

## بررسی ویژگی های رئولوژیکی ژل مخلوط بر پایه صمغ دانه قدومه شهری و ایزوله پروتئین خلر

محمدعلی حصاری نژاد<sup>۱،۲</sup>، آرش کوچکی<sup>۳\*</sup>، سیدمحمدعلی رضوی<sup>۳</sup>،  
محمدامین محمدی فر<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه فراوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران، مشهد، ایران

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

۴- دانشیار دانشگاه صنعتی دانمارک، لینگبی، دانمارک

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۰۷)

### چکیده

در این پژوهش ژل دهندگی و برهمکنش بین صمغ دانه قدومه شهری و ایزوله پروتئین خلر با استفاده از رئولوژی دینامیک تعیین و بررسی گردید. آزمون های دما - زمان، فرکانس و کرنش متغیر برای مخلوط ایزوله پروتئین خلر (۱۰ درصد) و صمغ دانه قدومه شهری در غلظت های ۰، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد انجام شد. رفتار رئولوژیکی ایزوله پروتئین خلر متفاوت از صمغ دانه قدومه شهری بود و نقطه ژل در طول دوره گرمایش مطرح شد. با افزایش غلظت پروتئین، مدول های ذخیره و اتلاف افزایش یافتند و نقطه ژل حدود ۹۰ درجه سانتیگراد تعیین شد که به میزان غلظت بستگی دارد و در طول دوره سردکردن اتفاق می افتد. در مراحل آزمون گرم کردن - سرد کردن (آزمون دما متغیر) مخلوط پروتئین - صمغ، ژل های مخلوط دارای دو مشخصه بودند: مشخصه اول، با افزایش شدید در مدول ذخیره که در آن ژل شدن پروتئین اتفاق افتاد و مشخصه دوم با افزایش مدول ذخیره که با تشکیل شبکه صمغ مطابقت داشت. نتایج حاصل از آزمون کرنش متغیر برای مخلوط ژل ها در پایان آزمون دما متغیر، فرضیه فوق را پشتیبانی کرد. رفتار رئولوژیکی و FTIR سیستم های مخلوط، عدم اتصال بین دو پلیمر را نشان داد.

کلید واژگان: ژل؛ صمغ دانه قدومه شهری؛ ایزوله پروتئین خلر؛ رئولوژی

\* مسئول مکاتبات: koocheki@um.ac.ir

## ۱- مقدمه

این برهمکنش بسته به نوع طبیعت و خواص مورد نظر می‌تواند زیان آور یا سودمند باشد [۱۹-۱۵].

به طور کلی حبوبات نسبت به غلات دارای پروتئین بیشتری می‌باشند [۲۰]. بخش عمده ای از ویژگی های عملکردی مانند تشکیل ژل مربوط به پروتئین‌ها است که در اثر برهمکنش آن‌ها با یون‌ها، حلال و سایر مولکول‌های اطراف آن‌ها از جمله پلی‌ساکاریدها، لیپیدها و پروتئین‌های دیگر ظاهر می‌شود. دانه خلر (*Lathyrus sativus*) از خانواده بقولات، با داشتن پروتئین بالا (بین ۲۵/۶ تا ۲۸/۴٪) می‌تواند به منظور بهبود ویژگی‌های مواد غذایی به خصوص امولسیون‌های مختلف جایگزین پروتئین‌های حیوانی شود [۲۱]. تصاویر ژل الکتروفورز این پروتئین حدود ۱۵ باند پروتئینی با بیشترین لگومین، ویسیلین و کان‌ویسیلین را نشان می‌دهد [۲۲].

صمغ دانه قدومه شهری، با بازده استخراج ۱۷/۳۶٪، ۸۸/۲۳٪ کربوهیدرات و ۴/۶٪ پروتئین بوده که رفتار رئولوژیکی غیرنیوتنی شل‌شونده با برش نشان می‌دهد [۲۳]. آزمون رئولوژیکی دینامیکی این صمغ رفتار ژل ضعیف و وجود شبکه متقابل<sup>۹</sup> را نشان داده که با افزایش غلظت یا دما، قدرت این ژل افزایش می‌یابد [۲۴]. در این پژوهش با بررسی رفتار رئولوژیکی ژل مخلوط تولیدشده برپایه ایزوله پروتئین خلر- صمغ قدومه شهری می‌توان به درک بهتری از ویژگی‌های این سیستم‌ها و شرایط مختلف تشکیل این ژل‌ها رسید. این اطلاعات امکان استفاده بهینه آن‌ها در فرمول مواد غذایی را فراهم می‌کند.

## ۲- مواد و روش ها

## ۲-۱- استخراج ایزوله پروتئین خلر و صمغ

## دانه قدومه شهری

تهیه ایزوله پروتئین خلر با استفاده از روش ارائه شده توسط شهرکی و همکاران به روش قلبایی در  $\text{pH}=9/9$  و ترسیب در  $\text{pH}=4/5$  انجام گرفت [۲۵]. استخراج صمغ دانه قدومه شهری با استفاده از روش کوچکی و همکاران [۲۳] انجام شد. برای این منظور از  $\text{pH}$  برابر ۸، دمای  $48^{\circ}\text{C}$  و نسبت آب به دانه ۱:۳۰ استفاده گردید.

پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها دو بیوپلیمر عمده اند که به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند و مسئول ایجاد خواص رئولوژیکی، مکانیکی و فیزیکوشیمیایی مواد غذایی می‌باشند [۱،۲]. تاکنون پژوهش‌های زیادی برای درک بهتر برهمکنش‌های پروتئین-پلی‌ساکارید صورت گرفته است [۷-۲]. طبیعت برهمکنش‌های پروتئین-پلی‌ساکارید تأثیر زیادی بر خواص عملکردی پروتئین دارد [۲]. این برهمکنش‌ها می‌توانند در تولید مواد غذایی مانند فرنی‌ها، پرکننده‌های شیرینی و پنیر مفید باشند [۸]. همچنین این مخلوط‌ها می‌توانند در مواد غذایی جدید به عنوان جایگزین‌های چربی بکار گرفته شوند [۹ و ۱۰].

برای مخلوط دو بیوپلیمر مختلف ممکن است سه حالت: حلالیت توأم<sup>۱</sup>، اتصال<sup>۲</sup> و ناسازگاری ترمودینامیکی<sup>۳</sup> اتفاق بیفتد. البته حلالیت توأم معمولاً به ندرت رخ می‌دهد [۲]. برهمکنش‌های اتصال مطلوب‌ترین این حالات می‌باشد. ناسازگاری ترمودینامیکی نیز زمانی اتفاق می‌افتد که یا برهمکنش بین بیوپلیمرهای مختلف از نوع دفع‌کننده<sup>۴</sup> باشد و یا دو پلیمر تمایل متفاوتی نسبت به حلال نشان دهند [۲ و ۱۱]. هنگامی که ژل‌های مخلوط با ترکیب بیش از یک بیوپلیمر تشکیل می‌شوند، شبکه متقابل<sup>۵</sup>، شبکه همراه با هم (متصل)<sup>۶</sup> یا شبکه فازهای جدا شده<sup>۷</sup> را می‌توان مشاهده کرد [۱۲]. شبکه‌های متقابل زمانی مشاهده می‌شود که دو مولفه، ژل را به طور جداگانه و به صورت شبکه‌های مستقل تشکیل می‌دهند. در این حالت هرگونه برهمکنش بین آنها فقط از نوع توپولوژی<sup>۸</sup> است [۱۲]. شبکه‌های متصل هنگامی تشکیل می‌شوند که برهمکنش سینرژیستی بین پلیمرها وجود دارد. در مقابل، ژل‌های با فاز جداشده، از پلیمرهای ناسازگار تشکیل شده اند. در این سیستم‌ها نوعی رقابت بین جداسازی فاز و فرایند تشکیل ژل رخ می‌دهد که پیچیدگی سیستم را افزایش می‌دهد [۱۳ و ۱۴]. مطالعات زیادی روی برهمکنش پلی-ساکاریدها و پروتئین‌ها صورت گرفته است که نشان می‌دهند

1. co-solubility
2. association
3. thermodynamic incompatibility
4. repulsive
5. interpenetrating
6. coupled
7. phase separated networks
8. topological

9. cross linked network

## ۲-۲- آماده سازی مخلوط ایزوله پروتئین خلر

### و صمغ دانه قدومه شهری

مخلوط صمغ دانه قدومه شهری - ایزوله پروتئین خلر با مقدار پروتئین ثابت ۱۰ درصد وزنی و مقادیر متفاوت صمغ تهیه شد. چهار غلظت صمغ (۰، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد وزنی) مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط پودر صمغ و پودر پروتئین با استفاده از آب دیونیزه شده حاوی ۰/۰۲٪ سدیم آزید به دلیل پیشگیری از رشد میکروبی تهیه شد. این محلول ها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق با استفاده از همزن مغناطیسی در ۱۰۰۰ rpm همزده شد و برای جذب آب کامل مولکول های صمغ و پروتئین، به مدت یک شبانه روز روی رول میکسر قرارداد شد. این نمونه ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴°C نگهداری شدند. pH هر نمونه قبل از انجام آزمون های رئولوژیکی با استفاده از محلول HCl یا NaOH روی ۷ تنظیم شد [۷].

## ۲-۳- آزمون های رئولوژیکی دینامیکی نوسانی

آزمون های رئولوژیکی نمونه های مخلوط ایزوله پروتئین خلر و صمغ دانه قدومه شهری با استفاده از رئومتر نوسانی دینامیکی کنترل تنش/ کرنش با دامنه کم تغییر شکل HAAKE MARS III rheometer (Thermo Scientific, Karlsruhe, Germany) با بکارگیری هندسه صفحه موازی (قطر ۳۵ میلیمتر، فاصله ۱ میلیمتر) در قالب مراحل ذیل انجام پذیرفت و داده های آزمون شامل مدول های ذخیره، اتلاف و تانژانت زاویه فاز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت: (۱) افزایش دما در نرخ ۰/۱°C/min از ۲۰ تا ۹۰°C و نگهداری برای ۲۰ دقیقه در ۹۰°C در فرکانس ثابت ۱ Hz و کرنش ۰/۵ درصد؛ (۲) آزمون فرکانس متغیر در دامنه فرکانس ۰/۰۱ تا ۱۰ Hz و کرنش ۰/۵ درصد در دمای ۹۰°C؛ (۳) کاهش دما با همان سرعت ۰/۱°C/min از ۹۰ تا ۲۰°C و نگهداری به مدت ۲۰ دقیقه در ۹۰°C، در فرکانس ۱ Hz و کرنش ۰/۵ درصد؛ (۴) آزمون فرکانس متغیر در دامنه فرکانس ۰/۰۱ تا ۱۰ Hz و کرنش ۰/۵ درصد در دمای ۲۰°C؛ (۵) آزمون کرنش متغیر در دامنه کرنش ۰/۰۱ تا ۱۰۰ درصد در فرکانس ۱ Hz و دمای ۲۰°C به منظور تأیید انجام آزمون ها در منطقه ویسکوالاستیک خطی

[۲۶]. تمام مخلوط ها به طور مستقیم روی صفحه پایین رئومتر ریخته شد و قبل از هر آزمون در دمای ۲۰°C تعادل برقرار شد. برای جلوگیری از تبخیر در هنگام آزمایش، نمونه با ورقه نازک روغن سیلیکون پوشیده شد. حداقل دو تکرار از هر آزمون انجام گرفت. همچنین نرم افزار RheoWin software 3.61 (Thermo Fisher Scientific) برای ارزیابی داده ها مورد استفاده قرار گرفت.

## ۲-۴- طیف سنجی مادون قرمز (ATR/FTIR)

در ابتدا نمونه های ژل مخلوط پروتئین - صمغ تهیه شده با کمک نیتروژن مایع در خشک کن انجمادی خشک گردید. طیف سنجی مادون قرمز با دستگاه Perkin-Elmer (Spectrum One, USA) در دامنه ۶۵۰-۴۰۰۰ cm<sup>-1</sup> با وضوح ۴ انجام شد. نمونه ها روی صفحه کریستال با بازتاب کامل ZnSe با استفاده از لوازم جانبی بازوی فشاری (ATR accessory, Perkin-Elmer Inc., Boston, U.S.A) بارگذاری شدند. مجموعه ای از ۱۰ طیف برای ایجاد طیف متوسط برای هر نمونه با استفاده از «عملکرد میانگین» موجود در نرم افزار OPUS (OPUS, Bruker Optics, USA) مورد استفاده قرار گرفت. تصحیح خط پایه (Baseline corrections)، نرمالیزاسیون، اشتقاق (derivation) و تجزیه و تحلیل خوشه (cluster analysis) با استفاده از نرم افزارهای OPUS 4.1 و Perkin-Elmer انجام شد [۲۷].

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- رفتار رئولوژیکی مخلوط ژل ایزوله

#### پروتئین خلر و صمغ دانه قدومه شهری

پیش از آماده سازی نمونه ها، مقدار درصد پروتئین ایزوله پروتئین خلر به روش کجلدال با ضریب ۶/۲۵ اندازه گیری شد و مقدار ۹۱/۷۵ درصد بدست آمد. بنابراین تأیید شد که پروتئین استخراج شده به عنوان ایزوله پروتئین خلر مطرح می باشد. بازده استخراج صمغ قدومه شهری نیز مشابه نتایج بدست آمده توسط کوچکی و همکاران [۱]، ۱۷/۳۶ درصد بدست آمد. برای ارزیابی برهمکنش بین پروتئین و

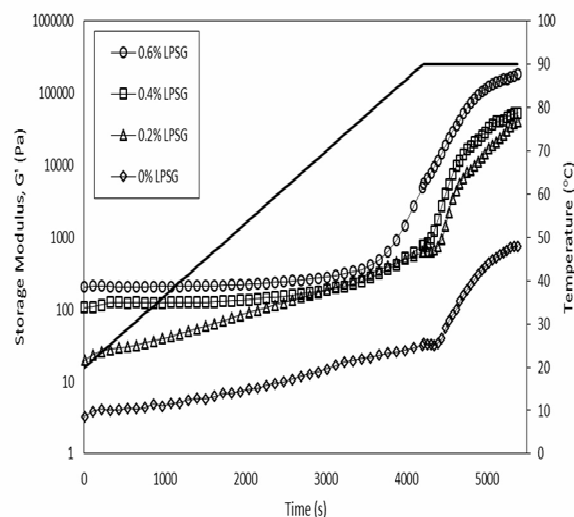
فرآیند تشکیل ژل و دناتوراسیون پروتئین با افزایش دما در مراحل اولیه آغاز شد، اما این افزایش مدول الاستیک شیب خیلی تندی نداشت. ضمناً این دمای تشکیل ژل در مقایسه با حضور پروتئین به صورت خالص کاهش می یابد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که حضور هیدروکلئید در محلول پروتئین باعث ایجاد تاخیر در تشکیل ژل شده و بنابراین ناسازگاری ترمودینامیکی در مخلوط ژل ایزوله پروتئین خلر و صمغ دانه قدومه شهری رخ می دهد. همچنان که غلظت صمغ در محلول ها افزایش می یابد، این ناسازگاری ترمودینامیکی بیشتر قابل توجه می گردد.

برای مخلوط حاوی ۱۰ درصد ایزوله پروتئین خلر، شروع افزایش مدول الاستیک که مربوط به شروع فرایند تشکیل ژل پروتئین در سیستم مخلوط است، در دمای حدود  $90^{\circ}\text{C}$  رخ داده است (شکل ۱). دمایی که این افزایش تدریجی در مدول الاستیک آغاز شد ( $T_{gel}$ ) با افزایش غلظت صمغ کاهش یافت، که با مشاهدات پیشین در سیستم های مخلوط پروتئین - پلی ساکارید نیز موافق است [۵ و ۲۸].

در پژوهش های مختلفی [۲۸-۳۴] فرآیندهای تدریجی سردکردن یا گرم کردن مخلوط های ژل برای بدست آوردن رفتارهای توزیع فاز در مخلوط های بیوپلیمری مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. اثر مرحله خنک کردن روی مدول الاستیک ژل مخلوط ایزوله پروتئین خلر و صمغ دانه قدومه شهری حاوی چهار نسبت پروتئین به پلی ساکارید مختلف از  $90^{\circ}\text{C}$  تا  $20^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد با سرعت سردکردن  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  و نگه داشتن مخلوط ژل در این دما به مدت ۲۰ دقیقه در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که در این شکل نشان داده شده است، طی مرحله سردکردن، مدول الاستیک افزایش بیشتری پیدا کرد که این افزایش احتمالاً مربوط به ایجاد یک ساختار ژل صمغ دانه قدومه شهری است که به صورت تدریجی دائماً افزایش پیدا می کند. به عبارت دیگر، در این مرحله، حضور صمغ دانه قدومه شهری اثر سینرژیستی روی تشکیل ژل و بازسازی ساختارهای جدید دارد. مشابه همین پدیده نیز توسط رافع و همکاران [۷] برای صمغ ریحان و پروتئین بتا لاکتوگلوبولین نیز مشاهده و گزارش شده است.

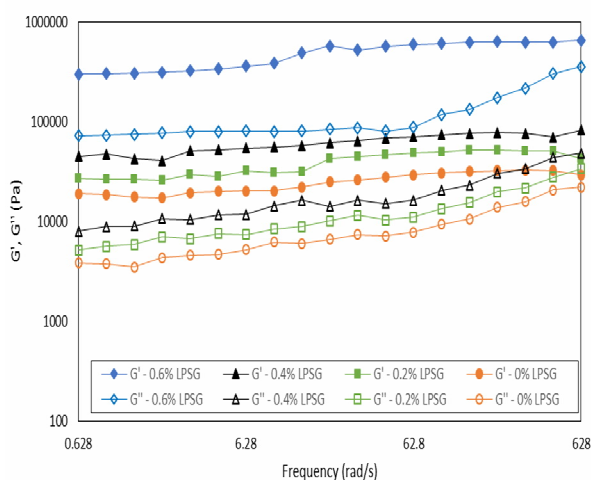
هیدروکلئید، پروفایل ژل دهندگی چهار مخلوط ایزوله پروتئین خلر و صمغ دانه قدومه شهری با استفاده از رئومتر اسیلاتوری با دامنه نوسانی کم مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین نسبت های مختلف پروتئین - پلی ساکارید مورد اندازه گیری قرار گرفت.

اثر گرمایش روی مدول الاستیک ژل های مخلوط ایزوله پروتئین خلر و صمغ دانه قدومه شهری در نسبت های مذکور در شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل، افزایش دما از  $20^{\circ}\text{C}$  تا  $90^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد با سرعت حرارت دهی  $1^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد بر دقیقه و سپس نگهداری نمونه در این دما به مدت ۲۰ دقیقه نمایش داده می شود. همانطور که ملاحظه می شود، افزودن صمغ به محلول ۱۰ درصد پروتئین، سبب کاهش شیب مدول الاستیک طی ژل دهندگی می شود (شکل ۱). به عبارت دیگر مقایسه رفتار ژل مخلوط های پروتئین - صمغ نشان دهنده افزایش ناگهانی مدول الاستیک و افزایش یکنواخت و تدریجی مجدد آن می باشد. مدول الاستیسیته در این فاز افزایش یافته است که مربوط به ایجاد شبکه پروتئینی می باشد به طوری که با افزایش مدول الاستیسیته و افزایش پیوسته آن طی آزمون ایزوترمال در دمای ثابت  $90^{\circ}\text{C}$  مشاهده شده است.

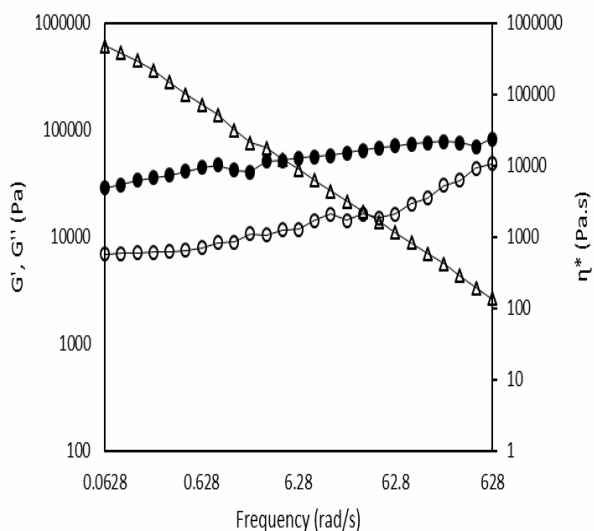


**Fig 1** The effect of heating process from  $90$  to  $20^{\circ}\text{C}$  on the elastic modulus of different ratios of LSPI-LPSG mixed gel (rate of  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  and holding for 20 minutes, 1 Hz, strain 0.5%).

آزمون فرکانس متغیر مخلوط ژل ایزوله پروتئین خلر و صمغ دانه قدومه شهری در شکل ۳ و ۴ نشان داده شده است. در این شکل می توان مشاهده کرد که مدول الاستیک و مدول ویسکوز در ۲۰ درجه سانتیگراد به هم نزدیک می شوند. افزایش مدول الاستیک و مدول ویسکوز در مقایسه با ژل ایزوله پروتئین خلر به طور جداگانه بیشتر بود که نشان دهنده افزایش الاستیسیته ژل های مخلوط است. این ویژگی یکی دیگر از مدارک اثبات اثر سینرژیستی صمغ دانه قدومه شهری در ژل ایزوله پروتئین خلر به حساب می آید. لازم به ذکر است که بین شیب ویسکوزیته کمپلکس در ژل های مخلوط تفاوت معنی داری وجود ندارد.

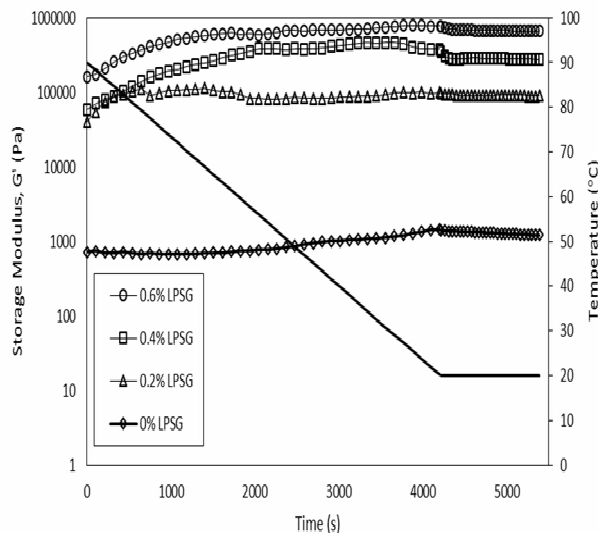


**Fig 3** Frequency sweep test for different ratios of LSPI-LPSG mixed gel (20 °C, strain 0.5%).



**Fig 4** Frequency sweep Test for 10:0.2 mixed gel ratio of LSPI-LPSG (20 °C, Strain 0.5%).

آزمون کرنش متغیر که در پایان آزمون ها انجام شد، نشان داد که پروفایل شکستن کلی ژل های مخلوط از لحاظ کرنش



**Fig 2** The effect of cooling process from 90 to 20°C on the elastic modulus of different ratios of LSPI-LPSG mixed gel (rate of 1 °C/min and holding for 20 minutes, 1 Hz, strain 0.5%).

این مشخصات را می توان به دو بخش تقسیم کرد: افزایش اولیه بین ۹۰ تا ۲۰ درجه سانتیگراد و سپس کاهش مدول الاستیک در طول نگه داشتن ژل ها در ۲۰ درجه سانتی گراد. توسعه سریع مدول ذخیره ژل های مخلوط احتمالاً نتیجه نیروهای جاذبه بین زنجیره های پلی پپتید مجاور ایجاد شده است، زیرا پس از خنک سازی، افزایش یکنواختی در مدول ذخیره ژل ایزوله پروتئین خلر نیز مشاهده می شود. همچنین در این بخش، بخشی از افزایش مدول الاستیک در ژل های مخلوط پروتئین - صمغ، با ژل شدن صمغ دانه قدومه شهری همزمان با سرد شدن تا دمای ۲۰ درجه سانتیگراد ارتباط دارد. کاهش مدول الاستیک در مرحله بعدی ممکن است مربوط به ساختار تثبیت شده ژل ها و داشتن زمان کافی برای بازیابی ساختار و پیدا کردن موقعیت مناسب در ساختار ژل باشد. علاوه بر این، حضور صمغ دانه قدومه شهری باعث افزایش مدول الاستیک ژل مخلوط می شود. این امر نشان می دهد که شبکه پروتئینی یک فاز پیوسته را تشکیل می دهد که زنجیره های پلی ساکارید را به عنوان پرکننده در آن وارد کرده و تشکیل ساختار می دهد [۳۵]. نتایج مشابهی نیز برای صمغ کازیا گالاکتومانانی با ایزوله پروتئین آب پنیر، صمغ کاراجینان با ایزوله پروتئین آب پنیر و صمغ بالنگو با ایزوله پروتئین آب پنیر مشاهده شد [۳۸-۳۶ و ۷].

ساختمان صفحه ای  $\beta$  به سمت ساختمان های تجمعی  $\beta$  را نشان می دهد. همانطور که برای پروتئین های دیگر مشاهده شده است، تشکیل چنین ساختارهایی مشخصه تشکیل ژل یا تجمع می باشد [۴۲ و ۴۳].

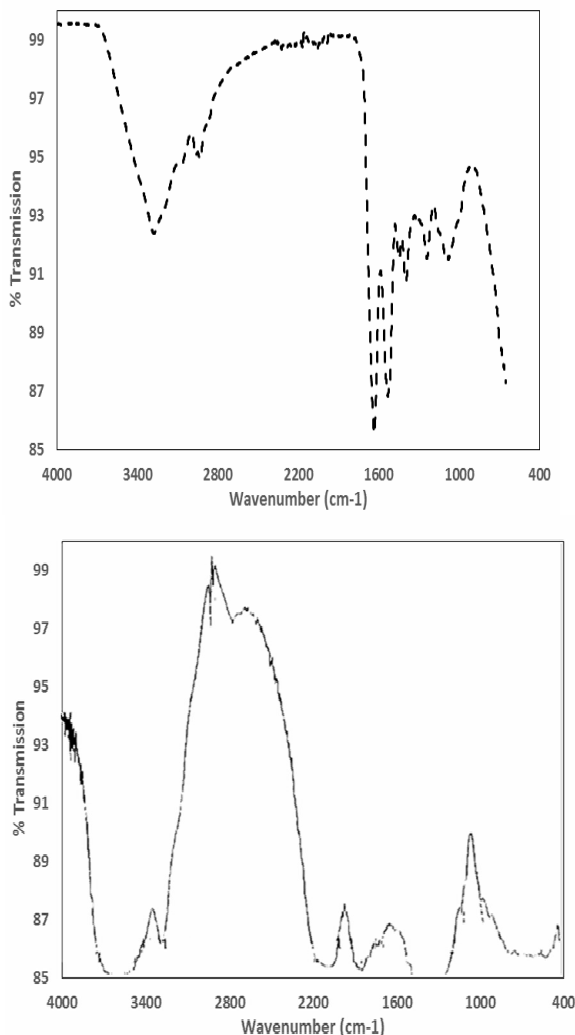


Fig 6 ATR-FTIR spectra of LSPI and LPSG (a):LSPI, (b): LPSG

طیف های ATR/FTIR برای نسبت های مختلف مخلوط ژل ایزوله پروتئین خلر - صمغ دانه قدومه شهری در ناحیه طیفی  $650-4000 \text{ cm}^{-1}$  در شکل ۷ آورده شده است. تمامی مخلوط ها پیک مشخصی را در حدود  $1635 \text{ cm}^{-1}$  نشان دادند که به طور جزئی با افزودن صمغ به مخلوط کاهش می یافت. این پیک به گروه های کربوکسیل غیر استریفیه نسبت داده می شود [۴۴]. تغییر در این ناحیه از  $1631$  تا  $1645 \text{ cm}^{-1}$  در طیف نشان می دهد که تغییراتی در این گروه از طریق برهمکنش با پروتئین رخ داده است. بایستی عنوان شود که یک

بحرانی بین ژل ایزوله پروتئین خلر و صمغ دانه قدومه شهری [۲۴] به تنهایی می باشد. این داده ها همچنین فرضیه ی وجود یک شبکه دوفازی را تایید می کنند [۵]. ناحیه ویسکوالاستیک خطی ژل ایزوله پروتئین خلر در محدود بزرگی است و تا بیش از ۱۰٪ گسترش می یابد، در حالی که صمغ دانه قدومه شهری نسبتاً کم بوده و تا حدود ۱٪ گسترش می یابد [۲۴]. با این وجود این مقادیر بالاتر از مقدار مورد استفاده در مطالعه حاضر (۵/۵٪) است (شکل ۵) و تایید می کند که آزمایش های انجام شده در ناحیه خطی به خوبی انجام گرفته است. افزایش غلظت پروتئین منجر به گسترش منطقه ی ویسکوالاستیک خطی مخلوط به سمت مقادیر بالاتر کرنش گردیده است.

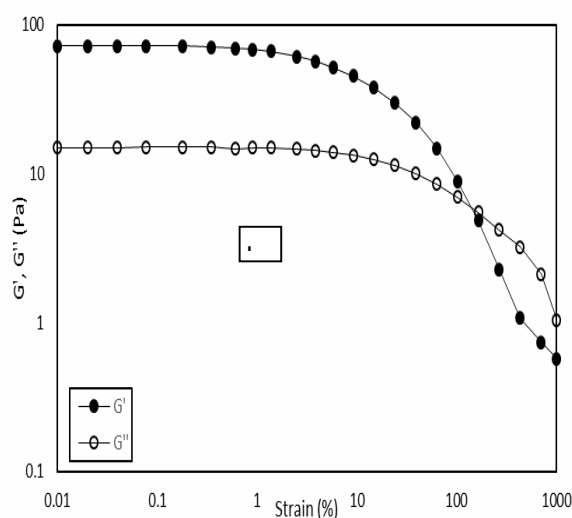


Fig. 5. Strain sweep test for confirmation of linear viscoelastic region for LSPI-LPSG mixed gel in a 10:0.2 ratio (20 °C, 1 Hz).

### ۳-۲-طیف سنجی مادون قرمز (ATR/FTIR)

طیف مادون قرمز ایزوله پروتئین خلر در حالت ژل در ناحیه  $650-4000 \text{ cm}^{-1}$  در دمای اتاق ثبت شد (شکل ۶). پیک اصلی مربوط به ویژگی های پروتئین در ناحیه  $1634 \text{ cm}^{-1}$  بدست آمد، که ناحیه آمید I' (نوسانی کششی C=O) را نشان می دهد که در نتیجه دناتوراسیون حرارتی، ناشی از فشار و حلال پروتئین ها می باشد [۳۹ و ۴۰]. این پیک شکستن پیوندهای هیدرژنی در میان ساختار ثانویه پروتئین و تشکیل پیوندهای هیدرژنی جدید و قوی تر همراه با تجمع یعنی تشکیل پیوندهای هیدرژنی بین مولکولی را نشان می دهد [۴۱]. همچنین پیک  $1537 \text{ cm}^{-1}$  تغییر ساختار از مارپیچ آلفا و

شدن فاز در مخلوط پروتئین - صمغ رخ می دهد. نتایج آزمون کرنش متغیر برای مخلوط ژل ها در پایان مراحل آزمون، فرضیه فوق را پشتیبانی نمود.

#### ۴- منابع

- [1] E. Dickinson, Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets, *Food Hydrocoll.* 28 (2012) 224–241.
- [2] V.B. Tolstoguzov, Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction, *Food Hydrocoll.* 4 (1991) 429–468.
- [3] M.-E. Bertrand, S.L. Turgeon, Improved gelling properties of whey protein isolate by addition of xanthan gum, *Food Hydrocoll.* 21 (2007) 159–166.
- [4] M.M.O. Eleya, X.J. Leng, S.L. Turgeon, Shear effects on the rheology of  $\beta$ -lactoglobulin/ $\beta$ -carrageenan mixed gels, *Food Hydrocoll.* 20 (2006) 946–951.
- [5] M.M.O. Eleya, S.L. Turgeon, Rheology of  $\kappa$ -carrageenan and  $\beta$ -lactoglobulin mixed gels, *Food Hydrocoll.* 14 (2000) 29–40.
- [6] J.-H. Zhu, X.-Q. Yang, I. Ahmad, L. Li, X.-Y. Wang, C. Liu, Rheological properties of  $\kappa$ -carrageenan and soybean glycinin mixed gels, *Food Res. Int.* 41 (2008) 219–228.
- [7] A. Rafe, S.M.A. Razavi, R. Farhoosh, Rheology and microstructure of basil seed gum and  $\beta$ -lactoglobulin mixed gels, *Food Hydrocoll.* 30 (2013) 134–142.
- [8] D. Oakenfull, E. Miyoshi, K. Nishinari, A. Scott, Rheological and thermal properties of milk gels formed with  $\kappa$ -carrageenan. I. Sodium caseinate, *Food Hydrocoll.* 13 (1999) 525–533.
- [9] I.T. Cain, F. W., Jones, M. G., Norton, Spread. European Patent, 87 200394 2, 1987.
- [10] V.B. Tolstoguzov, R. Vincent, Low fat food ingredients, *Eur. Pat.* (1997) 7.
- [11] L. Piculell, B. Lindman, Association and segregation in aqueous polymer/polymer, polymer/surfactant, and surfactant/surfactant mixtures: similarities and differences, *Adv. Colloid Interface Sci.* 41 (1992) 149–178.
- [12] V.J. Morris, Multicomponent gels, *Gums Stabilisers Food Ind.* 3 (1986) e99.
- [13] E.E. Braudo, A.M. Gotlieb, I.G. Plashina, V.B. Tolstoguzov, Protein-containing multicomponent gels, *Mol. Nutr. Food Res.*

پیک بسیار مشخص در حدود  $3276 \text{ cm}^{-1}$  وجود دارد که کشیدگی O-H را در مولکول های آب نشان می دهد.

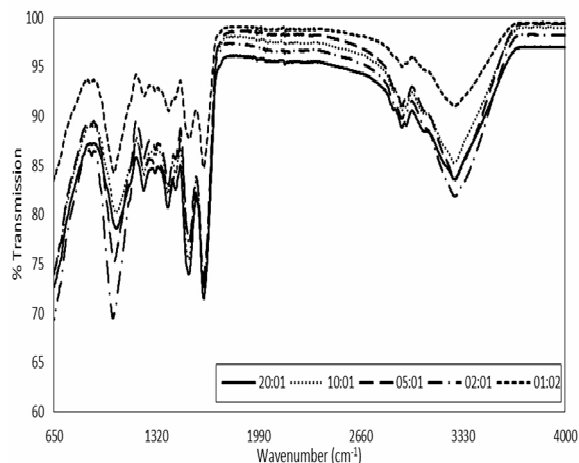


Fig 7 ATR-FTIR spectra of LSPI-LPSG mixed gel

هنگامی که مخلوط های پلیمری از نظر ترمودینامیکی سازگار باشند و برهمکنش های بین مولکولی شایع باشد، طیف های ATR-FTIR مخلوط ها از اجزاء تشکیل دهنده مخلوط متفاوت می باشند. بر عکس، مخلوط های دو پلیمر ناسازگار (جدا شده فازی) طیف های مادون قرمز حاصل می کنند که طیف های دو پلیمر را تقویت می کنند. نتایج نشان داد که دو پلیمر از نظر ترمودینامیکی ناسازگارند، به طوری که پیک امید I در سیستم مخلوط افزایش می یابد. بنابراین به دلیل جداسازی فازی شبکه، پیک مشخصی در  $1635$  (امید I) رخ داده است.

#### ۳- نتیجه گیری نهایی

خواص رئولوژیکی ژل مخلوط ایزوله پروتئین خلر - صمغ دانه قدومه شهری در غلظت و نسبت های مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که در طول فرایند تشکیل ژل، پیک مشخصی در مدول ذخیره برای این سیستم های مخلوط دیده می شود. دمای تشکیل ژل با افزایش غلظت پروتئین کاهش می یابد و مدول الاستیک به صورت یکنواختی طی دوره گرم نگه داشتن افزایش می یابد. ناسازگاری ترمودینامیکی در مخلوط ژل آن ها مشاهده شد که با کاهش غلظت پروتئین در سیستم، بیشتر شد. رفتار رئولوژیکی و FTIR سیستم های مخلوط، عدم اتصال بین دو پلیمر را نشان داد. همچنین مشاهده شد که هم پدیده جداسازی و هم ژل

- study on the gelation of basil seed gum, *Int. J. Food Sci. Technol.* 48 (2013) 556–563.
- [27] S.M.A. Rafe, Ali; Razavi, Effect of Thermal Treatment on Chemical Structure of B-Lactoglobulin and Basil Seed Gum Mixture at Different States by ATR-FTIR Spectroscopy, *Int. J. Food Prop.* (2015). doi:10.1080/10942912.2014.999864.
- [28] P. Manoj, S. Kasapis, M.W.N. Hember, Sequence-dependent kinetic trapping of biphasic structures in maltodextrin-whey protein gels, *Carbohydr. Polym.* 32 (1997) 141–153.
- [29] I.S. Chronakis, S. Kasapis, Structural properties of single and mixed milk/soya protein systems, *Food Hydrocoll.* 7 (1993) 459–478.
- [30] S. Kasapis, E.R. Morris, I.T. Norton, C.R.T. Brown, Phase equilibria and gelation in gelatin/maltodextrin systems—Part III: Phase separation in mixed gels, *Carbohydr. Polym.* 21 (1993) 261–268.
- [31] P. Manoj, S. Kasapis, I.S. Chronakis, Gelation and phase separation in maltodextrin-caseinate systems, *Food Hydrocoll.* 10 (1996) 407–420.
- [32] M. Papageorgiou, S. Kasapis, R.K. Richardson, Steric exclusion phenomena in gellan/gelatin systems I. Physical properties of single and binary gels, *Food Hydrocoll.* 8 (1994) 97–112.
- [33] P. Walkenström, A.-M. Hermansson, Mixed gels of fine-stranded and particulate networks of gelatin and whey proteins, *Food Hydrocoll.* 8 (1994) 589–607.
- [34] P. Walkenström, A.-M. Hermansson, Fine-stranded mixed gels of whey proteins and gelatin, *Food Hydrocoll.* 10 (1996) 51–62.
- [35] C. Tavares, J.A.L. da Silva, Rheology of galactomannan–whey protein mixed systems, *Int. Dairy J.* 13 (2003) 699–706.
- [36] I. Capron, T. Nicolai, C. Smith, Effect of addition of  $\kappa$ -carrageenan on the mechanical and structural properties of  $\beta$ -lactoglobulin gels, *Carbohydr. Polym.* 40 (1999) 233–238.
- [37] M.P. Gonçalves, D. Torres, C.T. Andrade, E.G. Azero, J. Lefebvre, Rheological study of the effect of Cassia javanica galactomannans on the heat-set gelation of a whey protein isolate at pH 7, *Food Hydrocoll.* 18 (2004) 181–189.
- [38] S. Mleko, E.C.Y. Li-Chan, S. Pikus, Interactions of  $\kappa$ -carrageenan with whey proteins in gels formed at different pH, *Food* 30 (1986) 355–364.
- [14] V.Y. Grinberg, V.B. Tolstoguzov, Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solutions, *Food Hydrocoll.* 11 (1997) 145–158.
- [15] V. Grinberg, A. Marusova, V. Chekhovskaya, V. Tolstoguzov, D. Izjumov, Method of making protein-containing foodstuffs resembling minced-meat, (1974).
- [16] V.B. Tolstoguzov, G.O. Phillips, P. Williams, D.J. Wedlock, Gums and stabilizers for the food industry, (1994).
- [17] W.G. Soucie, W.-S. Chen, Edible xanthan gum-protein fibrous complexes, (1986).
- [18] C. Schmitt, C. Sanchez, S. Desobry-Banon, J. Hardy, Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: a review, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38 (1998) 689–753.
- [19] S. Le Henaff, S.L. Turgeon, C. Sanchez, P. Paquin, Study of the formation of whey protein-xanthan complexes, *J. Dairy Sci.* 80 (1997) 103.
- [20] J. Gueguen, G.L. No, Overview on functional properties of grain legume components, *Grain Legum.* 20 (1998) 13–14.
- [21] C.G. Campbell, Grass pea, *Lathyrus sativus L.*, Bioversity International, 1997.
- [22] F. Ghorbanian, The effect of grass pea (*Lathyrus sativus*) protein isolate on physicochemical properties of oil in water emulsions stabilized with xanthan gum, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, 2013.
- [23] A. Koocheki, A.R. Taherian, S.M.A. Razavi, A. Bostan, Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds, *Food Hydrocoll.* 23 (2009) 2369–2379.
- [24] M.A. Hesarinejad, A. Koocheki, S.M.A. Razavi, Dynamic rheological properties of *Lepidium perfoliatum* seed gum: Effect of concentration, temperature and heating/cooling rate, *Food Hydrocoll.* 35 (2014) 583–589.
- [25] F. Shahraki, M.H. Hadad-khodaparast, M.A. Hesarinejad, S.A. Mortazavi, E. Milani, A. Hoseinzadeh, The quality and purity of the proteins extracted from the *Lathyrus sativus* seeds and optimization by the response surface methodology (RSM), Mashhad, Iran. Ferdowsi Univ. Mashhad, Pap. 4 (2013).
- [26] A. Rafe, S. Razavi, Dynamic viscoelastic



- 1118 (1992) 139–143.
- [42] T. Nagano, H. Mori, K. Nishinari, Rheological properties and conformational states of  $\beta$ -conglycinin gels at acidic pH, *Biopolymers*. 34 (1994) 293–298.
- [43] A.H. Clark, D.H.P. Saunderson, A. Suggett, Infrared and laser Raman spectroscopic studies of thermally-induced globular protein gels, *Chem. Biol. Drug Des.* 17 (1981) 353–364.
- [44] R. Gnanasambandam, A. Proctor, Preparation of soy hull pectin, *Food Chem.* 65 (1999) 461–467.
- Res. Int. 30 (1997) 427–433.
- [39] H. Susi, D.M. Byler, J.M. Purcell, Estimation of  $\beta$ -structure content of proteins by means of deconvolved FTIR spectra, *J. Biochem. Biophys. Methods*. 11 (1985) 235–240.
- [40] D. Carrier, H.H. Mantsch, P.T.T. Wong, Protective effect of lipidic surfaces against pressure-induced conformational changes of poly (L-lysine), *Biochemistry*. 29 (1990) 254–258.
- [41] M. Jackson, H.H. Mantsch, Halogenated alcohols as solvents for proteins: FTIR spectroscopic studies, *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Protein Struct. Mol. Enzymol.*

## Rheological Properties of Mixed Gel Based on *Lepidium perfoliatum* seed gum and *Lathyrus sativa* protein isolate

Hesarinejad, M. A.<sup>1,2</sup>, Koocheki, A.<sup>1\*</sup>, Razavi, S. M. A.<sup>1</sup>, Mohammadifar, M. A.<sup>3</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2. Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

3. Research Group for Food Production Engineering, National Food Institute, Technical University of Denmark, Lyngby, Denmark

(Received: 2017/05/08 Accepted:2018/01/27)

In this research, the gelation and interaction between *Lepidium perfoliatum* seed gum (LPSG) and *Lathyrus sativa* protein isolate (LSPI) were determined using dynamic rheology. Sequence of experimental sweeps of time-temperature, frequency, and strain were applied for the mixtures of LSPI (10%) and LPSG (0, 0.2, 0.4 and 0.6%). Rheological behavior of protein isolate was found to be different from that of LPSG and gelling point was raised during the heating period. By increasing LSPI concentration, storage and loss moduli were increased and gel point was determined at about 90 °C, which was dependent of concentration and occurred during cooling period. Upon heating-cooling process, mixed gels showed a biphasic profile: the first phase, characterized by a sharp increase in the storage modulus where protein gelling occurred and the second phase showing an increase in the storage modulus, corresponded to the build-up of a LPSG network. The results of the strain sweep test for mixing gels at the end of the temperature sweep test supported the above hypothesis. In addition, FTIR of mixed gel showed a bicontinuous network in which LPSG dispersed in LSPI continuous phase.

**Keywords:** Gel, *Lepidium perfoliatum*, *Lathyrus sativa*, Rheology

---

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