DOI: http://dx.doi.org/ 10.22104/IFT.2022.5678.2110

Innovative Food Technologies, 10(1), 49-68, Autumn 2022

Research Article

Preparation of low-fat mayonnaise using modified potato starch with carboxy methyl-phosphorylated method containing nanochitosan

Homa Torabizadeh[1*], Bahare Ghavidel[2], Alireza Basiri[3], Alireza Shakeri[4] , Mehrdad Azin[5], Bahram Tafaghodinia[6]

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran
2. MSc. alumni, Department of Food Science and Technology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran
4. Professor, Department of Polymer Chemistry, University of Tehran, Tehran, Iran
5. Professor, Department of Bioenergy and Conversion Processes, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran
6. Assistant Professor, Department of Plant Processing, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

(Received 13 June 2022, Received in revised form 20 August 2022, Accepted 28 October 2022)

Abstract

In this study, potato starch was etherified by monochloroacetic acid and then was cross-linked by Sodium triphosphate. Thereafter, chitosan nanoparticles were added to increase the antimicrobial properties and was used in mayonnaise with reduced fat in three types of formulations, with 30, 40 and 50% reduced fat. In rheological studies, from 4 different levels, carboxymethylated starch at the level of 7.6, cross-linked at the level of 0.2, containing nano-chitosan at the level of 20% was selected by creating a high complex viscosity. The average particle size of nanochitosan was 79 nm and its zeta potential was positive and equal to 36.6 mV. The results of the flow behavior of mayonnaise samples after 40 days showed that, due to the increase in shear rate, more changes were made in the apparent viscosity of samples 40 and 50% than 30% sample. In the study of viscoelastic behavior, the highest value of Ǵ was determined for 50% sample during the 46 days storage period. Evaluation of the thixotropic behavior of the samples revealed that, the substitution of modified starch increased the thixotropic properties of the mayonnaise emulsions. Study of stress changes in mayonnaise samples implied that, the highest stress was related to 50% mayonnaise sample compared to control. The flow behavior estimation of mayonnaise revealed that with increasing the amount of modified starch along with increasing the coefficient of stability, the amount of stress also increased. Emulsion stability assessment of the samples implied that the samples 30 and 40% have the highest degree of stability. Microbial evaluation of the sauce samples shows a decrease in the total microbial count of the control from 228.3×10^2 to 55.9×10^2 in the 30% sample, after 46 days.

Keywords: Carboxymethylated Starch, Phosphorylated Starch, Nano-chitosan, Low Fat Mayonnaise, Rheology.

How to cite this article:

Torabizadeh, H., Ghavidel, B., Basiri, A., Shakeri, A., Azin, M., Tafaghodinia, B., (2022). Preparation of low-fat mayonnaise using modified potato starch with carboxy methyl-phosphorylated method containing nanochitosan . *Innov. Food Technol., 10(1)*, 49-68.

* Corresponding author: H.torabizadeh@irost.ir

DOI: http://dx.doi.org/ 10.22104/IFT.2022.5678.2110

فصلنامه فناوری‌های جدید در صنعت غذا، دوره ۱۰، شماره ۱، صفحه ۶۸-۴۹، پاییز ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

تهیه سس مایونز کم چرب با استفاده از نشاسته سیب‌زمینی اصلاح شده با روش کربوکسی متیله-فسفوریله حاوی نانوکیتوزان

هما ترابی زاده[1*]، بهاره قویدل[2]، علیرضا بصیری[3]، علیرضا شاکری[4]، مهرداد آذین[5]، بهرام تفقدی نیا[6]

۱. دانشیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، گروه صنایع غذایی و تبدیلی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران

۳. دانشیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران

۴. استاد، گروه شیمی پلیمر، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تهران

۵. استاد، گروه زیست انرژی و فرآیند های تبدیلی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران

۶. استادیار، گروه تولیدات گیاهی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران

(تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۰۳/۱۳، تاریخ آخرین بازنگری: ۱۴۰۱/۰۵/۲۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۶)

چکیده

یکی از اولین اصولی که در اکثر رژیم‌های غذایی به آن تأکید می‌شود، کاهش مصرف چربی روزانه است. از این جهت به‌کارگیری جایگزین‌های مناسب برای چربی‌ها در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی می‌تواند سلامت مصرف‌کنندگان را تضمین نماید. با این هدف، در این تحقیق نشاسته سیب‌زمینی توسط منوکلرواستیک اسید، اتری و سپس توسط تری متافسفات سدیم اتصالات جانبی در ساختار آن ایجاد گردید. سپس، نانوذرات کیتوزان جهت افزایش خواص ضد میکروبی به آن افزوده شد و در سس مایونز با چربی کاهش‌یافته در سه نوع فرمولاسیون، با ۳۰ ، ۴۰ و ۵۰٪ چربی کاهش‌یافته مورداستفاده قرار گرفت. در بررسی‌های رئولوژیک از بین ۴ سطح مختلف، نشاسته کربوکسی متیله شده در سطح ۷/۶، اتصال جانبی شده در سطح۰/۲، حاوی نانو کیتوزان در سطح۲۰٪ با ایجاد ویسکوزیته کمپلکس بالا انتخاب شد. میانگین اندازه ذرات نانوکیتوزان ۷۹ nm و پتانسیل زتای آن مثبت و برابر با ۳۶/۶ mV تعیین گردید. مطالعه رفتار جریان نمونه‌های مایونز بعد از ۴۰ روز نشان داد که، در اثر افزایش سرعت برشی، تغییرات بیشتری در ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های ۴۰ و ۵۰٪ نسبت به نمونه ۳۰٪ ایجاد شده است. در ارزیابی رفتار ویسکوالاستیک، نمونه ۵۰٪ دارای بالاترین مقدار Ǵ طی ۴۶ روز نگهداری بود. مطالعه رفتار تیکسوتروپیک نمونه‌ها مشخص نمود که، جایگزینی نشاسته اصلاح‌شده موجب افزایش ویژگی تیکسوتروپیک امولسیون‌های سس می‌گردد. در بررسی تغییرات تنش بالاترین میزان مربوط به نمونه ۵۰٪ در مقایسه با کنترل بود. بررسی رفتار جریان سس مایونز بیانگر افزایش ضریب پایداری و مقدار تنش با افزایش مقدار نشاسته بوده بعلاوه نمونه‌های۳۰ و ۴۰٪ بالاترین میزان پایداری امولسیون سس را داشته‌اند. ارزیابی میکروبی نمونه‌های سس بیانگر کاهش شمارش کلی میکروبی شاهد از $۲۲۸/۳ \times ۱۰^{۲}$ به $۵۵/۹ \times ۱۰^{۲}$ در نمونه ۳۰٪ ، بعد از ۴۶ روز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: نشاسته کربوکسی متیله، نشاسته فسفوریله، نانو کیتوزان، سس مایونز کم چرب، رئولوژی

* نویسنده مسئول: H.torabizadeh@irost.ir

۱. مقدمه

به‌کارگیری نشاسته‌های طبیعی، به دلیل ویژگی‌های عملکردی ضعیف، در صنعت غذا با محدودیت روبرو است و به همین دلیل معمولاً از نشاسته‌های اصلاح‌شده در فرآوری مواد غذایی استفاده می‌گردد. روش‌های اصلاح نشاسته شامل اصلاح فیزیکی، شیمیایی، آنزیمی و ژنتیکی است. اصلاح فیزیکی به‌طور عمده با هدف تغییر ساختار گرانولی نشاسته و افزایش حلالیت در آب انجام می‌گیرد. این روش به‌دلیل عدم استفاده از ترکیبات شیمیایی، روشی ساده و کم هزینه محسوب می‌گردد. تیمار حرارتی مرطوب، پختن، رتروگراداسیون، انجماد، ژلاتیناسیون، تیمار اعمال فشار بالا در شمار روش‌های متداول اصلاح فیزیکی قرار دارند. یکی دیگر از روش‌های اصلاح نشاسته استفاده از پرتودهی رادیویی بدون مواد شیمیایی است که در آن پیوندهای جدید بین مولکول‌های نشاسته ایجاد می‌گردد. اصلاح شیمیایی یکی از روش‌های رایج در تهیه نشاسته‌های اصلاح شده است که شامل اتری‌شدن، استری‌شدن، هیدرولیز، ایجاد اتصالات جانبی و اکسیده‌شدن می‌باشد. تغییرات ناشی از اصلاح شیمیایی بستگی به منبع نشاسته، شرایط واکنش از قبیل غلظت واکنش‌دهنده‌ها، زمان واکنش، حضور کاتالیست، pH، نوع و میزان استخلاف دارد [۱]. اصلاح شیمیایی در ۳ گروه هیدروکسیل (C2, C3 , C6) تغییر ایجاد می‌کند. اصلاح شیمیایی، تشکیل پیوندهای درون و بین‌مولکولی در نقاط تصادفی ساختار نشاسته را تسهیل می‌نماید. استری و اتری شدن نشاسته شامل جانشینی گروه‌های آب‌دوست یا هیدروکسیل با گروه‌های آب‌گریز است. در نشاسته اصلاح‌شده از طریق استری شدن، گروه‌های کربوکسیل جدید ایجاد می‌گردد. ویژگی‌های نشاسته اصلاح‌شده به گروه‌های موجود در ساختار آن وابسته بوده و خصوصیات متفاوتی را از خود نشان می‌دهد. اکسیده شدن نشاسته در اثر واکنش نشاسته با عوامل اکسیدکننده صورت می‌گیرد و در این روش عوامل کربونیل و کربوکسیل جدید وارد ساختار نشاسته می‌شوند. اصلاح اسیدی سبب تغییرات فیزیکوشیمیایی نشاسته بدون تخریب ساختار گرانولی شده و منجر به افزایش حلالیت و قدرت ایجاد ژل و کاهش ویسکوزیته خمیر در نشاسته می‌شود. این نوع نشاسته در صنعت شیرینی‌پزی جهت آماده‌سازی نشاسته با ویسکوزیته پایین کاربرد دارد. نشاسته اصلاح شده آنزیمی در فراورده‌های غذایی که تیمار شیمیایی در آنها انجام نمی‌گیرد کاربردهای فراوانی دارد. هیدرولیز انتخابی در نشاسته‌های ژلاتینه شده و گرانولی با آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته مانند آلفا- آمیلاز، گلوکوآمیلاز و پولولاناز و بسیاری دیگر از آنزیم‌های تجزیه‌کننده اتصالات آلفا ۴ ⟵ ۱ و۶ ⟵ ۱ انجام می‌گیرد. نشاسته‌های اصلاح‌شده با ایجاد اتصال‌جانبی در مقایسه با نشاسته‌های طبیعی دارای مقاومت بالاتری نسبت به تنش‌های مکانیکی، دماهای بالا و pH های پایین هستند [۲]. میزان تشکیل اتصالات جانبی در ساختار نشاسته از طریق سنجش ویژگی‌های رئولوژیک آن تعیین می‌شود. اثرات اتصال جانبی بسته به منبع گیاهی نشاسته و عامل اتصال جانبی متفاوت است [۳]. کاربرد نشاسته‌های اصلاح‌شده با ایجاد اتصالات جانبی به‌عنوان تغلیظ‌کننده و افزایش ویسکوزیته، همچنین استحکام بافت در صنعت غذا توسط سینگ و کار (۲۰۰۷) بررسی شده است [۴]. نشاسته کربوکسی متیله شده[1] جز نشاسته‌های اصلاح‌شده مهم با ویژگی‌های منحصربه فرد به دلیل وجود گروه‌های عاملی CH2COO- با بار منفی است. این نوع اصلاح معمولاً از طریق واکنش نشاسته با منوکلرواستیک اسید یا سدیم منوکلرو استیک اسید در شرایط قلیایی شکل گرفته و مشتق آنیونی آن به‌عنوان پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر می‌باشد [۵]. ایجاد اتصالات جانبی[2] جزء روش‌های متداول اصلاح شیمیایی نشاسته محسوب می‌گردد. اتصالات جانبی با استفاده از گروه‌های عاملی مختلف در ساختار نشاسته شکل‌گرفته و این عوامل قادرند پیوندهای هیدروژنی را با پیوندهای شیمیایی استحکام بخشیده و ویژگی‌های نشاسته را بهبود بخشند و موجب افزایش ویسکوزیته در محلول‌های آبی حاوی نشاسته شوند [۶-۷]. ترکیبات ایجادکننده اتصالات جانبی، معمولاً سدیم متافسفات، منوسدیم فسفات، سدیم تری پلی فسفات، اپی کلروهیدرین، فسفوریل کلرید، ترکیبی ازاسیدآدیپیک واستیک انهیدرید و وینیل کلرید بوده که قادرند پیوندهای درون‌مولکولی با گروه‌های هیدروکسیل اولیه C6 یا گروه‌های هیدروکسیل ثانویه C2 , C3 ایجاد کرده و موجب افزایش قوام و استحکام در ساختار مولکولی نشاسته شوند. اصلاح دوگانه نشاسته ترکیبی از استخلاف و ایجاد اتصالات جانبی است که سبب افزایش مقاومت در برابر

1. Carboxymethyl Starch
2. Cross-linking
3. Degree of deacetylation

شرایط اسیدی، ازهم پاشیدگی مکانیکی و گرمایی در نشاسته و تأخیر در بلوری‌شدن مجدد آن در طول دوره نگهداری می‌شود [۸]. کیتوزان، پلی ساکاریدی آب‌دوست و مشتق شده از کیتین بوده که دارای فعالیت ضد میکروبی بالایی در برابر باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت و کپک‌ها می‌باشد. فعالیت ضد میکروبی کیتوزان به وزن مولکولی پلیمر و درجه داستیله شدن[۳] در ساختار مولکولی آن بستگی دارد [۹]. بررسی خواص ضد میکروبی کیتوزان با درجات داستیله شدن متفاوت روی کپک‌ها ازجمله *آسپرژیلوس فومیگاتوس*، باکتری‌های گرم مثبت ازجمله *استافیلوکوکوس ارئوس*، همچنین باکتری‌های گرم منفی مانند *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تایفی موریوم* نشان دادند که فعالیت ضد میکروبی آن با کاهش درجه داستیله شدن افزایش می‌یابد. این افزایش را می‌توان به حضور بیشتر گروه‌های آمین آزاد در ساختار مولکولی کیتوزان نسبت داد. درجه داستیله شدن عامل تعیین‌کننده در حلالیت و افزایش بار الکتریکی کیتوزان است [۱۰-۱۱]. فعالیت ضد قارچی در کیتوزان مشابه فعالیت ضد باکتریایی بوده و مکانیسم آن تأثیر روی دیواره سلولی میکروارگانیسم می‌باشد [۱۲]. کیتوزان مزایای متعددی نسبت به سایر ترکیبات نگهدارنده دارد که شامل طیف وسیع عملکرد و اثرگذاری بیشتر روی قارچ‌ها نسبت به باکتری‌ها می‌باشد [۱۳-۱۴]. علاوه بر این، استفاده از نانوکامپوزیت‌های زیست تخریب‌پذیر حاوی نانوکیتوزان اثرات بازدارندگی روی رشد و تکثیر باکتری‌های گرم مثبت مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* همچنین باکتری‌های گرم منفی مانند لیستریا مونوسایتوژنز را نشان داده‌اند [۱۵]. پوشش‌های نانوکیتوزان در تولید نانوکپسول‌های حاوی اسانس، انتی اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها و بعضی دیگر از ترکیبات زیست فعال در تهیه مواد غذایی و دارویی استفاده می‌شود. نانوکیتوزان به خاطر دارا بودن خاصیت پلی کاتیونیک در سطح خود قادر است تا به‌واسطه وجود بار الکتریکی منفی در سطح باکتری‌ها واکنش داده و جذب سطوح باکتری گردد. همین اتصال موجب خروج ترکیبات حیاتی درون سلول باکتری شده و مرگ آن را موجب می‌گردد [۱۶]. تولید نانو ذرات کیتوزان در محدوده اندازه ذرات ۷۰-۱۰۰۰ نانومتر به‌صورت پوشش‌های نانولیپوزوم موجب افزایش پایداری و فعالیت این نوع ذرات گردیده است. نانوکیتوزان‌های تهیه‌شده حاوی ترکیبات زیست فعال موجب بهبود پایداری در طول نگهداری، انتشار پایدار، افزایش فعالیت زیستی برای انجام فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی نسبت به فرم آزاد می‌باشند. نانوکیتوزان دارای کاربردهای متنوعی به‌عنوان عامل ریزدرون پوشانی، افزودنی‌های غذایی و پوشش‌های خوراکی دارا می‌باشد [۱۶]. باوجود اهمیت نشاسته و صمغ‌ها در صنعت غذا، مطالعات اندکی بر رفتار رئولوژیک و پایداری آن‌ها به‌ویژه در انواع سس انجام‌گرفته است. به‌طورمعمول، ویسکوزیته و قوام سس‌ها می‌بایست به مدت یک سال یا بیشتر حفظ شود. به‌عبارت‌دیگر، تنها هیدرو کلوئیدهایی می‌توانند در سس‌ها مورداستفاده قرار گیرند که در مقابل شرایط اسیدی و اعمال حرارت در زمان طولانی پایدار باشند. از مقاوم‌ترین هیدرو کلوئیدها در برابر شرایط اسیدی می‌توان صمغ‌های زانتان، تراگاکانت، پروپیلن گلیکول، آلژینات و سلولز میکروکریستاله را نام برد. این موضوع به‌ویژه برای سس‌های کم‌کالری مشکل عمده‌ای محسوب می‌گردد زیرا برای پایدارسازی این سس‌ها به دلیل رطوبت بالا، به هیدرو کلوئید بیشتری نیازاست [۱۷-۱۸]. در مقایسه با دیگر نشاسته‌ها، نشاسته سیب‌زمینی دارای مزه‌ای شیرین‌تر، ویسکوزیته خمیر بالاتر، و گرانول‌های نشاسته بزرگ‌تری هستند. نشاسته طبیعی در شرایطی که دما و نیروهای برشی نسبتاً ملایم بوده و محصول نهایی در مدت‌زمان کوتاهی قابلیت نگهداری داشته قابل استفاده می‌باشد. در تهیه سس‌ها و پودرهای سوپ که شرایط فرآیند از نظر وجود دمای بالا و pH پایین سخت‌تر بوده و پایداری میکروبی در مدت زمان نگهداری و حضور روغن و تنش برشی بالا مورد نظر می‌باشد، نیاز به اصلاح ساختار نشاسته ضروری است. معمولاً نشاسته، ویسکوزیته را صرف نظر از شرایط تولید انجام‌گرفته، بهبود می‌بخشد. اگر میزان اتصالات جانبی تقریباً کم باشد، نشاسته قابلیت تغلیظ کنندگی بالایی را تحت شرایط فرآیند ملایم خواهد داشت. برخلاف آن، در نشاسته‌هایی که اتصالات جانبی به میزان زیادی در ساختار نشاسته شکل گرفته باشد، تحت فرایندهای با شدت بالا، ویسکوزیته افزایش خواهد داشت [۱۹]. تولید سس مایونز کم‌چرب با مشکلاتی ازجمله کاهش استحکام بافت، کاهش میزان پایداری و طعم و مزه نامناسب مواجه است. در تولید محصولات کم‌چرب، از نقطه نظر فیزیکی لازم است که فاز پراکنده یعنی روغن کاهش‌یافته و میزان آب در محصول افزایش یابد. برخی از جایگزین‌های چربی مورد

استفاده شامل نشاسته ذرت اصلاح‌شده، اینولین، پکتین، سلولز میکروکریستاله، کارا گینان و سایر صمغ‌ها می‌باشند. صمغ‌های پلی ساکاریدی ازجمله صمغ گوار و زانتان به‌طور گسترده به‌عنوان جایگزین‌های چربی در فرآوری محصولات گوشتی کم‌چرب موردمطالعه قرارگرفته‌اند [۲۰]. طبق استاندارد ملی ۴۴۸۸ ایران، درصورتی‌که میزان چربی در سس مایونز با ۶۶ درصد روغن، حداقل به میزان ۲۵٪ کاهش یابد (سس با میزان ۴۹/۵ درصد چربی) سس با چربی کاهش‌یافته و اگر حداقل ۵۰ درصد کاهش یابد (سس با میزان ۳۰٪ چربی) سس کم‌چرب خواهد بود [۲۱]. ویژگی رئولوژیکی امولسیون‌های دوگانه آب در روغن در آب (W/O/W) مشابه امولسیون‌های روغن در آب (O/W) سس مایونز معمولی است. سه فاکتور عمده تعیین‌کننده در کیفیت سس مایونز عبارت‌اند از، بی‌ثباتی امولسیون روغن در آب، عطر و طعم نامناسب در سس به علت اکسیداسیون و هیدرولیز، و ایجاد طعم نامناسب و اسیدی شدن به علت رشد انواع میکروارگانیزم‌ها می‌باشد. هدف از انجام این تحقیق تهیه سس مایونز کم چرب با استفاده از نشاسته سیب‌زمینی اصلاح‌شده با هدف جایگزینی این نوع نشاسته بجای روغن در فرمولاسیون سس بوده است.

۲. مواد و روش‌ها

نشاسته از سیب‌زمینی واریته آئولا با استفاده از روش استخراج آبی از سیب‌زمینی خام تهیه گردید. نانو ذرات کیتوزان با وزن مولکولی پایین (۱۹۰-۵۰ کیلو دالتن و با ویسکوزیته ۳۰۰-۲۰ سانتی پوآز) با متوسط اندازه ذرات nm ۷۹ از شرکت باران شیمی پاسارگاد تهیه گردید. روغن مایع کلزا، پودر خردل (فروشگاه گیاهان دارویی)، نمک(شرکت گل‌ها)، شکر(شرکت اسکاد)، سرکه تقطیری ۵٪ (شرکت وردا)، تخم‌مرغ (شرکت تلاونگ)، زانتان (پزیفر آمریکا) تهیه گردیدند. سایر ترکیبات شیمیایی مانند ایزوپروپانل، هیدروکسید سدیم، منوکلرو استیک‌اسید، متانل، استن، اتانل، تری سدیم تری متا فسفات، هیدروکلریک اسید از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

۱.۲. روش تهیه نشاسته اصلاح‌شده کربوکسی متیله و فسفوریله

کربوکسی متیله شدن نشاسته در دو مرحله قلیایی شدن و اتری شدن صورت می‌گیرد. کربوکسی متیله شدن در محیط‌های آبی، آلی و خشک انجام می‌شود. بدین منظور، مقدار g ۱۰ نشاسته سیب‌زمینی با ۱۴٪ رطوبت و ml ۲۰ ایزوپروپانل به فلاسک سه دهانه، اضافه شد. مقدار g ۳/۷۳ سدیم هیدروکسید به فلاسک اضافه شد ومخلوط به مدت min ۴۵ در اتمسفر نیتروژن بهم زده شد. سپس منوکلرو استیک اسید در دو سطح (۷/۶۷و ۱۰ گرم) در ml ۱۴ ایزوپروپانول و g ۳/۱۶ هیدروکسید سدیم با نسبت‌های مولی ۱و ۲ سود به منوکلرواستیک اسید اضافه شد و واکنش به مدت min ۱۰۰ در دمای °C ۴۵ تحت شرایط همزدن ادامه یافت. پس از آن، محصول نهایی سرد شده، خنثی گردیده و صاف شد و درنهایت با محلول آبی ۸۰ درصد متانل، ۳بار شستشو داده و در آون تحت خلأ در دمای °C ۶۰ خشک گردید [۲۲]. مرحله دوم ایجاد اتصال جانبی در نشاسته کربوکسی متیله شده است. در این مرحله، نسبت عامل ایجادکننده اتصال جانبی (تری سدیم تری متا فسفات) به نشاسته در دو سطح۰/۲-۰/۳٪ بررسی شد. نانوذره کیتوزان بر اساس وزن نشاسته کربوکسی‌متیله شده در دو سطح ۱۰ و۲۰ ٪ در حین ایجاد اتصال جانبی اضافه گردید. در ادامه، g ۱۰ از CMS را در ml ۴۵ آب خنثی حل شد و به مدت min ۳۰ با همزن شیشه‌ای مخلوط گردید. سپس عامل ایجادکننده اتصال جانبی و هیدروکسید سدیم با نسبت ۳ به ۱ به مخلوط اضافه و با میله شیشه‌ای هم زده شد. پس از آن، ژل تشکیل‌شده به مدت h ۲۴ در دمای یخچال نگهداری شد. ژل حاصل ۳ مرتبه با اتانل ۹۶ درجه و سپس ۳ بار با استن شستشو داده شد تا اتانل کاملاً حذف شده و درنهایت شستشو با آب مقطر انجام گرفت و در آون °C ۴۰ خشک گردید [۲۳]. ژل خشک‌شده، آسیاب و از صافی با مش ۲۰۰ عبور داده شد.

۲.۲. روش تعیین درجه جانشینی (DS)[1]

جهت تعیین درجه جانشینی یا میزان کربوکسی متیله شدن نشاسته، از روش تیتراسیون مستقیم استفاده شد. در ابتدا نشاسته سدیم کربوکسی متیله با آب شستشو داده و سپس با محلول HCl 0/1 نرمال خنثی‌سازی و پس از آن، با اتانل رسوب داده شد. رسوب نشاسته سدیم کربوکسی متیله صاف گردید و تحت خلا و در دمای °C ۵۰ خشک و آسیاب گردید. پس از آن، رسوب خشک‌شده در استن حل و

با افزودن مقدار ۳۰ ml HCL 6 M به ۱۰ g نمونه با همزن مغناطیسی به مدت ۳۰ min دقیقه همزده تا به فرم اسیدی (H-CMS) تبدیل گردید. دیسپرسیون تهیه‌شده را صاف نموده و اسید اضافی خارج گردید. رسوب روی صافی با اتانل شستشو داده شد و مجدداً در استن حل و فیلتر شده تحت خلا و در دمای ۵۰ °C خشک و آسیاب شد. از H-CMS جهت تعیین درجه جانشینی استفاده گردید. مقدار آب نمونه H-CMS با استفاده از خشک‌کن تحت خلاء تعیین گردید [۲۴]. تعیین درجه جانشینی[1] با استفاده از فرمول (۱) محاسبه شد.

$$DS=\frac{nNaOH\times M0}{mc-(nNaOH\times MR)} \quad (۱)$$

$$m_c=\frac{mp-mpF}{1000} \quad (۲)$$

که در این فرمول:

M_0: جرم مولی یک واحد گلوکز بدون آب در مولکول نشاسته و برابر با ۱۶۲ g/mol می‌باشد.

M_R: جرم مولی کربوکسی متیل برابر با ۵۸ g/mol می‌باشد

n_{NaOH}: مقدار سدیم هیدروکسید مصرفی (mol)

m_p: وزن نمونه(g)

M_c: وزن نمونه خشک شده (g)

F: میزان رطوبت (%) می‌باشد.

۳.۲. بررسی ویژگی‌های رئولوژیک نشاسته اصلاح شده

به‌منظور انتخاب نشاسته مناسب برای مراحل بعدی و بررسی اثر اتصال جانبی بر روی نشاسته کربوکسی متیله شده از بین ۸ سطح نشاسته اصلاح شده، براساس طرح تمام فاکتوریل،۴ سطح مورد بررسی رئولوژیکی قرار گرفت و رفتارویسکوالاستیک آن بررسی شد. بدین منظور دیسپرسیون ۳٪ از ژل‌ها تهیه گردید و بعد از ۲۴ h ساعت سطوح ۷، ۴،۶ ،۲ مورد ارزیابی قرار گرفت. در جدول (۱) سطوح نشاسته اصلاح شده نشان داده شده است.

جدول (۱) سطوح مختلف نشاسته اصلاح شده

Table 1. Different levels of modified starch

درصد وزنی نانو کیتوزان Nanochitosan (%W)	نسبت وزنی TSTMP TSTMP (W Ratio)	مقداروزنی MCA MCA (W value)	شماره آزمایش Test Number
20	0.3	7.6	1
10	0.3	7.6	2
20	0.2	10	3
20	0.3	10	4
10	0.2	7.6	5
10	0.2	10	6
20	0.2	7.6	7
10	0.3	10	8

مقدار ۰/۳ g نمونه به ۹/۷ ml بافر اسید سیتریک-فسفات اضافه گردید و به مدت ۳۰ min مخلوط و به مدت ۲۴ h در دمای محیط نگهداری شد [۴]. کرنش ۰/۱٪ جهت تعیین منطقه ویسکوالاستیک خطی بر طبق نتایج کرنش رفت و برگشتی به دست آمد. ضریب ویسکوز و ضریب الاستیک در کرنش برشی ۰/۱٪ و محدوده فرکانس ۰/۱-۱۰۰ Hz توسط رئومتر Anton paar 301 (شرکت GmbH آلمان) سیستم سطح به سطح با قطر ۲۵ mm و فاصله صفحه ۱ mm در محدوده فرکانس ۱- ۰/۱۰۰ Hz، کرنش ۰/۱ درصد و محدوده برشی ۱/s ۱۰۰۰- ۰/۱ مورد بررسی قرار گرفت.

۴.۲. بررسی اندازه ذرات نانو کیتوزان

میانگین اندازه ذرات، شاخص توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتای نانو ذرات کیتوزان با استفاده از دستگاه تجزیه‌گر اندازه ذرات مدل90 Plus شرکت Brookhaven Instruments با روش پراکندگی نور دینامیکی اندازه‌گیری شد. پتانسیل زتا

1. Degree of Substitution

2. Dynamic Light Scattering

معمولاً برای اندازه‌گیری میزان بار سطحی و پایداری و ثبات ذرات تعیین می‌گردد.

۵.۲. تهیه سس مایونز

سس مایونز یک امولسیون روغن در آب (O/W) است که توسط فسفولیپیدها و لیپوپروتئین‌های زرده تخم‌مرغ پایدار می‌شود. سس مایونز در ۴ فرمول متفاوت با ۳۰، ۴۰، ۵۰٪ روغن کاهش‌یافته (به ترتیب با ۴۶/۲ ، ۳۹/۶ و ۳۳٪ روغن) و نمونه شاهد با ۶۶٪ روغن تهیه گردید. سس مایونز کم‌کالری با افزایش آب در مقدار ثابت زرده تخم‌مرغ تهیه شد. بدین منظور، زرده تخم‌مرغ با هموژنایزر به مدت ۵ min اختلاط یافت، سپس مواد خشک شامل نمک، شکر، صمغ زانتان به آن اضافه گردید و بعد از ۳ min، پودر خردل اضافه و به مدت ۳۰ s مخلوط شد. پس از آن، روغن به‌آرامی افزوده و در مخلوط کن با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه یکنواخت گردید. سپس، سرکه به طور منظم و آهسته به مخلوط اضافه شد. درنهایت سس مایونز حاصل به مدت ۵ min مخلوط شد. سس مایونز کم‌کالری نیز به همین روش تهیه شد با این تفاوت که نشاسته به آب اضافه گردید و ژل تشکیل‌شده قبل از افزودن روغن با سایر مواد اولیه ذکرشده مخلوط گردید و بعد از افزودن روغن جهت ایجاد بافتی یکنواخت و مناسب به مدت ۵ دقیقه در مخلوط کن با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه مخلوط شد.

۶.۲. بررسی رفتار جریان و ویسکوالاستیک سس مایونز

رفتار جریان و ویسکوالاستیک نمونه‌های سس مایونز با رئومتر Anton paar 301 (شرکت GmbH آلمان) سیستم سطح به سطح با قطر ۲۵ mm و فاصله صفحه ۱ mm در محدوده فرکانس HZ ۱۰۰- ۰/۱ ، کرنش ۰/۱٪ و محدوده برشی 1/s ۱۰۰۰- ۰/۱ مورد بررسی قرار گرفت. رفتار جریان سس مایونز براساس مدل هرشل- بالکی برای بررسی ویژگی‌های رفتاری سس مایونز کم‌چرب و پرچرب مورداستفاده گرفت. زمانی که معادلات جریان بر اساس مدل هرشل- بالکی بررسی شد، ضریب همبستگی در محدوده ۰/۹۴۹-۰/۹۸۸ به دست آمد. بر اساس نتایج مطالعات لیو و همکاران (۲۰۰۷) در معادلات هرشل بالکی مقدار تنش (Yield stress) مهم بوده و جهت ارزیابی احساس دهانی در غذا، طراحی پمپ‌ها و میزان چسبندگی یا پوشانندگی در مواد پوشش‌دهنده کاربرد دارد. مقدار تنش در سس‌های مایونز، با افزایش مقدار نشاسته و کاهش روغن کاهش می‌یابد.

براساس معادلات هرشل بالکی پارامترهای مؤثر در تعیین رفتار جریان نمونه‌های سس مایونز شامل k (ضریب پایداری)، n (شاخص جریان)، r^2 (ضریب رگرسیون) و τ_y (تنش) می‌باشند [۲۶-۲۵].

$$\tau=\tau y + k \times \gamma 0n \qquad (۳)$$

که در این فرمول: τ تنش برشی (Pa)، τ_y مقدار تنش (Pa)، وγ^0 سرعت برشی(1/s) ، k ضریب پایداری ($Pa\ s^{-1}$)، و n شاخص جریان است.

۷.۲. تعیین پایداری امولسیون

۵ g از هر نمونه در لوله آزمایش وزن شده بعد از بستن درب در دمای ۵۰ °C به مدت ۴۸ h ساعت نگهداری شد. بعد از گذشت ۴۸ h ، امولسیون در دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۱۰ min سانتریفوژ گردید. لایه روغن روی امولسیون جداسازی شد و پایداری امولسیون نمونه‌های سس مایونز بر اساس روش مون و همکاران (۲۰۰۷) بررسی گردید [۲۷].

$$\lambda = \frac{F1}{F0} \times 100 \qquad (۴)$$

که در این فرمول:

λ = پایداری امولسیون

F_1 = وزن امولسیون بعد از ۴۸ ساعت

F_0= وزن اولیه امولسیون می‌باشد

۸.۲. اندازه‌گیری pH

تعیین میزان pH نمونه‌های سس مایونز پس از تولید و بعد از گذشت دوره زمانی ۹۰ روز توسط دستگاه pH متر مدل ORION 420A مورد بررسی قرار گرفت.

۹.۲. بررسی میکروبی سس مایونز

این بررسی‌ها شامل شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی، کپک و مخمر، تشخیص *سالمونلا*، باکتری‌های اسیدلاکتیک هتروفرمانتاتیو، و تشخیص *اشریشیا کلی* در غلظت معمولی و مضاعف از نمونه‌های سس مایونز انجام شد. تأثیر مدت زمان بر روی ماندگاری سس در فواصل زمانی دو

هفته‌ای در دمای اتاق و به مدت ۴۶ روز بررسی شد. از نمونه‌های سس مایونز رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ با محلول پپتون بافری تهیه و طبق استاندارد ملی شماره ۲۹۶۵ ایران کشت میکروبی نمونه‌ها در بازه زمانی ۴۶ روز انجام گرفت.

۱۰.۲. روش آماری

کلیه داده‌ها به‌صورت میانگین حداقل ۳ تکرار (±STD.DEV.) بیان شده است و با استفاده از نرم‌افزار SPSS معنی‌دار بودن داده‌ها بررسی گردیده است.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. تعیین درجه جانشینی یا میزان کربوکسی متیله شدن نشاسته

در بررسی میزان جانشینی در واکنش اتری شدن نشاسته کربوکسی متیله شده در دو نسبت g ۷/۶ و g ۱۰ منوکلرواستیک اسید، در نسبت‌های مولی ۱/۶۴ و ۱/۲۵ نسبت مولی هیدروکسید سدیم به منوکلرواستیک اسید درجه جانشینی در سطح ۱۰ بالاتر از ۷/۶ می‌باشد. افزایش نسبت مولی منوکلرواستیک اسید به انهیدرو گلوکز با نسبت ۰/۵ تا ۱/۵ سبب افزایش جانشینی می‌شود؛ اما افزایش بیش از این نسبت، سبب کاهش درجه جانشینی می‌گردد. با افزایش این نسبت از ۰/۵ تا ۲/۵ جایگاه‌های واکنش‌پذیر نشاسته پرشده و درنتیجه درجه جانشینی کاهش می‌یابد. در مقادیر پایین‌تر منوکلرواستیک اسید، احتمال اتصال اسید و نشاسته بیشتر بوده و درجه جانشینی افزایش می‌یابد [۲۸]. درجه جانشینی در شرایط ثابت با افزایش مقدار منوکلرواستیک اسید افزایش یافته است (جدول ۲).

جدول (۲) نتایج درجه جانشینی گروه کربوکسی متیل در ساختار نشاسته

Table (2). Degree of substitution of carboxymethyl groups in starch structure

منوکلرواستیک اسید (گرم) [a]MCA (g)	درجه جانشینی [b]DS
7.6	0.45± 0.02[a]
10	0.81± 0.015[b]

[a]Monochloroacetic acid, [b]Degree of substitution

*اعداد میانگین سه تکرار± خطای استاندارد هستند؛ میانگین های با حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی دار می باشند ($p\leq0.05$).

* Numbers are mean of three replicates ± standard error; Averages with different letters in each row have statistically significant differences ($p\leq0.05$).

در بررسی سطوح برابر g ۷/۶ منوکلرواستیک اسید همراه با ۲۰٪ نانو کیتوزان، ویسکوزیته کمپلکس در سطح ۰/۲ TSTMP[1] بیشتر از g ۰/۳ بوده و بررسی‌های آماری تحلیل واریانس در سطح اطمینان ۹۵٪ بیانگر وجود تفاوت آماری معنی‌دار بین میانگین نتایج آزمون در تیمارهای ۷/۶ و g ۱۰ منوکلرواستیک می‌باشد ($p<0.0001$) . در بررسی سطوح برابر ۲۰٪ نانو کیتوزان و سطوح برابر g ۰/۳ TSTMP، ویسکوزیته در سطح g ۱۰ منوکلرواستیک اسید بیشتر از سطح g ۷/۶ بوده است.

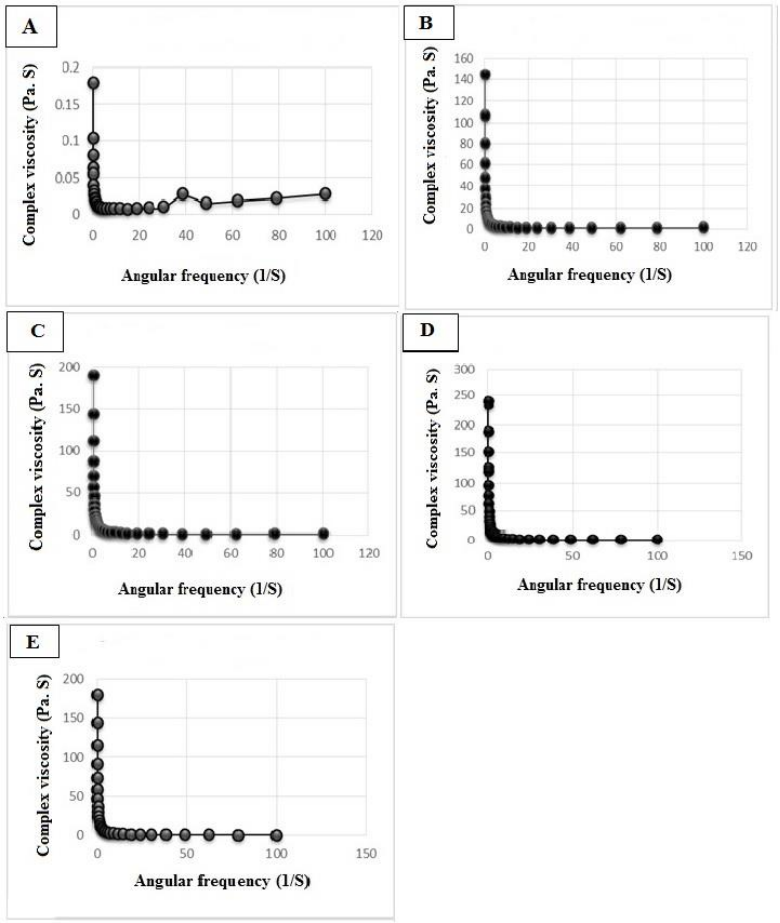
۱.۳. بررسی رئولوژیکی نشاسته اصلاح شده

نتایج حاصل از آزمون نوسانی (نمودارهای ۱، A-E) نشان می‌دهد که، مدول‌های الاستیک و ویسکوز در تمامی نمونه‌ها وابسته به فرکانس بوده و در سراسر محدوده تحت بررسی، تغییرات مدول‌ها متفاوت بوده‌اند. محل برخورد مدول الاستیک و مدول ویسکوز نشان دهنده شروع حدود Shear - thiningاست که در آنجا دیگر آرایش مولکولی وجود نداشته و ویسکوزیته کاهش می‌یابد. جایی که دو مدول الاستیک و ویسکوز برخوردی ندارند، الاستیسیته زیاد بوده و تأثیر آرایش مولکولی بیشتر است. در محدوده فرکانس مورد مطالعه برخورد میان دو مدول در نشاسته سیب‌زمینی دیده شد (شکل A). نشاسته اصلاح شده B ، با بررسی نمودار مدول الاستیک و مدول ویسکوز در محدوده فرکانسی Hz ۰/۱-۱۰۰ رفتار ژل ویسکوز را داشت. مدول ویسکوز با افزایش فرکانس افزایش و مدول الاستیک با شیب کمتری افزایش داشته است (شکل B). نشاسته اصلاح شده C در ابتدا مدول ویسکوز با افزایش فرکانس تغییر محسوسی

1. Trisodium trimetaphosphate (TSTMP)

نداشته است؛ اما، در ادامه با شیب بیشتری نسبت به مدول الاستیک افزایش یافته است (شکل C).

نشاسته اصلاح شده D، در محدوده بررسی فرکانس، مدول ویسکوز از ابتدا با افزایش فرکانس افزایش داشته در حالی که، مدول الاستیک در ابتدا کاهش و سپس با شیب ملایم افزایش یافته است (شکل D).

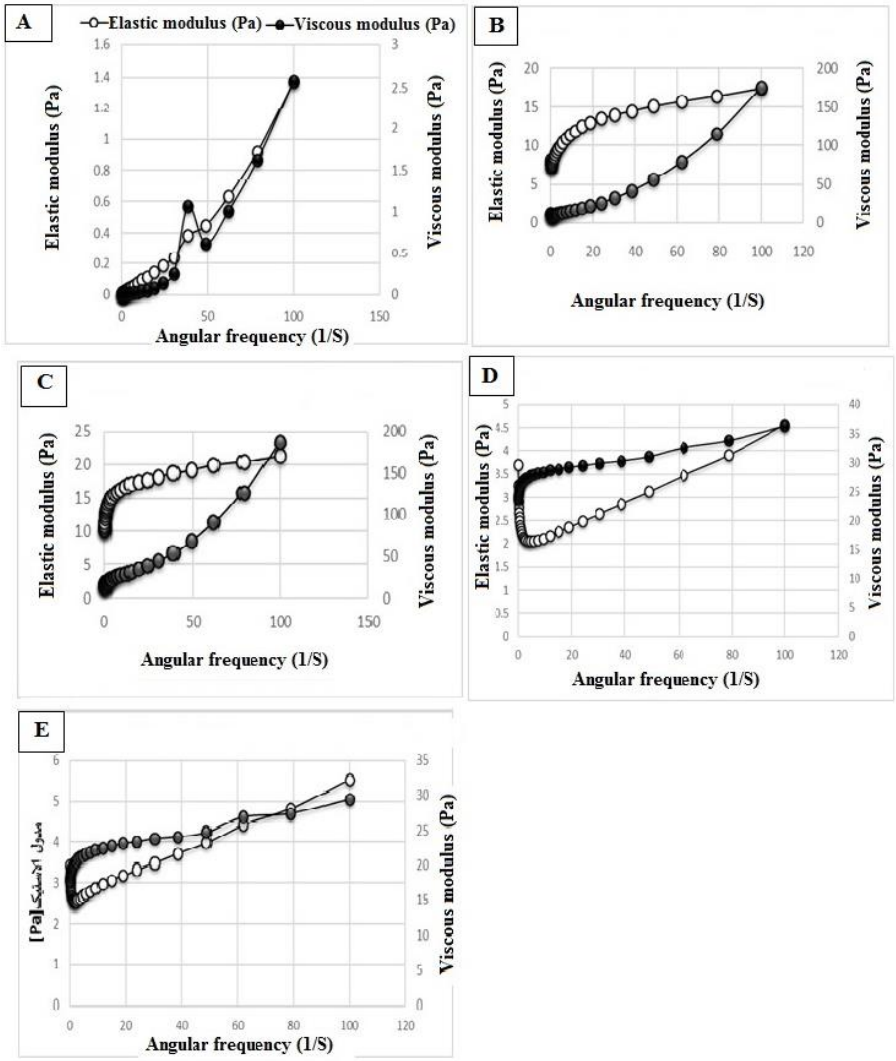


شکل (۱) نمودارهای بررسی رفتار ویسکوالاستیک (تغییرات ویسکوزیته کمپلکس) در نشاسته سیب‌زمینی اصلاح نشده در مقایسه با نشاسته‌های اصلاح شده نسبت به تغییرات فرکانس. الف، نشاسته سیب‌زمینی اصلاح نشده، ب، نشاسته کربوکسی متیله شده در سطح۷/۶، اتصال جانبی شده در سطح۰/۳، دارای نانو کیتوزان در سطح ۲۰ ، ج، کربوکسی متیله شده در سطح ۱۰، اتصال جانبی شده در سطح۰/۲، دارای نانو کیتوزان در سطح ۱۰ ، د، کربوکسی متیله شده در سطح ۷/۶، اتصال جانبی شده در سطح۰/۲، دارای نانو کیتوزان در سطح ۲۰، ی، کربوکسی متیله شده در سطح ۱۰، اتصال جانبی شده در سطح۰/۳، دارای نانو کیتوزان در سطح۲۰ .

Fig 1. Diagrams of viscoelastic behavior (complex viscosity variations) in potato starch without modification versus modified starches to frequency changes. A, native starch, B, carboxymethylated starch at level 7.6, cross-linked at level 0.3, containing nano-chitosan at level 20, C, carboxymethylated starch sample at level 10, cross-linked at level 0.2, containing nano-chitosan at level 10, D, carboxymethylated starch sample at level 7.6, cross-linked at level 0.2, containing nano-chitosan at level 20, E, carboxymethylated starch sample at level 10, cross-linked at level 0.3, containing nano-chitosan at level 20.

نشاسته اصلاح‌شده E در سراسر محدوده بررسی فرکانس، به‌تدریج با افزایش فرکانس مدول ویسکوز با شیب ملایم افزایش‌یافته و مدول الاستیک ابتدا کاهش و بعد افزایش داشته است (شکل E). در کلیه نمونه‌های نشاسته اصلاح‌شده مدول ویسکوز بیشتر از مدول الاستیک بوده و هر دو مدول الاستیک و ویسکوز، وابسته به فرکانس می‌باشند و با افزایش فرکانس زاویه‌ای، مدول ویسکوز بیشتر تحت تأثیر قرار گرفته است. درنتیجه می‌توان این‌چنین اظهار نظر نمود که همه نمونه‌ها دارای قابلیت تشکیل ژل هستند. در ژل‌های ضعیف ، در محدوده فرکانس اعمال‌شده مقدار مدول الاستیک بیشتر از ویسکوز است. تفاوت ژل‌های ضعیف و قوی در این است که مدول‌ها در ژل قوی وابسته به فرکانس

نیستند. بر طبق نمودارهای شکل ۲-D و ۲-E وابستگی مدول‌ها به تغییرات فرکانس در مقایسه با سایر نمونه‌ها کم‌تر می‌باشد. در تحقیقاتی که توسط تیان و همکاران [Tian et al, 2015] انجام‌شده نتایج نشان داده است که، با افزایش سطح عامل اتصال‌دهنده جانبی از ۰/۲ g به ۰/۳ میزان مدول ویسکوز و الاستیک کاهش می‌یابد [۲۹].

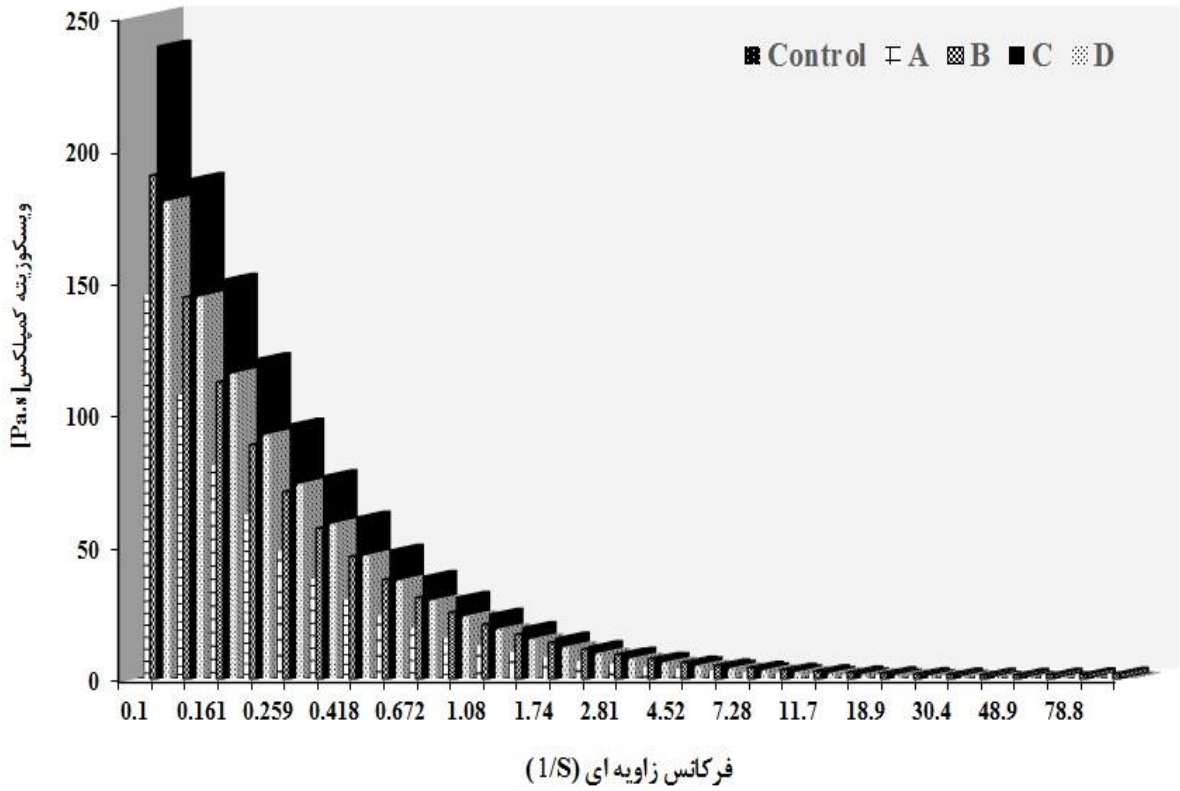


شکل (۲) نمودارهای بررسی رفتار ویسکوالاستیک (تغییرات مدول الاستیک و مدول ویسکوز) در نشاسته سیب‌زمینی اصلاح نشده در مقایسه با نشاسته‌های اصلاح‌شده نسبت به تغییرات فرکانس. الف، نشاسته سیب‌زمینی اصلاح‌نشده، ب، نشاسته کربوکسی متیله شده در سطح۷/۶، اتصال جانبی شده در سطح۰/۳، دارای نانو کیتوزان در سطح ۲۰ ، ج، کربوکسی متیله شده در سطح ۱۰، اتصال جانبی شده در سطح۰/۲، دارای نانو کیتوزان در سطح ۱۰ ، د، کربوکسی متیله شده در سطح ۷/۶، اتصال جانبی شده در سطح۰/۲، دارای نانو کیتوزان در سطح ۲۰، ی، کربوکسی متیله شده در سطح ۱۰، اتصال جانبی شده در سطح۰/۳، دارای نانو کیتوزان در سطح۲۰ .

Fig 2. Diagrams of viscoelastic behavior (changes in elastic modulus and viscose modulus) in potato starch without modification versus modified starches to frequency changes. A, native starch, B, carboxymethylated starch at level 7.6, cross-linked at level 0.3, containing nano-chitosan at level 20, C, carboxymethylated starch sample at level 10, cross-linked at level 0.2, containing nano-chitosan at level 10, D, carboxymethylated starch sample at level 7.6, cross-linked at level 0.2, containing nano-chitosan at level 20, E, carboxymethylated starch sample at level 10, cross-linked at level 0.3, containing nano-chitosan at level 20.

بررسی ویسکوزیته کمپلکس در محدوده فرکانس ۰/۱ Hz- ۱۰۰ ، بالاترین ویسکوزیته کمپلکس مربوط به نمونه نشاسته اصلاح‌شده C بود (شکل۳). ویسکوزیته کمپلکس معیاری از سفتی کلی ماده مورد نظر است. بر این اساس، به ترتیب در نمونه‌های C,B, D, A ویسکوزیته کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده‌ی رفتار غیر نیوتنی و روان شوندگی با برش ژل‌ها

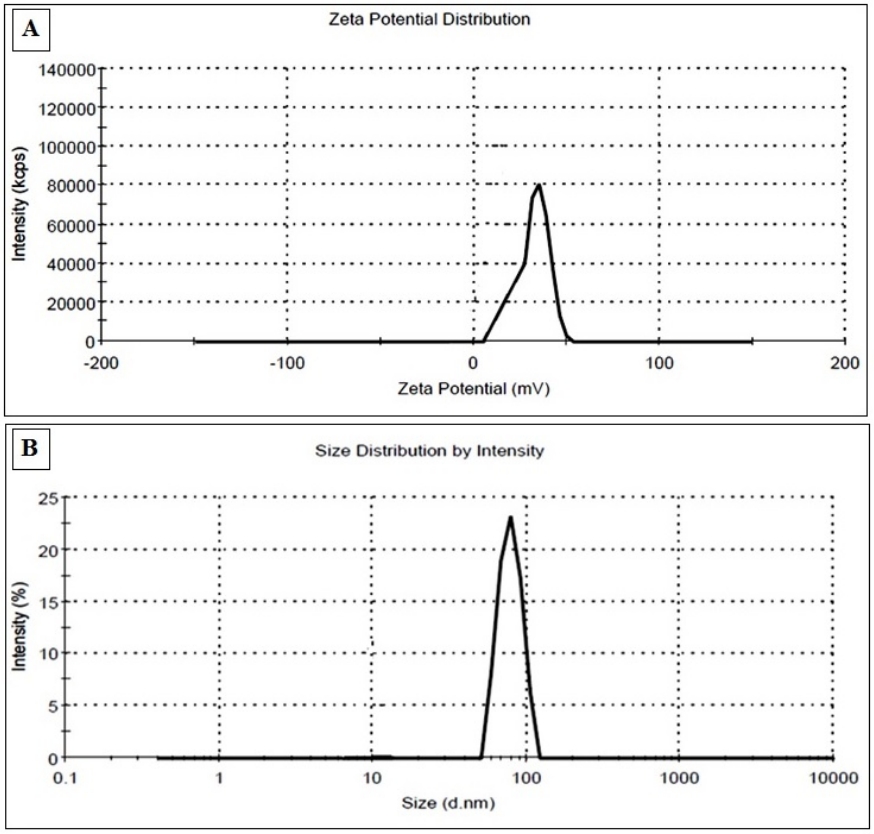
است. مقدار شیب نمودار ویسکوزیته کمپلکس در مقابل فرکانس زاویه‌ای یکی از روش‌های مهم تعیین قدرت ژل است. مقدار بالای شیب نشانه رفتار الاستیک است. ویسکوزیته کمپلکس بالاتر در نمونه C به دلیل تشکیل شبکه و ساختار قوی‌تر در حضور میزان بالاتر نانو کیتوزان می‌باشد. نتایج این بررسی نشان داد که، تهیه نشاسته اصلاح‌شده در محدوده فرکانس Hz ۱۰۰-۰/۱ و در سطح اتری شده برابر با ۷/۶ ، توأم با ایجاد اتصالات جانبی فسفوریله به میزان ۰/۲ و همراه با نسبت نانوذره کیتوزان به نشاسته کربوکسی‌متیله شده به میزان ۲۰٪، دارای بالاترین ویسکوزیته بوده که بدین ترتیب می‌توان در تهیه فرآورده‌های غذایی از آن استفاده نمود.



شکل (۳) مقایسه ویسکوزیته کمپلکس محلول های ژل نشاسته اصلاح شده (w/w) % ۳ در بافر فسفات-اسید سیتریک.
Fig 3. Comparison of complex viscosity of modified starch gel solutions of 3% (w/w) in phosphate-citric acid buffer

۲.۳. نتایج بررسی نانوذره کیتوزان

به منظور تعیین توزیع اندازه ذرات موجود در محلول‌ها و سوسپانسیون‌ها از روش پراکندگی نور دینامیکی (DLS) استفاده می‌شود. این روش غیر مخرب و سریع برای تعیین اندازه ذرات در محدوده‌ی چند نانومتر تا میکرون به کار می‌رود. این روش به برهمکنش نور با ذره بستگی داشته و نور پراکنده شده به‌وسیله نانو ذرات موجود در سوسپانسیون با زمان تغییر می‌کند که می‌تواند به قطر ذره ارتباط داده شود. نشان داده شده است که ذرات با اندازه‌های مختلف، نور را به صورت‌های مختلفی پراکنده می‌کنند. به‌گونه‌ای که ذرات بزرگ‌تر، نور را در زوایای کوچک‌تری پراکنده می‌کنند، درحالی‌که ذرات کوچک‌تر، در محدوده زوایای وسیع‌تری نور را پراکنده می‌سازند [۳۰]. در این تحقیق، طبق نمودار ۴-A پتانسیل زتای نانو ذرات کیتوزان مثبت و برابر با ۳۶/۶ تعیین شد. با افزایش پتانسیل زتا بار سطحی ذرات بیشتر شده و درنتیجه دافعه‌های الکترواستاتیک بین ذرات بیشتر و امکان تجمع و چسبندگی ذرات کم‌تر می‌شود. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، میانگین اندازه ذرات نانوکیتوزان ۷۹ nm تعیین گردید (شکل ۴-B).



شکل (۴) نمودارهای پتانسیل زتا و توزیع اندازه ذرات نانوکیتوزان. الف. پتانسیل زتا، ب، توزیع اندازه ذرات نانوکیتوزان

Fig 4. Nanochitosan zeta potential and particle size distribution diagram. A, zeta potential, B, particle size distribution.

۳.۳. pH نمونه‌های مایونز

نتایج اثر به‌کارگیری غلظت‌های مختلف نشاسته اصلاح شده با میزان ۳۰، ۴۰، و ۵۰٪ چربی کاهش یافته در سس مایونز بر pH سس در مقایسه با نمونه شاهد پس از گذشت ۹۰ روز نگهداری در جدول (۳) آورده شده است. بررسی‌های آماری تحلیل واریانس توسط نرم‌افزار SPSS در سطح اطمینان ۹۵٪ بیانگر وجود تفاوت آماری معنی‌دار بین میانگین نتایج آزمون pH در تیمارهای تولیدی می‌باشد ($p<0.05$) . به عبارت دیگر، نتایج بررسی تغییرات pH در طول نگهداری در نمونه‌های سس مایونز با چربی کاهش‌یافته در مقایسه با شاهد نمایانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین نمونه شاهد و کلیه تیمارهای تولید شده بوده است. بر این اساس می‌توان چنین استنباط نمود که، سس‌های مایونز با ۳۰، ۴۰، و ۵۰٪ چربی کاهش یافته همراه با نانو ذرات کیتوزان، قابلیت بیشتری را جهت ایجاد ثبات و جلوگیری از تغییرات pH در سس را در طول مدت ۹۰ روز نگهداری داشته‌اند که می‌توان آن را به محدود نمودن رشد و تکثیر میکروبی نسبت داد (جدول ۳).

جدول (۳) تغییرات pH در نمونه‌های سس مایونز نسبت به نمونه شاهد در طول ۹۰ روز نگهداری

Table 3. pH changes in mayonnaise samples compared to the control during 90 days storage

۹۰ روز پس از تولید 90 days after production	۱ روز پس از تولید 1 day after production	نمونه Sample
3.58±0.034[a]	3.07±0.020[a]	Control
3.78±0.027[b]	3.74±0.015[b]	F1
4.30±0.056[b]	4.26±0.032[b]	F2
4.40±0.035[b]	4.34±0.028[b]	F3

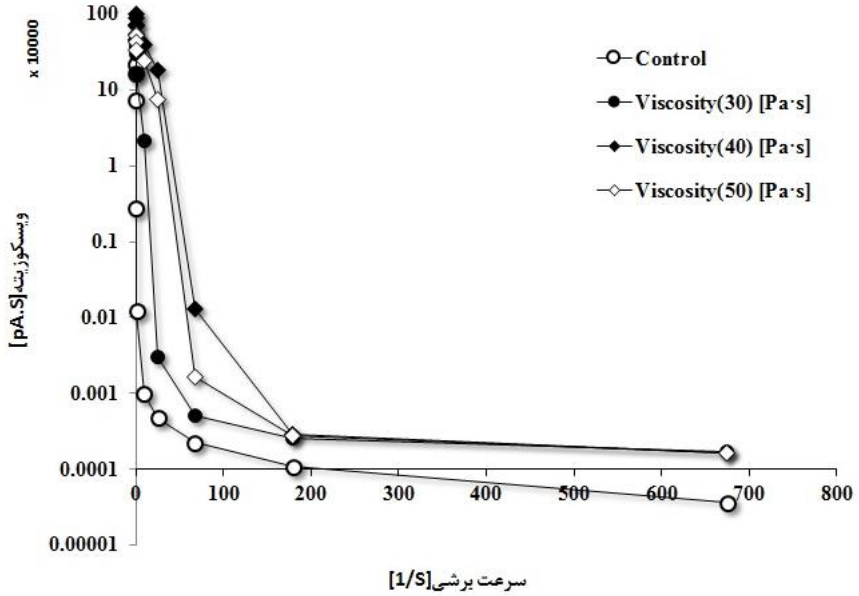
*اعداد میانگین سه تکرار± خطای استاندارد هستند؛ میانگین های با حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی دار هستند ($p\leq0.05$).

* Numbers are mean of three replicates ± standard error; Averages with different letters in each row have statistically significant differences ($p\leq0.05$).

۴.۳. نتایج مربوط به رفتار جریان نمونه‌های سس مایونز

۱.۴.۳. نتایج رفتار جریان یک روز پس از تولید

بررسی رفتار جریان سس مایونز در نمودار (۵) آورده شده است. با مشاهده رابطه غیرخطی تنش برشی و سرعت برشی، رفتار غیر نیوتنی سیال مشخص می‌شود. در اثر افزایش سرعت برشی، تغییرات ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های شاهد و F2 نسبت به نمونه F3 و F1 بیشتر دیده می‌شود. میزان تغییرات ویسکوزیته ظاهری نیز در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های دارای نشاسته اصلاح‌شده کم‌تر می‌باشد. کاهش ویسکوزیته ظاهری در نقاط ابتدایی به دلیل از بین رفتن باندهای بین‌مولکولی بوده که با شدت بیشتری دیده می‌شود، سپس روند کاهشی به‌آرامی صورت می‌گیرد. کاهش تغییرات ویسکوزیته هم‌زمان با افزایش سرعت برشی را می‌توان به کاهش اندازه توده‌های کلوئیدی موجود در نمونه‌ها نسبت داد. کاهش تغییرات ویسکوزیته در اثر افزایش سرعت برشی را در فرمول F3 که دارای بالاترین مقدار نشاسته اصلاح شده است، تائید کننده این موضوع می‌باشد. در نمونه‌های حاوی سطوح مختلف نشاسته اصلاح‌شده همانند نمونه شاهد رفتار جریانی کمتر از ۱ است. خاصیت شبه پلاستیکی نمونه‌ها در مقایسه با نمونه شاهد تغییر نکرده است (شکل۵).

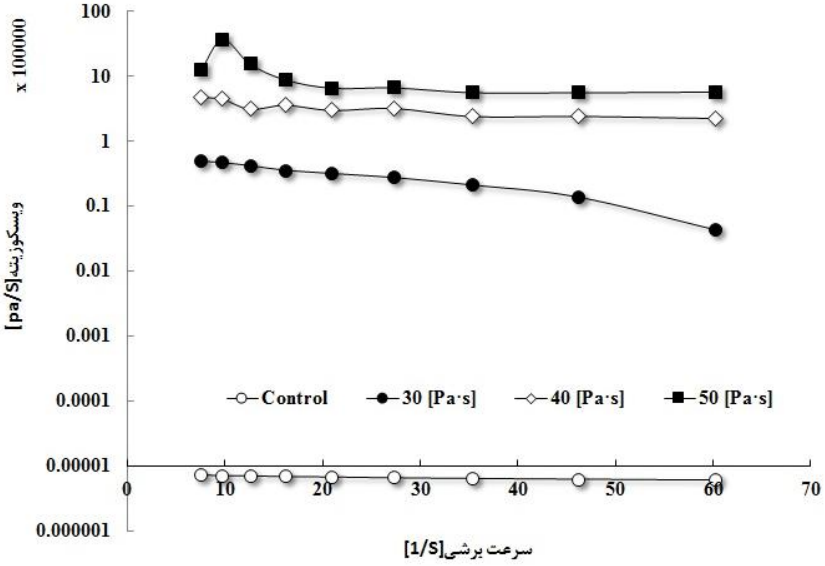


شکل (۵) نمودار تغییرات رفتار جریان نمونه‌های سس مایونز در مقایسه با شاهد پس از گذشت یک روز

Fig 5. Diagram of changes in flow behavior of mayonnaise samples compared to control after one day

۲.۴.۳. نتایج رفتار جریان نمونه‌های مایونز بعد از ۴۰ روز

در اثر افزایش سرعت برشی، تغییرات بیشتری در ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های F2,F3 نسبت به نمونه F1 و نمونه شاهد دیده شد. میزان تغییرات اولیه ویسکوزیته ظاهری نیز در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های دارای نشاسته اصلاح‌شده کم‌تر می‌باشد. کاهش ویسکوزیته با افزایش سرعت برشی برای فرمول F3 که دارای بالاترین مقدار نشاسته اصلاح شده است، تأیید شد. در نمونه‌های حاوی سطوح مختلف نشاسته اصلاح شده همانند نمونه شاهد رفتار جریان کمتر از ۱ است. در بررسی رابطه ویسکوزیته و سرعت برشی در نمونه‌های مایونز بعد از ۴۰ روز، تغییرات ویسکوزیته با گذشت زمان به ترتیب به‌صورت SH>F1>F2>F3 مشخص گردید. کم‌ترین میزان کاهش ویسکوزیته مربوط به نمونه با بالاترین مقدار نشاسته اصلاح شده F3 است. ویسکوزیته ظاهری برای سیالات غیر نیوتنی همانند سیالات نیوتنی تابعی از تغییرات تنش برشی نسبت به‌سرعت برش است، با این تفاوت که ویسکوزیته سیالات غیر نیوتنی تابعی از سرعت برش بوده و برخلاف ویسکوزیته سیالات نیوتنی، تحت شرایط مختلف سرعت برش ثابت نبوده و متغیر است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش سطح نشاسته اصلاح‌شده در سرعت برشی ثابت میزان نیروی برشی نسبت به نمونه شاهد افزایش‌یافته است (شکل ۶).

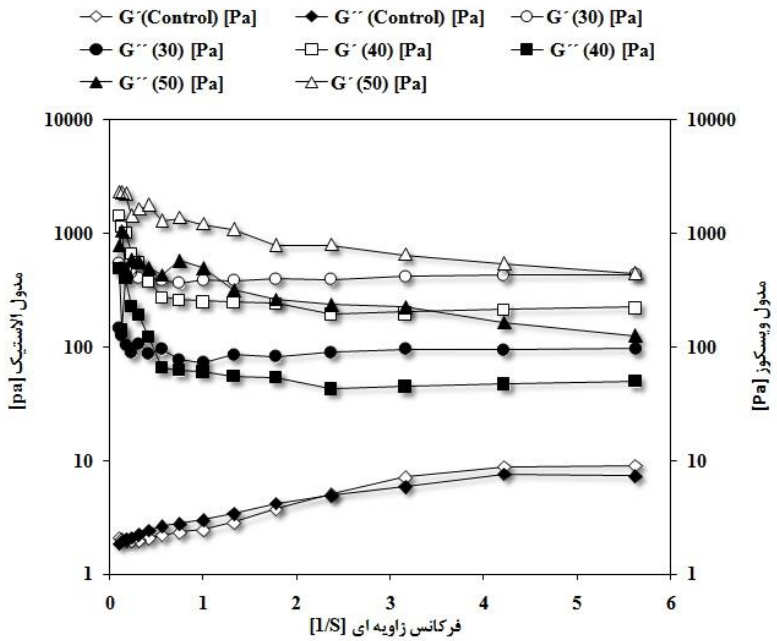


شکل (۶) نمودار تغییرات رفتار جریان نمونه‌های سس مایونز در مقایسه با شاهد پس از گذشت ۴۰ روز

Fig 6. Diagram of changes in flow behavior of mayonnaise samples compared to control after 40 days

۵.۳. رفتار ویسکوالاستیک نمونه‌های مایونز بعد از ۴۰ روز

در بررسی رفتار ویسکوالاستیک اگر ضریب ویسکوز (Ǵ) بزرگ‌تر از ضریب الاستیک (G") باشد ماده رفتار مشابه جامد دارد. Ǵ نشان‌دهنده انرژی قابل بازیابی در زمانی که ماده تغییر شکل می‌دهد است. اگر G" بیشتر از Ǵ باشد، ماده رفتار مایع دارد. بر اساس تحقیقات من سینی و همکاران (۲۰۰۲) در سس مایونز پرچرب و کم‌چرب Ǵ بیشتر از G" است و بنابراین رفتار مشابه جامد دارد. مقدار روغن رفتار ویسکوالاستیسیته سس مایونز را تحت تأثیر قرار می‌دهد و همان‌طور که انتظار می‌رود، امولسیون با مقدار بالاتر چربی دارای Ǵ بالا است. در این تحقیق طبق نمودارهای زیر با افزایش درصد نشاسته اصلاح‌شده و کاهش مقدار روغن در سس مایونز مقدار Ǵ و G" افزایش یافته است. بالاترین مقدار Ǵ در طی دوره نگهداری ۴۰ روزه مربوط به نمونه F3 است (شکل ۷)، [۳۱].

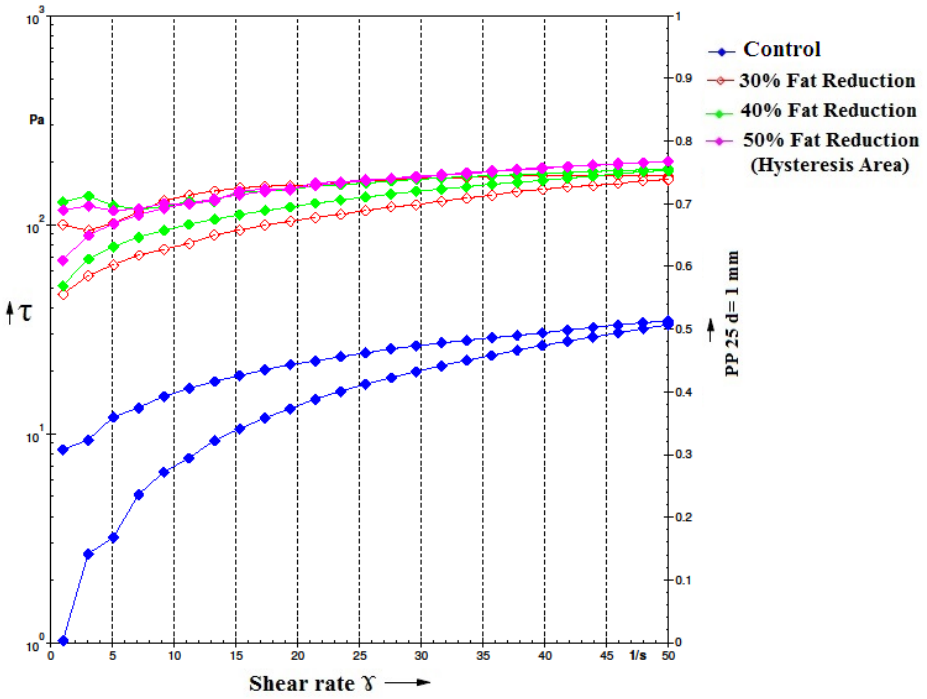


شکل (۷) تغییرات رفتار ویسکوالاستیک نمونه‌های سس مایونز در مقایسه با شاهد بعد از ۴۰ روز

Fig 7. Changes in the viscoelastic behavior of mayonnaise samples compared to control after 40 days

۶.۳. رفتار تیکسوتروپیک نمونه‌های مایونز

ساختار مواد تیکسوتروپیک در طی برش تخریب‌شده و دوباره بازسازی می‌شود. در تولید فرآورده‌های غذایی این رفتار بسیار مهم است. سس مایونز پس از پخش شدن در ساندویچ و مخلوط شدن در سالاد ساختارشان تخریب می‌گردد. بازسازی مجدد به‌منظور ایجاد احساس دهانی مناسب، جلوگیری از طعم و مزه ضعیف و تراوش در نان یا سالاد ضروری است. با توجه به نمودار (۸) بیشترین مساحت بین منحنی‌ها مربوط به نمونه شاهد بوده و کم‌ترین مساحت مربوط به نمونه F3 است. دولز و همکاران (۲۰۰۶) اثرات نشاسته اصلاح‌شده با صمغ زانتان و لوکاست بین را در رفتار تیکسوتروپیک و جریان سس مایونز کم‌چرب بررسی کردند. طبق نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق جانشینی نشاسته به همراه صمغ‌ها منجر به افزایش ویژگی تیکسوتروپیک امولسیون‌ها می‌شود. طبق نمودار (۸) نتیجه در این تحقیق مشابه نتایج گزارش‌شده در تحقیقات دولز و همکاران می‌باشد [۳۲].

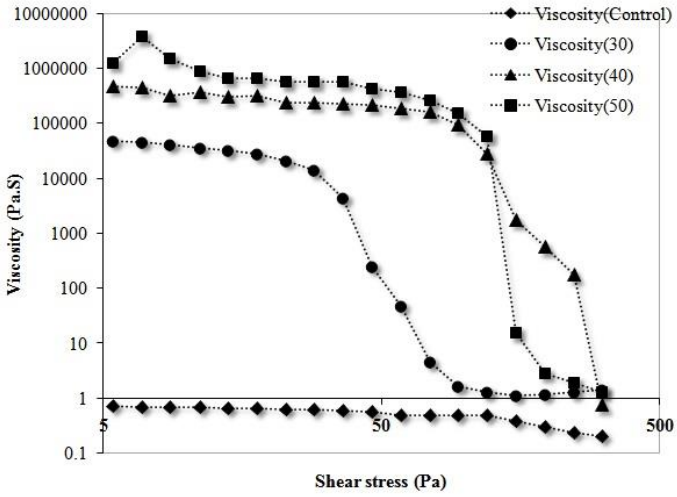


شکل (۸) تغییرات رفتار تیکسوتروپیک نمونه‌های سس مایونز در مقایسه با شاهد

Fig 8. Changes in the Thixotropic behavior of mayonnaise samples compared to control

۷.۳. بررسی تغییرات تنش در نمونه‌های سس مایونز

رفتار سس مایونز در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرارگرفته است. بر طبق مطالعات پرینسینی و همکاران ۱۹۹۸ و باتیستا و همکاران ۲۰۰۶ ، سس مایونز دارای تنش، رفتار شبه پلاستیک و وابسته به زمان است. مقدار تنش (Yield stress) پارامتری مهم در اتصال و یکپارچگی مواد می‌باشد. در مقیاس صنعتی، میزان تنش سس تهیه شده تعیین‌کننده نیروی مورد نیاز برای پمپاژ سس از طریق مخازن و لوله‌ها جهت انتقال به ماشین‌آلات و تجهیزات بسته‌بندی می‌باشد. بر اساس نمودارهای شکل ۹ بالاترین تنش مربوط به نمونه سس مایونز F3 و پایین‌ترین تنش مربوط به نمونه شاهد است. مقایسه سطح شیب‌دار نمودار ویسکوزیته بین نمونه‌های F1, F2, F3 نمایانگر پایین‌تر بودن میزان Yield stress در نمونه F1 در مقایسه با نمونه‌های F2, F3 می‌باشد. بدین معنی که، نمونه F1 در مقایسه با سایر نمونه‌ها به مقدار نیروی کمتری جهت جاری شدن نیازمند است [۳۳-۳۴].



شکل (۹) تغییرات تنش در نمونه‌های سس مایونز در مقایسه با شاهد

Fig 9. Yield stress alteration in mayonnaise samples compared to control

۸.۳. رفتار جریان سس مایونز

نتایج بررسی‌های انجام شده بر اساس مدل هرشل- بالکی روی ویژگی‌های رفتاری سس مایونز کم‌چرب در مقایسه با سس مایونز شاهد نشان داد که، ضریب همبستگی در محدوده ۰/۹۴۹-۰/۹۸۸ می‌باشد. پارامترهای به‌دست‌آمده برای نمونه‌های سس مایونز ازجمله k (ضریب پایداری)، n (شاخص جریان)، r^2 (ضریب رگرسیون) و τ_y (تنش) در جدول (۴) آورده شده است [۲۶-۲۵].

جدول (۴) نتایج رفتار جریان نمونه‌های سس مایونز در مقایسه با نمونه شاهد.

Table 4. Results of flow behavior of mayonnaise samples compared to control

T^y	r^2	$K[Pas^{-1}]$	n	Samples
0.63±0.041	0.988±0.067	0.88±0.022	0.84±0.031	**Control**
1.30±0.022	0.973±0.049	68.72±0.14	0.18±0.024	**F1**
4.27±0.024	0.979±0.055	296.82±2.54	0.087±0.012	**F2**
5.41±0.053	0.949±0.028	202.71±2.37	0.095±0.008	**F3**

*اعداد میانگین سه تکرار± خطای استاندارد هستند.

*Numbers are mean of three replicates ± standard error

مقدار ضریب پایداری در مایونزهای کم‌چرب و پرچرب تجاری معمولاً بین $Pa\ s^{-1}$ ۲۰/۶- ۶۴/۸۲ می‌باشد. مقدار شاخص جریان نیز برای مایونزهای تجاری ۰/۳-۰/۴۵ است. بر طبق داده‌های به‌دست‌آمده مقدار شاخص جریان در هر ۴ نمونه زیر ۱ بوده و این مقادیر رفتار شبه پلاستیک سس مایونز را اثبات نموده که مشابه با نتایج به‌دست‌آمده توسط سایر محققان مانند، ما و همکاران ۱۹۹۵، منسینی و همکاران ۲۰۰۲، لیو و همکاران ۲۰۰۷ می‌باشد. ضریب پایداری نیز در نمونه‌ها با کاهش میزان روغن و افزایش میزان نشاسته اصلاح‌شده، افزایش‌یافته است. بیشترین مقدار شاخص جریان مربوط به نمونه شاهد است که می‌توان آن را به دارا بودن کم‌ترین رفتار شبه پلاستیکی شاهد نسبت داد. بر طبق نتایج به‌دست‌آمده از نمونه‌ها در این تحقیق، با افزایش مقدار نشاسته اصلاح‌شده همراه با افزایش ضریب پایداری، مقدار تنش نیز افزایش یافته است. مقدار ضریب پایداری با گذشت زمان‌بر طبق تحقیقات گذشته کاهش می‌یابد. در این تحقیق با افزایش مقدار نشاسته اصلاح‌شده، شاخص جریان کاهش و ضریب پایداری افزایش پیداکرده که این پدیده به‌دلیل استحکام و ثبات ساختار نشاسته اصلاح‌شده افزوده‌شده به فرمول سس و درنتیجه جلوگیری از آزاد شدن آب و ممانعت از شکستن امولسیون سس می‌باشد [۳۶-۳۵].

۹.۳. بررسی پایداری امولسیون سس

عوامل مؤثر بر ثبات و پایداری امولسیون روغن در آب سس مایونز، مقدار روغن، زرده تخم‌مرغ، حجم نسبی فاز روغن به

فاز آبی، روش اختلاط و درجه حرارت است. طبق تحقیقات اشترن و همکاران (۲۰۰۱) عوامل مؤثر در پایداری امولسیون سس مایونز، ویسکوزیته، توزیع اندازه گلبول‌های چربی، غلظت و نوع امولسیفایرها هستند. مکانیزم ناپایداری سیستم امولسیون‌های ناپایدار دارای چربی، لخته سازی، انعقاد و وارونگی فاز است. بر اساس مطالعات جدهاو و همکاران (۲۰۲۲) زمانی که محتوای چربی کاهش می‌یابد، افزودن یک عامل تغلیظ کننده به فاز آبی موجب ثبات پایداری امولسیون می‌گردد. صمغ‌ها و نشاسته به‌عنوان جایگزین‌های چربی نقش تغلیظ کننده و افزایش ویسکوزیته در فاز آبی فرآورده‌های غذایی را داشته و با قرار گرفتن در فضاهای اطراف گلبول‌های روغن دافعه‌های الکترواستاتیک بین این قطرات را افزایش داده و موجب ثبات و پایداری امولسیون می‌شوند. نتایج بررسی ثبات امولسیون‌های سس مایونز ۴۸ ساعت پس از تولید در جدول ۵ نشان داده شده است [۳۷].

جدول (۵) نتایج بررسی ثبات امولسیون‌های سس مایونز در مقایسه با شاهد ۴۸ ساعت پس از تولید

Table 5. Results of emulsion stability survey for mayonnaise samples compared to control after 48 hours

نمونه Sample	وزن امولسیون بعد از ۴۸ ساعت (F_1) Emulsion weight after 48 h	پایداری امولسیون (λ) Emulsion stability
Control	3.60±0.022	72±0.42
30% reduced fat	3.53±0.018	70.60±0.13
40% reduced fat	3.50±0.031	70±0.25
50% reduced fat	3.30±0.016	66±0.19

*اعداد میانگین سه تکرار± خطای استاندارد هستند.

*Numbers are mean of three replicates ± standard error

بر اساس نتایج حاصله بالاترین میزان پایداری امولسیون پس از ۴۸ h ساعت مربوط به نمونه‌های F_1,F_2 و نمونه شاهد می‌باشد. اما پس از گذشت ۴۶ روز امولسیون نمونه شاهد شکسته شده و درنهایت، ناپایداری امولسیون نمونه‌های با چربی کاهش‌یافته نسبت به نمونه شاهد باگذشت زمان کم‌تر بوده است (شکل ۱۰).

شکل (۱۰) نتایج بررسی ثبات امولسیون نمونه‌های سس مایونز در مقایسه با شاهد پس از گذشت ۴۶ روز

Fig 10. Emulsion stability results for Mayonnaise samples compared to control after 46 days

۱۰.۳. بررسی میکروبی نمونه‌های سس مایونز

در بین نمونه‌های سس مایونز، نمونه‌های شاهد و نمونه F1 مورد بررسی پایداری میکروبی قرار گرفت. نمونه‌ها در زمان نگهداری۱، ۱۴، ۲۸، ۴۶ روز نگهداری در دمای اتاق (°C ۲۵) کشت داده شدند. از هر نمونه سه رقت ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ در محلول پپتون بافری تهیه شد. هر رقت در دو تکرار مورد بررسی قرار گرفت. شمارش میکروبی میانگین سه تکرار بود. ازنظر کشت‌های میکروبی *اشریشیا کلی*، *سالمونلا*، *باکتری‌های اسیدلاکتیک هتروفرمانتیو* نمونه‌ها منفی بود. نتایج نشان داد که، میزان افزایش شمارش کلی میکروبی نمونه شاهد نسبت به نمونه F1 ، با گذشت زمان حداقل ۴ برابر بیشتر بوده و نمونه شاهد نسبت به نمونه سس مایونز حاوی نشاسته اصلاح‌شده و نانو کیتوزان باگذشت زمان افزایش بیشتری را در شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی داشته است. شمارش کپک و مخمر در نمونه شاهد نسبت به نمونه حاوی نشاسته اصلاح‌شده و نانو کیتوزان نیز بیشتر بود. به‌طور کلی، نتایج آزمون‌های میکروبی حاکی از آن بود که با وجود افزایش میزان آب در نمونه با چربی

کاهش‌یافته، پایداری میکروبی آن نمونه بیشتر بوده است که می‌توان این کاهش را بر اساس مطالعات انجام شده قبلی به اثر ضد میکروبی کیتوزان نسبت داد (جدول ۶).

جدول (۶) نتایج بررسی میکروبی سس مایونز در بازه‌های زمانی ۱ ، ۱۴، ۲۸، ۴۶ روز برای شاهد در مقایسه با نمونه F1

Table 6. Microbial results assay of mayonnaise at intervals of 1, 14, 28, 46 days for control compared to F1 sample

باکتری های اسیدلاکتیک هتروفرمانتاتیو Heterofermentative lactic acid bacteria	سالمونلا Salmonella	اشرشیا کلی E.coli	کپک و مخمر Yeast and mold	شمارش کلی Total count (CFU/g)	نمونه Sample
			شاهد Control		
0	Negative	Negative	0	48.3×10^2	t_0
0	Negative	Negative	0.06×10^2	56×10^2	t_{14}
0	Negative	Negative	0.1×10^2	143.3×10^2	t_{28}
0	Negative	Negative	5×10^2	228.3×10^2	t_{46}
			فرمول با ۳۰٪ چربی کاهش یافته F1: Formula with 30% Fat reduction		
0	Negative	Negative	0.02×10^2	16.46×10^2	t_0
0	Negative	Negative	0.04×10^2	29.5×10^2	t_{14}
0	Negative	Negative	1×10^2	48.5×10^2	t_{28}
0	Negative	Negative	3×10^2	55.9×10^2	t_{46}

۴. نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان این چنین استنباط نمود که، به‌کارگیری نشاسته سیب‌زمینی اصلاح‌شده با دو روش اتری شدن و ایجاد اتصالات جانبی فسفوریله و حاوی نانو ذرات کیتوزان موجب ایجاد ویسکوزیته کمپلکس بالا در نمونه سس مایونز مورد آزمون شده و ثبات و پایداری امولسیون مایونز را با افزایش دافعه‌های الکترواستاتیک بین قطرات روغن موجود در امولسیون روغن در آب سس، افزایش خواهد داد. بررسی رفتار جریان نمونه‌های سس مایونز پس از گذشت ۴۰ روز نشان می‌دهد که، با افزایش سرعت برشی، تغییرات بیشتری در ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های حاوی نشاسته اصلاح‌شده بیشتر دیده می‌شود. علاوه بر این، رفتار تیکسوتروپیک نمونه‌های حاوی نشاسته اصلاح‌شده منجر به افزایش ویژگی تیکسوتروپیک امولسیون‌های سس می‌گردد. در بررسی رفتار جریان نمونه‌های حاوی نشاسته اصلاح‌شده مشخص گردید که، با افزایش مقدار نشاسته ضریب پایداری و میزان تنش نیز افزایش‌یافته است. افزون بر این، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که، نانوکیتوزان موجود در نشاسته اصلاح‌شده موجب کاهش بار میکروبی سس مایونز در طول زمان نگهداری می‌گردد. درنهایت با استناد به نتایج به‌دست‌آمده نشاسته کربوکسی متیله-فسفوریله حاوی نانوکیتوزان به‌عنوان یک افزودنی کارآمد جهت تهیه سس مایونز با استحکام مناسب در بافت و قابلیت نگهداری بالا معرفی می‌گردد.

۵. تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات و همکاری‌های پرسنل محترم پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی ، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران در زمینه انجام این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

[1] Spychaj, T., Zdanowicz, M., Kujawa, J., & Schmidt, B. (2012). Carboxymethyl starch with high degree of substitution: synthesis, properties and application. In: Proceeding of the *8th Cong. Chem. Tech. 102-105*, Krakow, Poland..

[2] Heinze, T. H. (2005). Carboxymethyl ethers of cellulose and starch – A review; *Center of Excellence*

for Polysaccharide Research; Friedrich Schiller University.

[3] Zhang, B. Wei, B., Hu, X., Jin, Z., Xu, X., & Tian, Y. (2015). Preparation and characterization of carboxymethyl starch microgel with different crosslinking densities. *Carbohydr. Polym*., *124*, 245–253.

[4] Singh, J., & Kaur, O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review. 2007. *Food Hydrocoll*., *21*, 1, 1–22.

[5] Bi, Y., & Liu, M. (2008). Synthesis of carboxymethyl potato starch and comparison of optimal reaction conditions from different sources. *Polym. Adv. Technol.*, *19*,1185–1192.

[6] Kaur, L., & Singh, J. (2016). Starch: Modified Starches. In: B. Caballero & P. Finglas (Eds.). *Encyclopedia of Food and Health* (1nd ed., pp. 152-159). New Zealand: E-Publishing Inc.

[7] xing Luo, Fa., & Huang, Q. (2009). Preparation and characterisation of crosslinked waxy potato starch. *Food Chem.*, *115*, 563–568.

[8] Neelam, K. (2012). Variouse tachniques for the modification of starch and the applications of its derivatives. *Int. J. Pharm*, *3*, 25-31.

[9] Rejane, C., Douglas, G., Britto, D., Odilio, B., & Assis, G. (2009). The antimicrobial activity of chitosan: A Review. *Polym.*, *19*, 241-247.

[10] Andres, Y., Giraud, L., Gerente, C., & Cloirec, L. (2007). Antibacterial Effects of Chitosan Powder: Mechanisms of Action. *Environ. Technol.*, *28*, 1357-1363.

[11] Tsai, G., Su, J., Chen, W.H., & Pan, C. L. (2002). Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Sci.*, *68*,170-177.

[12] Ghaouth, L., Arul, A., Grenier, J., & Asselin, A. (1992). Antifungal Activity of Chitosan on Two Postharvest Pathogens of Strawberry Fruits. *Phytopathology*., *82*, 398-402.

[13] Cuero, R. G. (1999). Antimicrobial action of exogenous chitosan. *EXS*, *87*, 315-333.

[14] Ujimoto, T., Tsuchiya, Y., Nakamura, M., Nakamura, K., & Yamamoto, M. (2006). Antibacterial effects of chitosan solution against Legionella pneumophila, Escherichia coli, and Staphylococcus aureus. *Int. J. Food Microbiol*, *112*, 96-101.

[15] Khodaman, E., Barzegar, H., Jokar, A. (2022). Production and evaluation of Physicochemical, Mechanical and Antimicrobial Properties of Chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage-gelatin based Edible Films Incorporated with Chitosan Nanoparticles. *J. Food Measure. Charact.*, *16* (3). https://doi.org/10.1007/s11694-022-01470-7.

[16] Singh, A., Mittal, A., Benjakul, S. (2021). Chitosan nanoparticles: preparation, food applications and health benefits. *Sci. Asia*. 47, 1-10. doi:10.2306 /scienceasia1513-1874.2021.020.

[17] Kapoor, M., Khandal, D., Seshadri, G., Aggarwal, S., & Kumar, R. (2013). Novel Hydrocolloids, Preparation & Applications: A Review. *LIJRRAS*.,*16*, 3-14.

[18] Kulicke, E. D., Kuhn, W.M., & Stute, K. R. (1995). Formation of maize starch gels selectively regulated by the addition of hydrocolloids. *Starch.*, *47*, 378-384.

[19] Peter, A., Steeneken, M., Albert, J., Woortman, J., & Oudhuis, A. M. (2011). processing stability of cross-linked starches in acid sauce applications and identification of some of the molecular factors involved. *Food Hydrocoll.*, *25*, 410-418.

[20] Hala, M., Amin, H,. Elbeltagy, A.E., Mustafa, M., & Khalili, A.H. (2014). Development of low fat mayonnaise containing different types and levels of hydrocolloid gum. *J. Agroaliment. Processes Technol.*, *20*, 54-63.

[21] Jaworski, Z., Spychaj, T., Story, A., & Story, G. (2021). Carbomer microjels as model yield-stress fluids. *Rev. Chem. Eng*., *11*, 1-39.

[22] Wilpiszewska, K., & Spychaj, T. (2007). Chemical modification of starch with hexamethylene di-isocyanate derivatives. *Carbohydr. Polym.*, *70 (3)*, 334-340.

[23] King, A. H. (2010). Hydrocolloids in salad dressings. In: T.R, Laaman (Eds). *Hydrocoll. Food Process.*, (1nd ed., pp. 19-33). New Jersey: Wiley-Blackwell.

[24] Li, H.P., Zhang, S.S., Jiang, H., & Li, X. (2011). Effect of degree of substitution of carboxymethyl starch on diaspore depression in reverse flotation. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*, *21*, 1868-1873.

[25] Lee, I., Lee, S., & Lee, N. (2013). Reduced-Fat Mayonnaise Formulated with Gelatinized Rice Starchand Xanthan Gum. *Cereal Chem.*, *90* ,29–34.

[26] Liu, H., Xu, X.M., & Guo, S.D. (2007). Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT. Food Sci. Technol*, *40*, 946-954.

[27] Mun, S., Kim, Y. L., Kang, C. G., Park, K. H., Shim, J. Y. & Kim, Y. R. (2009). Development of Reduced Fat Mayonnaise Using 4αGTase-Modified Rice Starch and Xanthan Gum. *Int. J. Biol. Macromol*, *44 (5)*, 400-407.

[28] Li, S., Mary Vianney, M.J., & Liu, M. (2011). Synthesis of Carboxymethyl Starch with High Degree of Substitution by a Modified Dry Process. *Adv. Mat. Res*, *233*, 306-310.

[29] Tian, Y., Zhang, X., Sun, B., & Jin, Z. (2015). Starch sodium dodecenyl succinate prepared by one-step extrusion and its properties. *Carbohydr. Polym*, *133*, 90-93.

[30] Fathi, M., Varshosaz, J., & Shahidi, F. (2013). Hesperetin-loaded solid lipid nanoparticles and

nanostructure lipid carriers for food fortification: preparation, characterization, and modeling. *Food Bioproc.Tech.*, *6*, 1464-1475.

[31] Mancini, F., Montanari, L., Peressini, D., & Fantozzi, P. (2002). Influence of alginate concentration and molecular weight on functional properties of mayonnaise. *LWT. Food Sci. Technol*, 35, 517-525.

[32] Dolz, M., Hernandez, M.L., & Delegido, J. (2006). Oscillatory measurements for salad dressings stabilized with modified starch, xanthan gum and locust bean gum. *J. Appl.polym. Sci.*, *102*, 897-903.

[33] Peressini, D., & De Cindio, B. (1998). Rheological characterization of traditional and light mayonnaises. *J. food Eng. 35*, 409-417.

[34] Batista, A.P., & Empis, J. (2006). Rheological characterization of coloured oil-in water food emulsions with lutein and phycocyanine added to the oil and aqueous phases. *Food Hydrocoll.*, *20*, 44-52.

[35] Ma, L., & Barbosa-Cánovas, G.V. (1995). Rheological characterization of mayonnaise. Part II: Flow and viscoelastic properties at different oil and xanthan gum concentrations. *J. Food Eng.*, *25*, 409-425

[36] Štern, P., Valentová, H., & Pokorny`, J. (2001). Rheological properties and sensory texture of mayonnaise. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, *103*, 23-28.

[37] Jadhav, H.B., Gogate, P., & Annapure, U. (2022). Studies on Chemical and Physical Stability of Mayonnaise Prepared from Enzymatically Interesterified Corn Oil-Based Designer Lipids**.** *ACS Food Sci. Technol*., 2, 359–367**.**