۰ بر ثانیه در امولسیون‌های حاوی مقادیر مختلف آلبومین نشان داد میزان ویسکوزیته در نمونه حاوی ۰/۳ درصد آلبومین

بیشتر از سایر تیمارها بود. در این مطالعه رفتار تیکسوتروپی برای غلظت ۰/۳ درصد آلبومین بالاترین میزان بود که نشان دهنده این است که کسر حجمی فاز پراکنده کم است. نتایج حاصل از برازش داده‌ها با مدل-های مختلف رئولوژیکی نشان داد که مدل کارئو با داشتن بالاترین ضریب تبیین، به عنوان بهترین مدل انتخاب شد. با افزایش فرکانس در آزمون روبش فرکانس هر دو مدول افت و ذخیره افزایش یافت. در امولسیون حاوی ۰/۳ درصد آلبومین مدول ذخیره بسیار بیشتر از تمامی مدول های نمونه‌های دیگر بود. نتایج تصاویر میکروسکوپی نشان داد با افزایش غلظت پروتئین میزان همگنی قطرات امولسیون بیشتر شد.

منابع مورد استفاده

Carreau PJ, 1972. Rheological equations from molecular network theories. Transactions of the Society of Rheology, 16(1): 99-127.

Cross MM, 1965. Rheology of non-Newtonian fluids: a new flow equation for pseudoplastic systems. Journal of Colloid Science 20(5): 417-437.

Da Silva JL and Rao MA, 1992. Viscoelastic properties of food hydrocolloid dispersions. Viscoelastic Properties of Foods: 285-315.

Dickinson E, 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. Food Hydrocolloids 17(1): 25-39.

Dickinson E, 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. Food Hydrocolloids 23(6): 1473-1482.

Diftis NG, Biliaderis CG and Kiosseoglou VD, 2005. Rheological properties and stability of model salad dressing emulsions prepared with a dry-heated soybean protein isolate–dextran mixture. Food Hydrocolloids 19(6): 1025-1031.

Doublier JL and Launay B, 1981. Rheology of galactomannan solutions: comparative study of guar gum and locust bean gum. Journal of Texture Studies 12(2): 151-172.

Erçelebi EA and Ibanoğlu E, 2009. Rheological properties of whey protein isolate stabilized emulsions with pectin and guar gum. European Food Research and Technology 229(2): 281-286.

Erçelebi EA and Ibanoğlu E, 2010. Effects of pectin and guar gum on creaming stability, microstructure and rheology of egg yolk plasma-stabilized emulsions. European Food Research and Technology 231(2): 297-302.

Everett D and McLeod R, 2005. Interactions of polysaccharide stabilisers with caseinaggregates in stirred skim-milk yoghurt. International Dairy Journal 15: 1175-1183.

Gunasekarana S and Ak MM, 2000. Review: Dynamic oscillatory shear testing of foods selected applications. Trends in Food Science & Technology 11: 115-127.

Hesarinejad MA, Koocheki A and Razavi SMA, 2014. Dynamic rheological properties of Lepidium perfoliatum seed gum: Effect of concentration, temperature and heating/cooling rate. Food Hydrocolloids 35: 583-589

Jacon SA, Rao MA, Cooley HJ and Walter RH, 1993. The isolation and characterization of a water extract of konjac flour gum. Carbohydrate Polymers 20(1): 35-41.

Iqbal S, Batool J, Ajaz M, Ambreen N and Akhlaq M, 2017. Impact of Egg White Protein on the Quality and Stability of Corn Oil-in-Water Emulsion. Journal of the Chemical Society of Pakistan, 39(6).

Karimi N, Mohammadifar MA and Nayebzade K, 2013. Effect of two types of Iranian gum tragacanth on stability and rheological properties of oil-in-water emulsion. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology Vol. 8, No. 3, (Translated in Persian).

Khalloufi S, Corredig M, Goff HD and Alexander M, 2009. Flaxseed gums and their adsorption on whey protein-stabilized oil-in-water emulsions. Food Hydrocolloids 23(3): 611-618.

Koksoy A and Kilic M, 2004. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. Food Hydrocolloids, 18(4): 593-600.

Koocheki A, Taherian AR and Bostan A, 2013. Studies on the steady shear flow behavior and functional properties of Lepidium perfoliatum seed gum. Food Research International 50: 446–456.

Krstonošić V, Dokić L, Nikolić I and Milanović M, 2015. Influence of xanthan gum on oil-in-water emulsion characteristics stabilized by OSA starch. Food Hydrocolloids 45: 9-17.

Launay B, Cuvelier G and Martinez-Reyes S, 1997. Viscosity of locust bean, guar and xanthan gum solutions in the Newtonian domain: a critical examination of the log (η sp) o-log C [η] o master curves. Carbohydrate Polymers 34(4): 385-395.

Lizarragaa MS, Vicinb DDP, Leza RG, Rubiolob A and Santiagoa LG, 2006. Rheological behaviour of whey protein concentrate and i-carrageenan aqueous mixtures. Food Hydrocolloids 20: 740-748.

McClements DJ and Li Y, 2010. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. Advances in Colloid and Interface Science 159(2): 213-228.

McClements DJ, 2004. Food Emulsions Principles, Properties and Techniques.Boca Raton, Fl: CRC Press. 632P.

Morris ER, 1989. Polysaccharide solution properties: origin, rheological characterization and implications for food systems. Frontiers in Carbohydrate Research 1: 132-163.

Najafi MN, Hosaini V, Mohammadi-Sani A and Koocheki A, 2016. Physical stability, flow properties and droplets characteristics of Balangu (Lallemantia royleana) seed gum/whey protein stabilized submicron emulsions. Food Hydrocolloids 59: 2-8.

Niu F, Su Y, Liu Y, Wang G, Zhang Y and Yang Y, 2014. Ovalbumin–gum arabic interactions: Effect of pH, temperature, salt, biopolymers ratio and total concentration. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 113: 477-482.

Niu F, Zhou J, Niu D, Wang C, Liu Y, Su Y and Yang Y, 2015. Synergistic effects of ovalbumin/gum arabic complexes on the stability of emulsions exposed to environmental stress. Food Hydrocolloids 47: 14-20.

Salehi F and Kashaninejad, M, 2015. Static rheological study of Ocimum basilicum seed gum. International Journal of Food Engineering 11(1): 97-103.

Sarabi-Aghdam V, Hosseini-Parvar SH, Motamedzadegan A and Matia-Merino L, 2012. An investigation on the interactions between Basil seed gum and whey protein isolate in aqueous systems. EJFPP Vol. 4 (1): 15-35 (Translated in Persian).

Sharma D, 2010. Characterisation of Biopolymer/Co-Solute Composites for the Design of High-Solid Biomaterials with Improved Structural Properties School of Applied Sciences, SET Protfolio Melbourne.

Soleimanpour M, Koocheki A and Kadkhodaee R, 2013. Influence of main emulsion components on the physical properties of corn oil in water emulsion: Effect of oil volume fraction, whey protein concentrate and Lepidium perfoliatum seed gum. Food Research International 50(1): 457-466.

Steffe JF, 1996. Rheological methods in food process engineering. Freeman press.

Sun C and Gunasekaran S, 2009. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. Food Hydrocolloids 23(1): 165-174.

Taherian AR, Fustier P and Ramaswamy HS, 2006. Effect of added oil and modified starch on rheological properties, droplet size distribution, opacity and stability of beverage cloud emulsions. Journal of Food Engineering 77(3): 687-696.

Van den Berg M, Jara FL. and Pilosof AM, 2015. Performance of egg white and hydroxypropylmethylcellulose mixtures on gelation and foaming. Food Hydrocolloids 48: 282-291.

Yoo B and Rao MA, 1995. Yield stress and relative viscosity of tomato concentrates: effect of total solids and finisher screen size. Journal of Food Science 60(4): 777-779.

Effect of egg albumin on physical, rheological and microstructure of oil-in-water emulsions

S Mirarab Razi [1], A Motamedzadegan[2]*, SA Shahidi[2] and A Rashidinejad[3]

Received: October 10, 2017 Accepted: April 11, 2018

[1]PhD Student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[2]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[3]Associate Professor of Food Science and Technology, Massey university, New Zealand

Introduction: Kinetically stable emulsions can be formed by using emulsifiers and/or thickening agents. Emulsifiers are mainly surface-active proteins which can adsorb on the droplet surfaces lowering surface tension and preventing the droplets from coming close enough together to aggregate. Biopolymers like proteins with emulsifier property and the ability to increase the viscosity of the emulsion systems are the essential ingredients in the formation of a stable emulsion. Emulsifiers have surface-active properties with ability of formation a compact and thick interfacial layer after the adsorption on the droplet surfaces, which results in a strong steric and electrostatic stabilization against coalescence and flocculation/aggregation. Egg white albumin (EWA) is one the best choices among proteins for fabrication of food emulsions with desirable properties, owing to its great functional possessions. In food based on emulsion systems, generally, steady state flow measurements and oscillatory (dynamic) measurements are used for the characterization of food emulsions. Steady state flow measurements are used for characterizing the shear thinning nature of food stabilizer. Oscillatory experiments are used to obtain information on the viscoelastic and gel characteristics of foods. Concerning emulsion rheological behaviour, it ranges between Newtonian and pseudoplastic.

Material and methods: In this study, the effect of different concentrations (0.1, 0.3, 0.5, 1, 3 and 5%) of albumin on physical, rheological properties, as well as microstructure of oil-in-water (O/W) emulsions (20% wt/wt) were investigated. The emulsions were prepared by dispersing 20% (w/v) sunflower oil in the albumin solution (0.1-5%). Primary emulsions were prepared using an Ultra-Turrax blender at 11,000 rpm for 2 min. Fine emulsions were then prepared by homogenization of the primary emulsions using an ultrasonic apparatus for 2 min. Creaming was measured during 12 days. The rheological properties of samples were measured using rheometer. Frequency dependency of storage modulus and loss modulus can be calculated by Power law model. The amount of *b* and *d* is closer to zero when the frequency dependency is low, the higher amount of *b* represents the elastic characteristic of the samples, it is more than zero for physical gels, and zero for the covalent gels. Microstructure of the emulsions was studied at room temperature using light microscope. The experimental data were analyzed using SPSS statistical software. The rheological data fitting was done using Rheoplus software (Version 3.4, Ostfildern, Germany). Significant differences between the means of different treatments were determined by Duncan's multiple range tests ($P<0.05$).

Results and discussion: The results showed that the stability of the emulsions containing 0.1% albumin was 67% while it increased to 95% with increasing the concentration of albumin to 5%. After 12 days of the storage at ambient temperature, there was less creaming observed for the emulsions containing higher concentration of albumin. Results of the flow behaviour test demonstrated a decrease in the viscosity of the samples resulted from the shear rate increasing, leading to the emulsions exhibiting a shear thinning behaviour. These behaviors can be explained with ordering of emulsion droplets along the flow direction due to overcoming Brownian motion with increasing shear rate, which causes a decrease in resistance to flow and thus, decreases the

viscosity. Due to a hysteresis area, the emulsions presented a thixotropic behaviour. Carreau was recognized as the best model for describing the rheological data in the current experiment. Emulsions containing 0.3% albumin had the highest zero shear viscosity, hysteresis area, and apparent viscosity (measured at constant shear rate of 50 s^{-1}). Data of the strain sweep test showed that LVE was about 0.1%. In the emulsions containing different amounts of albumin, storage modulus was more than loss modulus and both increased with the frequency. In the case of the emulsion containing 0.3% albumin, the storage modulus was the maximum. Tan (δ) and complex viscosity increased and decreased, respectively, at frequency sweep test. Power low model described the frequency sweep data properly. Microstructure of emulsion showed that emulsions containing high albumin content (5%) demonstrate a considerably uniform size of droplets and amount of large droplet was decreased.

Conclusion: Taken together, the results of the current study showed that the addition of albumin, as the natural emulsifier, up to 5% could improve the stability of the egg albumin emulsions, due to its emulsifying properties. This sample can be used in foods based on emulsion system.

Keywords: Albumin, Emulsion, Microstructure, Rheology, Carreau Model