تخلیص آنزیمی صمغ دانه بالنگو (*Lallemantia royleana*) و بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و امولسیون‌کنندگی آن

مریم سردرودیان[1]، اکرم آریان‌فر[1*]، علی محمدی‌ثانی کاخکی[1]، سارا ناجی طبسی[2]

گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران[1]

گروه نانو فناوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران[2]

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۸/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۲۳)

چکیده

صمغ‌ها گروهی از ترکیبات پلی‌ساکاریدی با زنجیره طولانی یا وزن مولکولی بالا هستند که به‌طور گسترده‌ای در مواد غذایی و سایر صنایع به عنوان تثبیت کننده، اصلاح کننده بافت، قوام‌دهنده، تشکیل دهنده ژل و امولسیفایر به‌کار برده می‌شوند. هدف از این پژوهش، شناسایی خواص فیزیکوشیمیایی و امولسیونی صمغ دانه بالنگو فاقد پروتئین می‌باشد. نتایج نشان داد، وزن مولکولی صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین به ترتیب ۳۱۲۰ و ۳۳۶۰ kDa است. گروه‌های عمده عملکردی شناسایی شده در طیف FTIR از صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن شامل O-H، C-H، C=O، -COO- و C-O-C بود. نتایج حاصل از GC-MS نشان داد، منوساکاریدهای مشخص شده در صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن شامل گلوکز، گالاکتوز، آرابینور، زایلوز و رامنوز بود. براساس نتایج رئولوژیکی، نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو کمترین میزان پروتئین را دارا بود و این منجر به بزرگ شدن قطرات و پایداری کمتر امولسیون گردید. برازش داده‌های رئولوژیکی امولسیون با مدل هرشل-بالکی نشان داد، ضریب تبیین (R^2) بسیار نزدیک به ۱ بود و خطای جذر میانگین مربعات (RMSE) کمتر از ۰/٤ بدست آمد، که نشان از مناسب بودن این مدل برای توصیف رفتار جریان امولسیون‌های تولیدی دارد. همچنین شاخص رفتار جریان امولسیون‌ها کمتر از ۱ بود، که تاییدکننده رفتار تضعیف‌شونده با برش امولسیون‌ها است، اما تفاوت معنی‌داری بین امولسیون‌ها مشاهده نشد ($P>0.05$). در آزمون تنش متغیر، تمامی امولسیون‌ها، مقدار مدول ذخیره بیشتر از مدول اتلاف بود که غالب بودن رفتار الاستیک را نشان می‌دهد. در آزمون فرکانس متغیر، تمامی نمونه‌های امولسیون میزان مدول ذخیره بیشتر از مدول اتلاف بود که رفتار شبه جامد امولسیون‌ها را تایید می‌کند. شاخص قانون توان در مدول ذخیره امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن نزدیک به صفر بود که بیانگر رفتار الاستیک قوی‌تر در امولسیون است.

کلید واژگان: دانه بالنگو، فاقد پروتئین، ویسکوالاستیک، FTIR، GC-MS

*مسئول مکاتبات: a_aria_1443@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

۱- مقدمه

عبارت هیدروکلوئید (صمغ) به مجموعه‌ای از پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها اطلاق می‌شود که در آب حل یا پخش می‌شوند و ویسکوزیته را افزایش می‌دهند. امروزه مصرف هیدروکلوئیدها در صنایع غذایی افزایش چشم‌گیری یافته است و به طور گسترده در صنایع گوناگون با عملکردهایی همچون غلیظ-کنندگی، حفظ و بهبود بافت محصولات غذایی، تشکیل ژل، تشکیل فیلم، تثبیت کف، ممانعت از تشکیل کریستال‌های یخ و شکر، و آزادسازی کنترل شده طعم‌ها استفاده می‌شوند [۱، ۲]. هیدروکلوئیدها از منابع مختلفی استخراج می‌شوند که یکی از منابع دانه‌ها هستند [۳]. استفاده از هیدروکلوئیدها در صنایع غذایی در سال‌های اخیر به شدت گسترش یافته است. اگرچه بیشتر از هیدروکلوئیدها در غلظت کمتر از ۱ درصد استفاده می‌شود، اما قادرند اثر معنی‌داری بر خواص بافتی و ارگانولپتیکی مواد غذایی داشته باشند [۱، ۲].

ایران به دلیل داشتن آب و هوای متنوع و متناسب برای کشت و پرورش پوشش‌های گیاهی گوناگون به خصوص گیاهانی که جزء منابع استخراج صمغ‌های گوناگون به حساب می‌آیند، جایگاه مناسبی دارد [٤]. از جمله این صمغ‌ها، صمغ حاصل از دانه‌ی بالنگو شیرازی است. بالنگو گیاهی با نام علمی *Lallemantia royleana* متعلق به خانواده نعناعیان است که در مناطق مختلف جهان به خصوص کشورهای شرق میانه رشد می‌کند [۵]. دانه‌های بالنگو به شکل بیضی و تیره رنگ می‌باشند و دارای دو سطح پشتی و داخلی هستند که بسیار با هم متفاوتند. در سطح داخلی به وضوح می‌توان یک برجستگی طولی را مشاهده کرد، در حالی که چند خط طولی در سطح پشتی محدب آن نمایانگر می‌باشد [۵]. دانه‌های بالنگو بلافاصله پس از قرار گرفتن در داخل آب، آن را جذب کرده و مایع چسبناک، کدر و بی‌مزه‌ای (موسیلاژ) ایجاد می‌کند. به علت تولید مقادیر بالای موسیلاژ، این دانه می‌تواند به عنوان یک منبع جدید هیدروکلوئید در فرمولاسیون مواد غذایی به کار رود. در ایران عموماً از آن به عنوان تخم شربتی یاد می‌شود [۵].

صمغ دانه بالنگو به شرایط محیطی مانند دما، حضور یون‌ها و شکر حساس است. با این وجود در مقایسه با سایر هیدروکلوئیدها، صمغ حاصل از دانه بالنگو ویسکوزیته ذاتی بالاتری دارد [٤]. صمغ بالنگو رفتار سودوپلاستیک دارد و در سرعت‌های برشی پائین ویسکوزیته بالایی ایجاد می‌کند [٦]. ضریب قوام و شاخص رفتار جریان محلول ۱ درصد وزنی- وزنی به ترتیب $pa.s^n$ ۸/۸٤ و ۰/۳٦ گزارش شده‌اند. ویسکوزیته ظاهری محلول ۱ درصد صمغ دانه بالنگو در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و درجه برش S^{-1} ٤٦/١٦ برابر با Pa.s ۰/۷٦ بوده است [۷]. صمغ استخراج شده از دانه بالنگو به طور عمده از پلی‌ساکاریدها (حدود ۷۷/۱ درصد)، رطوبت (۸/۲ درصد) پروتئین (۱/٦ درصد) و خاکستر (۱۳/۱ درصد) تشکیل شده است [۸]. صمغ دانه بالنگو را می‌توان به عنوان یک ترکیب پایدارکننده در سیستم‌های امولسیونی بکار برد. به‌علاوه، سیکل‌های انجماد/ ذوب نیز تا حدی سبب افزایش ظرفیت امولسیونی صمغ دانه بالنگو و بهبود ویژگی‌های بافتی ژل حاصل از این صمغ می‌گردد. ظرفیت عالی پیوند شدن با آب و عدم سینرسیس پس از سیکل‌های انجماد/ ذوب و به‌طور کل اثر مثبت این عملیات حرارتی بر ویژگی‌های بافتی ژل صمغ دانه بالنگو می‌تواند در کاهش اثر مخرب شرایط انجماد و رشد کریستال یخ در محصولات لبنی منجمد و کاهش کریستاله شدن آمیلوز و آمیلوپکتین در فرآورده‌های آردی منجمد که حاوی نشاسته هستند موثر باشد. دانه‌های این گیاه آروماتیک به دلیل دارا بودن موسیلاژ، بصورت سنتی در درمان نارسایی-هایی همچون خونریزی‌های لثه، سرخه‌های ناشی از سرماخوردگی، ناراحتی‌های کلیوی و به عنوان خنک کننده، مسکن درد و آرام‌بخش استفاده می‌شود [۹، ۱۰].

با وجود تحقیقات صورت گرفته، در ایران به دلیل وفور منابع گیاهی، ترکیبات پلی‌ساکاریدی جدید و فراوان یافت می‌شود که با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی از خصوصیات صمغ دانه بالنگو فاقد پروتئین، ضرورت بررسی فرآیند استخراج، تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و امولسیونی بیش از پیش حساس می‌گردد. مطالعات انجام شده و در این زمینه کاربردهای عدیده‌ای از صمغ‌ها را در صنایع مختلف غذایی و دارویی به ارمغان آورده است و فواید اقتصادی زیادی را نیز به دنبال داشته و دارد. لذا هدف از انجام پژوهش جاری این است بررسی خصوصیات ساختاری و امولسیون‌کنندگی صمغ دانه بالنگو فاقد پروتئین می‌باشد. بدیهی است اطلاعات جزئی‌تر از ویژگی‌های صمغ دانه بالنگو فاقد پروتئین به درک بیشتر خصوصیات ساختاری و کاربردی این صمغ در زمینه‌های مختلف کمک خواهد کرد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]
[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

دانه‌های بالنگوی شیرازی (گونه *لامنتیا رویلینا*[1]) به میزان لازم از بازار محلی بجنورد تهیه گردید و تا زمان انجام آزمایش‌ها، در دمای محیط و در مکانی خشک نگهداری شدند. برای تهیه امولسیون‌ها از روغن آفتابگردان (لادن، ایران) استفاده گردید.

۲-۲- استخراج صمغ دانه بالنگو

صمغ دانه بالنگو با استفاده از روش ارائه شده توسط محمد امینی (۲۰۰۷) تهیه شده است [۷]. دانه‌ها پس از خریداری تمیز گشته، مواد زائد و ناخالصی‌ها مانند کاه و سنگ از دانه‌ها جدا شد. به منظور استخراج صمغ، دانه‌ها در آب با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد، $pH = ۷$ و نسبت آب به دانه ۵۹ به ۱ قرار گرفتند. پس از مدت زمان ۲۰ دقیقه، صمغ حاصله توسط دستگاه استخراج‌کننده مجهز به صفحه چرخنده (استخراج کننده آزمایشگاهی، شرکت پارس خزر، ایران) صورت گرفت. به منظور حذف ناخالصی‌های موجود، محلول صمغ از صافی توری عبور داده شد. جهت تخلیص صمغ دانه بالنگو، صمغ جدا شده با ۳ برابر حجم اتانول ۹۶ درصد مخلوط شد تا پلی-ساکاریدها رسوب کنند. رسوب‌ها جدا شدند و مجدد در آب مقطر حل گردید و سپس توسط آون با جریان هوا در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد خشک شد و صمغ حاصل خرد و به منظور یکنواخت شدن پودر الک، سپس بسته‌بندی و در جای خشک و خنک نگهداری شدند.

۲-۳- نمونه فاقد پروتئین صمغ دانه بالنگو

نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو توسط هیدرولیز آنزیمی تهیه شد. جهت هضم پروتئین، محلول پلی‌ساکارید (۰/۱ درصد وزنی-وزنی) با پروتئیناز K برای ۳ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر روی همزن قرار گرفت. پس تکمیل عمل هضم، جهت غیرفعال کردن آنزیم، اتانول با نسبت ۳ به ۱ به سیستم اضافه و به مدت ٦ ساعت نگهداری شد. پلی‌ساکارید جدا شده و دوباره در آب حل و محلول حاصل در ۱۵۰۰۰ گرم به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سوپرناتانت به عنوان نمونه فاقد پروتئین جمع‌آوری و نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو نامیده شد. نمونه‌های حاصل در آون تحت دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد خشک شد و سپس از صافی عبور داده، بسته¬بندی و در جای خشک و خنک نگهداری شد [۱۱].

۲-٤- بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

۲-٤-۱- آزمون میزان رطوبت

میزان رطوبت بر اساس استاندارد AOAC (۲۰۰۵)، با خشک کردن نمونه‌ها در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت بدست آمد. نمونه‌ها پس از خروج از آون در دیسکاتور سرد و میزان رطوبت بر مبنای افت وزن محاسبه گردید [۱۲].

۲-٤-۲- آزمون میزان خاکستر

براساس استاندارد AOAC (۲۰۰۵)، جهت اندازه‌گیری میزان خاکستر، ۱ گرم از پودر صمغ‌ها در کروزه‌ای با وزن مخصوص مشخص ریخته و در کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تا سفید شدن کامل نمونه حرارت داده شد. افت وزنی پس از سرد نمونه در دسیکاتور محاسبه و میزان خاکستر بر مبنای وزن خشک گزارش گردید [۱۲].

۲-٤-۳- آزمون میزان پروتئین

میزان پروتئین با استفاده از روش کلدال در ۳ تکرار اندازه‌گیری شد [۱۳].

۲-٤-٤- آزمون تعیین کربوهیدرات کل

میزان قند کل با روش فنل- اسیدسولفوریک و با استفاده از گلوکز به عنوان استاندارد تعیین گردید. به منظور تهیه منحنی استاندارد قند کل، ابتدا محلول استوک گلوکز با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آماده و سپس ۵ غلظت متفاوت (۱۰۰-۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از آن تهیه گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر غلظت به داخل لوله آزمایش منتقل و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول فنل ۵ درصد (وزنی- حجمی) به آن افزوده شد. در ادامه ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به صورت مستقیم به سطح مایع اضافه و پس از مخلوط کردن با ورتکس به منظور تشکیل رنگ تیره، ۱۰ دقیقه به آن زمان داده شد. سپس جذب محلول‌ها در طول موج ٤۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در برابر شاهد گزارش شد. برای قرائت جذب نمونه‌ها، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۰۵ درصد (وزنی-حجمی) استفاده گردید. قند کل نمونه‌ها از طریق میزان جذب-های خوانده شده در دامنه خطی استاندارد محاسبه شد [١٤].

1. *Lallemantia royleana*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

۲-٤-٥- آزمون تعیین اسید ارونیک

جهت اندازه‌گیری میزان اسید ارونیک، ۰/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به ۰/۵ میلی‌لیتر ۰/۰۵ درصد (وزنی- حجمی) صمغ افزوده شد. پس از ۵ دقیقه همزدن مداوم در آب سرد (٤ درجه سانتی‌گراد)، سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۰۰۰ گرم سانتریفوژ شد. ۰/٤ میلی‌لیتر از محلول بالایی به لوله آزمایش منتقل شد و سپس به ٤۰ میکرولیتر محلول سولفات پتاسیم (pH =۱/٦) و ۲/٤ میلی‌مولار سدیم تترابورات در اسید سولفوریک (۷۵ میلی مولار) به آن افزوده گردید. پس از ورتکس کردن، لوله‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در حمام بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد آن به مدت ۱۰ دقیقه درون آب سرد و در محیط تاریک نگهداری شد. در ادامه ۸۰ میکرولیتر m – هیدروکسی دی فنیل به لوله اضافه شد و لوله‌ها سه مرتبه با ورتکس همزده شد. پس از حدود ۱۰ دقیقه جذب محلول‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. د- گالاکتورونیک اسید به عنوان استاندارد در نظر گرفته شد [۱۵].

۲-٤-٦- آنالیز ترکیبات منوساکاریدی

۱ میلی‌لیتر از نمونه خالص شده بوسیله تری فلوئورو استیک اسید (TFA) ۲ مولار به مدت ۸ ساعت در ۱۰۰ درجه هیدرولیز شد. محصول بدست آمده با استفاده از سدیم بروهیدرات و مطابق روش ارائه شده توسط وولفورم و تامسون (۱۹۵۱) احیا شد [۱٦]. فرآیند استیله کردن با افزودن محلول Ac_2o-Pyridine (با نسبت حجمی یک به یک) و به مدت ۲۰ ساعت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. محلول حاصل با استفاده از گاز نیتروژن خشک شده و پس از افزودن اتیل استات به دستگاه GC-MS (Agilent, Japan, Tokoyo, Technology) تزریق گردید. ستون مورد استفاده HP 5923 و گاز حمل کننده نیتروژن و با سرعت ۱/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. دمای اولیه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. دمای ستون به مدت ۲ دقیقه در ٦۵ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد و سپس با سرعت ۷ درجه بر دقیقه تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. دما به مدت ۱۵ دقیقه در این دما ثابت ماند. شناسایی پیک‌ها بر اساس استانداردها و طیف جرمی پیک‌ها انجام گردید [۱۷]. برای تعیین آنالیز قندی صمغ از نتایج استاندارد قندهای گلوکز، گالاکتوز، آرابینور، زایلوز و رامنوز استفاده شد.

۲-٤-۷- اندازه‌گیری وزن ملکولی

وزن مولکولی با استفاده از نانوزتاسایزر بر اساس پراکندگی نور پویا اندازه‌گیری شد [۱۸]. محلول استوک در غلظت ۰/۰۰۳ گرم بر میلی‌لیتر در آب دیونیزه تهیه گردید و به مدت ۲٤ ساعت جهت تکمیل هیدراتاسیون بر روی مخلوط‌کن غلطکی نگهداری شد. محلول‌های تهیه شده سپس در دور rpm ۲۰۰۰ برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا ناخالصی‌ها حذف شود. سپس محلول‌هایی با رقت پایین‌تر از محلول استوک در محدوده ۰/۰۰۰۵ تا ۰/۰۰۲ گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید و وزن مولکولی بر اساس ۳ نقطه غلظت تعیین شد. تمامی محلول‌ها در دو تکرار تهیه و اندازه‌گیری شدند [۱۸].

۲-٤-۸- آزمون تعیین گروه‌های عملگر

جهت انجام طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل به فوریه (FTIR)[1]، پودر نمونه‌ها با پودر برمید پتاسیم با نسبت مشخص مخلوط و از آن قرص تهیه شد و طیف نمونه‌ها توسط دستگاه طیف-سنجی مادون قرمز مورد ارزیابی قرار گرفت. توان تفکیک در گستره ٤۰۰ تا cm^{-1} ٤۰۰۰ برای تمامی موارد انتخاب گردید [۱۹].

۲-۵- اندازه‌گیری خصوصیات امولسیون

۲-۵-۱- روش تهیه امولسیون

امولسیون‌ها صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن در غلظت ۰/۳ درصد (وزنی- وزنی) تهیه شدند. جهت تهیه فاز آبی، پودر صمغ‌ها در غلظت مشخص بر اساس آزمون‌ها و مطالعات پیشین در آب بر روی استایرر همزده شدند و سپس در دمای اتاق بمدت یک شبانه روز روی رولر میکسر نگهداری شدند تا به طور کامل هیدراته شوند. روغن آفتابگردان (۳۰ درصد (وزنی- وزنی) روغن در آب) به صورت قطره‌ای به محلول هیدروکلوئید تحت عمل همزدن (۲۰۰۰ دور در دقیقه) اضافه شد تا یک امولسیون درشت تشکیل شود. امولسیون اولیه تشکیل شده در ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه با هموژنایزر برای ٦ دقیقه در سیکل‌های هموژناسیون- استراحت هموژن شد [۱۹].

۲-۵-۲- توزیع اندازه قطرات

توزیع اندازه قطرات نمونه‌های امولسیونی بلافاصله پس از تولید با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات (Mastersizer 2000, Malvern, UK) در دمای محیط

1. Fourier transform infrared spectroscopy

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

انجام شد. مبنای اندازه‌گیری دستگاه براساس تفکیک تفرق نور است [۲۰].

۲-۵-۳- پایداری امولسیون

امولسیون‌های تهیه شده در g × ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا لایه روغنی بالا جدا شود. حجم بخش جدا شده اندازه‌گیری شد و پایداری امولسیون طبق رابطه ۱ محاسبه گردید [۲۱].

(رابطه ۱)

پایداری امولسیون = (حجم امولسیون اولیه/حجم امولسیون نهایی) × ۱۰۰

۲-۵-٤- بررسی رفتار جریان امولسیون

خصوصیات رئولوژیکی پایای امولسیون‌ها با استفاده از رئومتر پارفیزیکا مجهز به هندسه مخروط – صفحه در دامنه درجه برشی S^{-1} ۱-۱۰۰ و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها پس از ۲٤ ساعت نگهداری در یخچال مورد آزمون قرار گرفتند. با توجه به رفتار غیرنیوتنی امولسیون، به منظور توصیف رفتار رئولوژیکی، داده‌های آزمون (سرعت برشی- تنش برشی) با مدل هرشل بالکی (رابطه ۲) برازش شدند. امولسیون‌ها حداقل در دو تکرار تولید و مورد بررسی قرار گرفتند. در رابطه ۲، τ_{0H}، k_H و n_H به ترتیب تنش تسلیم (Pa)، ضریب قوام ($Pa.s^n$) و شاخص رفتار جریان مدل هرشل- بالکی است [۱۹].

$$\tau=k_H(\gamma^{\cdot})^{nH}+\tau_{0H}$$ (رابطه ۲)

۲-۵-۵- اندازه‌گیری خصوصیات ویسکوالاستیک امولسیون‌ها

خصوصیات ویسکوالاستیک امولسیون‌ها با استفاده از رئومتر مجهز به هندسه مخروط-صفحه در حالت کنترل شده تنش برشی مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا امولسیون‌ها در دو تکرار به روش ذکر شده تهیه و پس از نگهداری در یخچال به مدت ۲٤ ساعت مورد آزمایش قرار گرفتند. ناحیه خطی ویسکوالاستیک امولسیون‌ها با انجام آزمون تابع نوسانی کم (تغییر شکل) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. دمای نمونه با استفاده از پلیتر کنترل شده و جهت حفظ یکنواختی دما در حالت فعال طی آزمون، نمونه‌ها با یک ژاکت محافظ (هود اختصاصی دستگاه) پوشیده شدند. آزمون تنش متغیر در فرکانس ثابت ۱ هرتز و در دامنه تنش ۱۰- ۰/۰۱ پاسکال برای تمامی نمونه‌های امولسیون انجام شد [۲۲، ۲۳].

آزمون فرکانس متغیر که بیان کننده رفتار ویسکوز و الاستیک امولسیون‌ها با تغییر فرکانس زاویه‌ای است. در دامنه فرکانس زاویه‌ای ۱۰- ۰/۱ هرتز و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به آزمون تنش متغیر ناحیه خطی در تنش ثابت ۰/۱ پاسکال بر روی نمونه‌ها بدست آمد و در آزمون فرکانس متغیر اعمال گردید [۲۲، ۲۳]. مدول‌های ذخیره، افت و زاویه فازی مورد بررسی قرار گرفت. جهت برآورد پارامترهای خصوصیات ویسکوالاستیک از نرم افزار فیزیکا رئومتر دیتا آنالیز و متلب استفاده شد.

۲-٦- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج از طریق تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح آماری ۵ درصد صورت گرفت. برای مدل‌سازی و تجزیه تحلیل از نرم افزارهای مربوطه مانند Matlab (2015a)، SPSS 22 و Slide Write استفاده شد و نمودارها توسط Excel 2013 رسم شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی

خصوصیات فیزیکوشیمیایی صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن بر اساس وزن خشک در جدول ۱ ارائه شده است.

Table 1 Yield and chemical composition of Balangu and PF-Balangu (d.b.%)*.

Treatments	Yield	Moisture	Ash	Protein	Total sugar	Uronic acid
Balangu	19.95± 0.12	8.16 ± 0.03^b	9.04± 0.12^a	8.41±0.11^a	72.98±0.14^a	15.16±0.34^a
PF- Balangu	-	9.20±0.12^a	8.72± 0.12^a	0.41±0.23^b	72.35±0.31^a	15.01±0.42^a

* Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at $P \leq 0.05$ by Duncan test.

شناسایی پلی‌ساکاریدها تعیین خالص بودن آن است که با بررسی ترکیبات شیمیایی آن از جمله اندازه‌گیری قند کل، رطوبت، پروتئین و خاکستر منعکس می‌شود [۲٤]. بازده صمغ بالنگو ۱۹/۹۵ درصد (بر مبنای وزن خشک) بود. همانطور که

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

در جدول ۱ مشاهده می‌شود، تفاوت معنی‌داری در پروتئین صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن وجود دارد ($P<0.05$). بیشترین و کمترین محتوای پروتئین نمونه به ترتیب در بالنگو (۸/٤۱ درصد) و نمونه فاقد پروتئین آن (۰/٤۱ درصد) بود. تفاوت معنی‌داری در خاکستر صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن مشاهده نشد ($P>0.05$). محتوی خاکستر صمغ برگ پنیرک ۲/٤۹ درصد [۲۵]، صمغ زانتان ۱/۵ درصد و صمغ عربی ۱/۲ درصد و صمغ گوار ۱۱/۹ درصد است [۲٦]. در این پژوهش، صمغ بالنگو پلی‌ساکارید اسیدی است که مقدار اسید ارونیک آن ۱۵/۱٦ درصد بود. همچنین تغییری در میزان کربوهیدرات کل و اسید اورنیک پس از هیدرولیز پروتئین در نمونه فاقد پروتئین صمغ دانه بالنگو مشاهده نشد. ماهیت منوساکاریدهای هیدروکلوئید بر حلالیت آنها موثر است. هیدروکلوئیدهایی که حاوی اسید اورنیک و ساختار پلی‌الکترولیت بیشتری هستند حلالیت بیشتری نسبت به هیدروکلوئیدهای خنثی دارند [۲۷].

جهانبین و همکاران (۲۰۱۲)، به بررسی و تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی صمغ حاصل از گیاه چوبک پرداختند و در این گزارش مقدار رطوبت صمغ ۱۳/۲ درصد، مقدار پروتئین آن ۰/۹ درصد، مقدار قند کل آن ۸٤/۳ درصد، مقدار اسید اورنیک آن ۱۰/۳ درصد و محتوای خاکستر آن شبیه زانتان و ۱/۵ درصد گزارش شد [۲۸]. مالساو متلونگی و همکاران (۲۰۱٤)، با مطالعه بر روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی صمغ حاصل از گیلاس خودروی هیمالیایی مقدار رطوبت، خاکستر، پروتئین و قند کل را در این صمغ به ترتیب ۹/۲۵، ۲/۵۵، ۲/۳۳ و ۷۳/۷۲ درصد گزارش کردند [۲۹]. فرحناکی و همکاران (۱۳۹۰)، به بررسی صمغ حاصل از دانه شاهی پرداخته و میزان رطوبت آن ٤/۸٤ درصد، مقدار پروتئین آن را ۵/۷۵ درصد و خاکستر آن را ۵/۷۵ درصد گزارش کردند [۳۰]. در این پژوهش، تفاوت معنی‌داری در کربوهیدرات کل صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن مشاهده نشد ($P>0.05$) که میزان آن به ترتیب ۷۲/۹۸ و ۷۲/۳۵ درصد بود. فرهادی (۲۰۱۷)، رضوی و همکاران (۲۰۱۳) و محمدامینی و رضوی (۲۰۱۲) میزان کربوهیدرات کل در صمغ دانه بالنگو به ترتیب ۷۷/۱، ۷۵/۸۷ و ٦۱/۷٤ درصد گزارش کردند [۸، ۳۰، ۱۸]. کویی و مازا (۱۹۹٦)، مقدار قند کل صمغ عربی ۸۵/۷ درصد، صمغ گوار ۷۸/۲ درصد و صمغ زانتان ۸۷/٤ درصد گزارش شده است [۲۵]. منوساکاریدهای سازنده پلی‌ساکاریدها، نوع آنها و نیز پیوندهای گلیکوزیدی از جمله عوامل اثرگذار روی فعالیت بیولوژیک پلی‌ساکاریدها می‌باشند، در نتیجه شناسایی آنها حائز اهمیت فراوان می‌باشد [۳۱]. همانگونه در جدول ۲ مشاهده می‌شود، میزان منوساکاریدهای پس از هیدرولیز پروتئین در نمونه فاقد پروتئین صمغ دانه بالنگو مشاهده نشد.

Table 2 Monosaccharide composition of Balangu and PF- Balangu (d.b.%)*.

Treatments	Glucose	Galactose	Arabinose	Xylose	Rhamnose
Balangu	3.93±0.51[a]	28.31±0.42[a]	25.64±0.35[a]	1.49±0.03[a]	1.24±0.04[a]
PF- Balangu	3.27±0.09[a]	27.48±0.15[a]	26.35±0.26[a]	1.51±0.61[a]	1.25±0.17[a]

* Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at $P \leq 0.05$ by Duncan test.

بر اساس مطالعات انجام گرفته توسط رضوی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که صمغ بالنگو دارای گلوگز ٤/۱۱ درصد، گالاکتوز ۳۳/۵٤ درصد، رامنوز ۱۸/٤٤ درصد، زایلوز ٦/۰۲ درصد و آرابینوز ۳٦/۸۸ درصد (وزنی–وزنی) می‌باشد [۳۰]. ترکیبات منوساکاریدی صمغ دانه بالنگو؛ آرابینوز ۷/۵۵ درصد، رامنوز ۵/٤۵ درصد، مانوز ٦/٤۷ درصد، فروکتوز ۱۹/۱۰ درصد، گالاکتوز ۳۰/۰۳ درصد، D– گالاکتوز ۲/۹٦ درصد، گلوکورونیک اسید ٤/۷۰ درصد، گالاکتورونیک اسید ۱۰/۱۸ درصد، B –D –گلوکز ۵/۸۸ درصد گزارش شده است [۸]. این اختلاف ممکن است مربوط به دلایل مختلفی باشد؛ برای مثال روش استخراج و تکنیک آنالیز کربوهیدرات.

۳-۲- طیف‌سنجی FTIR

طیف‌سنجی FTIR به منظور بررسی گروه‌های عملکردی قندها و کربوهیدرات‌های پیچیده بین ٤۰۰۰-٤۰۰ cm^{-1} برحسب جذب (درصد عبور) برحسب عدد موج (cm^{-1}) از دستگاه اسپکتروفتومتر FTIR استفاده شد. طیف FTIR صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن در شکل ۱ ارائه شده است. پیک‌های ناحیه ۱۲۰۰-۸۰۰ cm^{-1} منطقه "اثر انگشت" برای کربوهیدرات‌ها نامیده می‌شود و شاخص خوبی از تفاوت در ساختار در میان صمغ‌های متفاوت است [۳۲]. صمغ بالنگو در طول موج ۱۱۵۰-۹۹۰ cm^{-1} جذب داشت که مربوط به کشش باند O-C و C-O-C می‌شود، مشاهده باندهای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

cm^{-1} ۱۶۳۰-۱۶۰۰ بیانگر حضور گروه کربوکسیلات آزاد را است [۳۳].

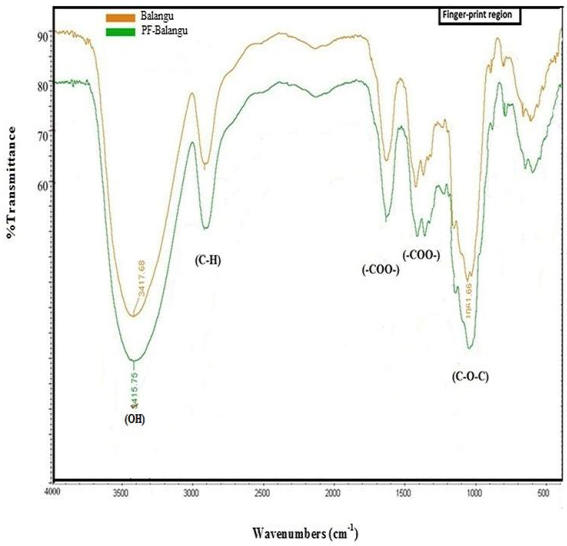

Fig 1 FTIR spectra of Balangu and PF-Balangu

جذب در طول موج ۱۴۰۰ و cm^{-1} ۱۶۰۰ به ترتیب مربوط به کشش متقارن و نامتقارن C-OO است که حضور اسید ارونیک را تایید می‌کند (جدول ۱). حضور جذب در طول موج cm^{-1} ۱۷۰۰-۱۶۰۰ و cm^{-1} ۱۶۰۰-۱۵۰۰ به ترتیب آمید I (ارتعاشات کشش C=O و گروه CN) و آمید II (به طور عمده از NH)، نسبت داده می‌شود که احتمالاً ناشی از حضور پروتئین است [۳۲، ۳۴]. جذب کشش OH به علت پیوندهای هیدروژنی بین و درون ملکولی باعث ایجاد ناحیه گسترده‌ای از جذب بین cm^{-1} ۳۵۰۰-۳۰۰۰ می‌شود که ویژگی‌های متعددی را از جمله گروه‌های هیدروکسیل آزاد که در نمونه‌ها در فاز بخار رخ می‌دهد و باند O-H اسید کربوکسیلیک را نشان می‌دهد [۳۵]. باند جذب گسترده با شدت قوی بین cm^{-1} ۳۰۰۰-۲۸۰۰ (حدود cm^{-1} ۲۹۱۶) اشاره به جذب CH دارد که شامل ارتعاشات کششی CH، CH_2 و CH است [۳۵]. هیچ تفاوتی در منطقه اثر انگشت صمغ دانه بالنگو با نمونه فاقد پروتئین آن مشاهده نشد که نشان می‌دهد که آنزیم پروتئاز بر ساختار پلی‌ساکارید اثر نداشته است. کاهش جذب آشکاری در cm^{-1} ۱۷۰۰-۱۵۰۰ مشاهده شد که منسوب به کاهش پروتئین است که هیدرولیز پروتئین صمغ تحت تاثیر آنزیم را تایید می‌کند (جدول ۱).

۳-۳- وزن ملکولی

همانطور در جدول ۳ مشاهده می‌شود، تفاوت معنی‌داری در وزن ملکولی صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن مشاهده نشد ($P>0.05$).

Table 3 Molecular Weight of Balangu and PF- Balangu

Treatments	Molecular Weight
Balangu	3120±72[a]
PF- Balangu	3360±42[a]

* Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at $P \leq 0.05$ by Duncan test.

وزن ملکولی بالای صمغ دانه بالنگو قابل مقایسه با صمغ‌هایی با وزن ملکولی بالا مانند ریحان (۲۳۲۰ kDa)، زانتان (kDa ۴۲۰۰)، گوار (kDa ۵۰-۸۰۰۰)، اسفرزه (۱۵۰۰ kDa)، کارایا (۱۰۰۰۰ kDa)، دانه اقاقیا (kDa ۳۰۰۰-۵۰) است [۳۶- ۴۰]. از سوی دیگر، صمغی مانند آکاسیا سنگال (kDa ۱۶۰-۳۰۰)، آکاسیا سیال (kDa ۲۰۶-۹۲۸)، کونجاک مانان (۳۰۰ kDa)، صمغ کتیرا (۸۴۰ kDa)، صمغ دانه شاهی (۵۴۰ kDa)، صمغ دانه قدومه شهری (۳۶۶ kDa) و صمغ دانه مرو (۴۰۰ kDa) دارای وزن ملکولی کمتر و ویسکوزیته ذاتی پایین‌تر هستند [۳۸، ۴۱، ۴۲، ۴۳].

۳-۴- خصوصیات امولسیون‌کنندگی

۳-۴-۱-توزیع اندازه ذرات امولسیون

قطر متوسط (MD^1) و انحراف استاندارد (SD^2، عرض توزیع اندازه ذرات امولسیون) در جدول ۴ گزارش شده است. همانگونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، امولسیون صمغ بالنگو دارای اندازه ذرات ۵/۱۲ µm بود. بزرگترین قطرات روغن توسط نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو (۱۱/۲۳ µm) با کمترین محتوی پروتئین (۰/۴۱ درصد) حاصل شد. با حذف پروتئین، تمایل نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو برای جذب سطحی بر روی سطوح بینابینی روغن و آب کاهش می‌یابد و قطرات بزرگتری در زمان هموژنیزاسیون حاصل می‌شود (جدول ۴).

این یافته با نتایج ناجی و رضوی (۲۰۱۶) و اوسانو و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد، به طوریکه آنها گزارش نمودند کاهش پروتئین صمغ ریحان منجر به افزایش اندازه قطرات امولسیون می‌شود [۱۹، ۲۲].

1. Mean Diameter
2. Standard deviation

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]
[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

Table 4 The particle size of emulsions of Balangu and PF-Balangu at 0.3% w/w

Emulsion		Particle size parameters (μm)
PF- Balangu	Balangu	
11.23±0.24[a]	5.12±0.17 [b]	MD (μm)
0.41	0.23	SD (-)

[*] Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at $P \leq 0.05$ by Duncan test.

۳-٤-۲- پایداری امولسیون‌ها

پایداری امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب ۰/۲۵±۷۲/۵ و ۰/۲۲±٦۱/٤ درصد بود. در این پژوهش، اندازه قطرات روغن امولسیون صمغ بالنگو باعث پایداری بیشتری نسبت به نمونه فاقد پروتئین آن شد. در مقابل، قطرات روغن درشت و توزیع اندازه پراکنده امولسیون نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو به جدا شدن سریع گرانشی آن کمک کرد. نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو کمترین میزان پروتئین را دارا بود و این منجر به بزرگ شدن قطرات و پایداری کمتر امولسیون گردید. این یافته با نتایج دیکنسون و همکاران (۱۹۸۸)، مطابقت دارد که ارتباطی قوی بین میزان پروتئین و خصوصیات امولسیون‌کنندگی صمغ عربی گزارش کردند [٤٤]. به طور مشابه، راندال و همکاران (۱۹۸۸)، توضیح دادند که ترکیب پروتئینی مسئول خصوصیات امولسیون‌کنندگی است [٤٥]. اسمان و همکاران (۲۰۱۱)، نیز بیان داشتند که خصوصیات امولسیون‌کنندگی و پایدارسازی اجزای حاصل از صمغ آکاسیا بستگی به توزیع بخش‌های پروتئینی دارد [٤٦].

۳-٤-۳- خصوصیات رئولوژیکی برشی پایا امولسیون‌ها

پارامترهای حاصل از برازش داده‌های رئولوژیکی امولسیون با مدل هرشل-بالکی در جدول ۵ گزارش شده است. ضریب تبیین (R^2) مدل هرشل-بالکی بسیار نزدیک به ۱ بود و خطای جذر میانگین مربعات (RMSE) کمتر از ۰/٤ بدست آمد، که نشان از مناسب بودن این مدل برای توصیف رفتار جریان امولسیون‌های تولیدی دارد. شاخص رفتار جریان (n) بیانگر رفتار جریان امولسیون است، که در پژوهش، شاخص رفتار جریان (n) امولسیون صمغ بالنگو و امولسیون آن کمتر از ۱ بود، که تاییدکننده رفتار تضعیف‌شونده با برش امولسیون‌ها است، اما تفاوت معنی‌داری بین امولسیون‌ها مشاهده نشد ($P>0.05$). دلیل رفتار تضعیف‌شونده با برش این امولسیون‌ها می‌تواند حضور هیدروکلوئیدهای جذب‌نشده باشد که رفتار تضعیف‌شونده با برش ایجاد می‌کنند [٤٧]. نتایج نشان می‌دهند که هیدروکلوئیدهای جذب نشده خواص رئولوژیکی امولسیون را کنترل می‌کنند که با مشاهدات حسینی پرور و همکاران (۲۰۱۰) و اوسانو و همکاران (۲۰۱٤) که به ترتیب رفتار تضعیف‌شونده با برش محلول صمغ ریحان و امولسیون آن را گزارش نموده‌اند، هم‌خوانی دارد [٤۸، ۲۲]. نتایج ارائه شده در جدول ۵ نشان می‌دهد که امولسیون‌های حاوی صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب، ۱/۲۹ $Pa.s^n$ و ۱/۲۳ $Pa.s^n$ ضریب قوام (k) را دارند. در سیستم‌های امولسیونی دارای تنش تسلیم پدیده‌ای خامه‌ای شدن مهار می‌شود زیرا تنش اعمال شده از طرف قطره برای حرکت از طریق فاز پیوسته کمتر از تنش تسلیم است [٤۹]. امولسیون نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو (۲/۳۲ Pa) در مقایسه با صمغ بالنگو (۲/۹۲ Pa) تنش تسلیم کمتری داشت که احتمالاً ناشی از اندازه قطرات بزرگتر امولسیون تشکیل شده در حضور نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو است (جدول ۵).

Table 5 Steady shear rheological parameters of Balangu and PF- Balangu emulsions determined by Herschel-Bulkley model (20 °C)[*].

Parameters	Balangu	PF- Balangu
τ_{0H} (Pa)	2.92±0.42[a]	2.3±0.03[b]
k_H ($Pa.s^n$)	1.29±0.12[a]	1.49±0.03[a]
n_H	0.35±0.03[a]	0.36±0.03[a]
R^2	0.994	0.998
RMSE	0.375	0.189

[*] Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at $P \leq 0.05$ by Duncan test.

۳-٤-٤- خصوصیات رئولوژیکی دینامیک

۳-٤-٤-۱- آزمون تنش متغیر

به منظور تعیین ناحیه خطی ویسکوالاستیک (LVE)، آزمون دامنه نوسانی در دامنه تنش ۱۰-۰/۰۱، دمای ثابت ۲۰°C و فرکانس ۱Hz انجام گرفت. پارامترهای استخراج شده از این آزمون شامل مدول ذخیره (G'_{LVE})؛ مدول اتلاف (G''_{LVE})؛ مقدار تانژانت اتلاف ($Tan\delta_{LVE}$)؛ تنش تسلیم در حد ناحیه خطی ویسکوالاستیک (τ_Y)؛ تنش نقطه جریان (τ_f) و مدول متناظر[1] (G_f: G'= G") در جدول ٦ نشان داده شده است.

1. Corresponding modulus

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

Table 6 Linear viscoelastic (LVE) parameters of Balangu and PF- Balangu emulsions (storage modulus G' (LVE); loss modulus G" (LVE); loss tangent value (Tan δ_{LVE}) in the linear viscoelastic range, yield stress at the limit of the LVE range (τ_Y), and flow-point stress (τ_f); corresponding modulus Gf: G' = G") (stress sweep tests, *f* = 1 Hz, 20 ˚C)*.

Emulsion	G' ($_{LVE}$) (Pa)	G'' ($_{LVE}$) (Pa)	Tanδ_{LVE}	τ_Y(Pa)	τ_f(Pa)	G_f (Pa)
Balangu	24.52±0.24[a]	8.36±0.29[a]	0.26±0.01[a]	1.45±0.48[a]	2.82±0.22[a]	6.48±0.18[a]
PF- Balangu	22.19±0.35[a]	7.74±0.34[a]	0.25±0.03[a]	1.38±0.06[a]	2.38±0.14[a]	6.04±0.08[a]

* Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at P ≤ 0.05 by Duncan test.

در صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن، مقدار مدول ذخیره بیشتر از مدول اتلاف بود که غالب بودن رفتار الاستیک را نشان می‌دهد. صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن خصوصیات الاستیک امولسیون را تقویت نمود (بترتیب Pa ۲٤/۵۲ و ۲۲/۱۹ در محدوده LVE). مدول اتلاف امولسیون‌های صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین به ترتیب Pa ۸/۳٦ و Pa ۷/۷٤ بود (جدول ٦). مقدار تانژانت اتلاف ناحیه ویسکوالاستیک خطی (Tan δ_{LVE}) صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب ۰/۲٦ و ۰/۲۵ درجه بود. تمامی نمونه‌ها تانژانت اتلاف بزرگتر از ۰/۱ ارائه دادند، بنابراین سیستم‌های امولسیونی حاوی صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به عنوان یک ژل ضعیف در نظر گرفته می‌شوند که رفتار معمول از امولسیون است [۵۰]. مقدار تنش تسلیم دینامیک (τ_Y) امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب Pa ۱/٤۵ و Pa ۱/۳۸ بود، تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0.05$) (جدول ٦). نقطه جریان (τf) و مدول متناظر که نشان‌دهنده انتقال از رفتار جامد گونه به مایع گونه هستند [۵۱]. مقدار بالاتر تنش تسلیم امولسیون صمغ بالنگو در مقایسه با امولسیون نمونه فاقد پروتئین آن بدان معنی است که شبکه ژل قوی‌تر در امولسیون حاوی صمغ بالنگو تشکیل شده است. نتایج تنش تسلیم دینامیکی (جدول ٦) با نتایج تنش تسلیم در اندازه‌گیری پایا (جدول ۵) روند مشابهی داشتند. علاوه بر این، تنش نقطه جریان (τ_f) امولسیون‌ها (جدول ٦) بسیار مشابه مقادیر حاصل مدل هرشل – بالکی بود (جدول ۵).

۳-٤-٤-۲- آزمون فرکانس متغیر

جدول ۷ تغییرات در مدول ذخیره (G')، مدول اتلاف (G") امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن را توسط آزمون فرکانس متغیر می‌باشد.

Table 7 Storage modulus (G'), loss modulus (G") and Complex viscosity (η*) of Balangu and PF-Balangu emulsions determined by frequency sweep test at f = 1 Hz and 20 ˚C*.

Emulsion	G'(Pa)	G''(Pa)	η^* (Pa.s)	Tan δ	slope of η^*
Balangu	34.28±0.52[a]	12.38±0.63[a]	5.31±0.07[a]	0.29±0.03[a]	-0.93± 0.03[a]
PF- Balangu	18.38±1.14[b]	7.52±0.39[b]	4.82±0.53[b]	0.24±0.06[a]	-0.99± 0.07[a]

* Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at P ≤ 0.05 by Duncan test.

در تمامی نمونه‌های امولسیون میزان G' بیشتر از G" (Hz ۱۰-۰/۱) بود که رفتار شبه جامد امولسیون‌ها را تایید می‌کند. چنین رفتاری توسط اسانو و همکاران (۲۰۱٤) نیز مشاهده گردید که در امولسیون صمغ ریحان (غلظت‌های ۰/۳- ۰/۱ درصد وزنی- وزنی) مدول الاستیک بالاتر از مدول ویسکوز است [۲۲]. مدول الاستیک امولسیون صمغ بالنگو بطور قابل توجهی نسبت به امولسیون نمونه فاقد پروتئین آن بالاتر قرار دارد ($p<0.05$). مقدار تانژانت اتلاف حاصل از آزمون فرکانس متغیر امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب ۰/۲۹ و ۰/۲٤ بود که ساختار ضعیف جامد گونه امولسیون‌ها را تایید کرد. مقدار η^* امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب (Pa.s) ۵/۳۱ و (Pa.s) ٤/۸۲ بود. همچنین شیب منحنی η^*-*f* امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب ۰/۹۳- و ۰/۹۹- بود (جدول ۷). وابستگی بین G' و G' با فرکانس از توابع قانون توان (معادله‌های ٦ و ۷) ارزیابی شد (جدول ۷). که در آن ω فرکانس نوسانی است، b و d شاخص‌های قانون توان در مدول ذخیره و اتلاف می‌باشند برای ژل کووالانسی، ۰= b، در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

حالی‌که برای ژل فیزیکی b>۰ است. در مقادیر b نزدیک به ۱، سیستم به صورت یک ژل ویسکوز رفتار می‌کند. بنابراین در مقادیر b و d نزدیک به صفر، G' و G" با فرکانس تغییر نمی-کنند و الاستیسیته بالای ساختار را نشان می‌دهند [٤٣].

$$G' = a\omega^{b} \quad (٦)$$

$$G'' = c\omega^{d} \quad (٧)$$

ارزش b امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن نزدیک به صفر بود (به ترتیب ۰/۰٦ و ۰/۰۵) که بیانگر رفتار الاستیک قوی‌تر در امولسیون است زیرا در مقادیر b و d نزدیک به صفر، G' و G" با فرکانس تغییر نمی‌کنند الاستیسیته بالای ساختار را نشان می‌دهد [٤٣]. ارزش d امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب ۰/۱۹ و ۰/۲۵ بود (جدول ۸).

Table 8 Power-law parameters calculated for the storage and loss moduli of Balangu and PF-Balangu emulsions (frequency sweep test (τ = 0.1 Pa, 20 ◦C)*.

Emulsion	$G' = a\omega^b$			$G'' = c\omega^d$		
	b	R^2	RMSE	d	R^2	RMSE
Balangu	0.06±0.02[a]	0.974	0.439	0.19± 0.02[a]	0.996	0.283
PF- Balangu	0.05±0.03[a]	0.991	0.326	0.25±0.05[a]	0.989	0.193

* Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at P ≤ 0.05 by Duncan test.

٤- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، خصوصیات ساختاری و عملکردی نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، بازده صمغ بالنگو ۱۹/۹۵ درصد (بر مبنای وزن خشک) بود. تفاوت معنی‌داری در میزان رطوبت، خاکستر، کربوهیدرات و اسید ارونیک صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن مشاهده نشد (P>0.05). صمغ دانه بالنگو پلی‌ساکارید اسیدی است که مقدار اسید ارونیک آن ۱۵/۱٦ درصد بود. اما میزان پروتئین به طور معنی‌داری بین صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن متفاوت بود (P<0.05). گروه‌های عمده عملکردی شناسایی شده در طیف FTIR از صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن شامل O-H، C-H، C=O، -COO- و C-O-C بود. نتایج حاصل از GC-MS نشان داد، منوساکاریدهای مشخص شده در صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن شامل گلوکز، گالاکتوز، آرابینور، زایلوز و رامنوز بود. بر اساس نتایج حاصل از آزمون‌های رئولوژیکی، نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو کمترین میزان پروتئین را دارا بود و این منجر به بزرگ شدن قطرات و پایداری کمتر امولسیون گردید. همچنین صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن در ۱ درصد وزنی-وزنی رفتار شبه جامد و تضعیف شونده با برش از خود نشان دادند، اما تفاوت معنی‌داری بین امولسیون‌ها مشاهده نشد (P>0.05). در آزمون تنش متغیر و فرکانس متغیر، امولسیون صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن، مقدار مدول ذخیره بیشتر از مدول اتلاف بود که غالب بودن رفتار الاستیک را نشان می‌دهد. همچنین مقدار تانژانت اتلاف حاصل از آزمون فرکانس متغیر امولسیون ساختار ضعیف جامد گونه امولسیون‌ها تایید نمود.

٥- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پژوهشکده علوم و صنایع غذایی که امکانات آزمایشگاهی جهت انجام این پژوهش را فراهم نمودند کمال تشکر را داریم.

٦- منابع

[1] Farahnaky, A., Bakhshizadeh-Shirazi, Sh., Mesbahi, Gh., Majzoobi, M., Rezvani, E. and Schleining, G. 2013. Ultrasound-assisted isolation of mucilaginous hydrocolloids from Salvia macrosiphon seeds and studying their functional properties. Innovative Food Science and Emerging Technologies, http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2013.06.003.

[2] Amid, B. T. and Mirhosseini, H. 2012. Influence of different purification and drying methods on rheological properties and viscoelastic behaviour of durian seed gum. Carbohydrate Polymers, 90: 452– 461.

[3] Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. Food Hydrocolloids, 17: 25-39.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

[4] Razavi, S. M. A., Mohammadi Moghaddam, T., Emadzadeh, B. and Salehi F. 2012. Dilute solution properties of wild sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum. Food Hydrocolloids, 29: 205-210.

[5] Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, S. and Gorbani, A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from etnobotany to pharmacology. Iranian Phamaceutical Research, 2: 63-79

[6] Razavi, M. and Karazhiyan, H. 2009. Flow properties and thixotropy of selected hydrocolloids: experimental and modelling studies. Food hydrocolloids, 23: 908-912.

[7] Mohammad Amini, A. 2007. Extraction optimization of Balangu seed gum and effect of Balangu seed gum on the rheological and sensory properties of Iranian flat bread, MSc. thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

[8] Farhadi, F. 2017. Structural elucidation of a water-soluble polysaccharide isolated from Balangu shirazi (*Lallemantia royleana*) seeds. Food Hydrocollids, 72: 263-270.

[9] Amin, GH. 2006. Popular medicinal plants of Iran. Official Website of Tehran University of Medical Sciences, Tehran, p 60.

[10] Mirhaydr, H. 1985. Plant Sciences (application of plants in the prevention and treatment of diseases). Volume III, First Edition.

[11] Francuskiewicz, F. 1994. Polymer fractionation. Springer.

[12] AOAC. 2005. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International.

[13] Jahanbin, K. 2011. Extraction, identification and structural characterization of the main water-soluble polysaccharide from *Acanthophyllum bracteatum* root. Ph.D thesis in Food Science and Technology , Faculty of Agriculture, Tehran University.

[14] Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry,* 28**:** 350-356.

[15] Blumenkrantz, N. and Asboe-Hansen, G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. Analytical biochemistry**,** 484-9.

[16] Wolfrom, M. and Thompson, A. 1963. (20) Reduction with Sodium Borohydride. Methods in carbohydrate chemistry, Vol. II: reactions of carbohydrates, 65-67.

[17] Simas-Tosin, F., Wagner, R., Santos, E., Sassaki, G., Gorin, P. and Iacomini, M. 2009. Polysaccharide of nectarine gum exudate: Comparison with that of peach gum. Carbohydrate Polymers, 76(3): 485-487.

[18] Mohammad Amini, A. and Razavi, S. 2012. Dilute solution properties of Balangu (*Lallemantia royleana*) seed gum: Effect of temperature, salt, and sugar. International journal of biological macromolecules, 51: 235-243.

[19] Naji-Tabasi, S. and Razavi. S.M.A. 2016. New studies on basil (*Ocimum bacilicum* L.) seed gum: Part II—Emulsifying and foaming characterization. Carbohydrate Polymers. 149: 140–150.

[20] Naji, S., Razavi, S. and Karazhiyan, H. 2012. Effect of thermal treatments on functional properties of cress seed (*Lepidium sativum*) and xanthan gums: A comparative study. Food Hydrocolloids. 28: 75-81.

[21] Naji-Tabasi, S. and Mohebbi, M. 2015. Evaluation of cress seed gum and xanthangum effect on macrostructure properties of gluten-free bread by imageprocessing. Journal of Food Measurement and Characterization. 9: 110–119.

[22] Osano, J. P., Hosseini-Parvar, S. H., Matia-Merino, L. and Golding, M. 2014. Emulsifying properties of a novel polysaccharide extracted from basil seed (*Ocimum bacilicum* L.): Effect of polysaccharide and protein content. Food Hydrocolloids, 37: 40-48.

[23] Naji-Tabasi, S. and Razavi, S.M.A. 2015. New studies on basil (*Ocimum bacilicum* L.) seed gum: part III–Steady and dynamic shear rheology. Food Hydrocolloids. [in press].

[24] Brummer, Y., Cui, S.W. 2005. Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Prpperties and Application. CRC Press, Boca Raton, FL, 67-104.

[25] Cui, W. and Mazza, G. 1996. Physicochemical characteristics of flaxseed gum. Food Research International. 29(3-4): 397-402.

[26] Balaghi, S. 2015. Development of Rheo-Additives and their Applications in Food Technology. epubli.

[27] Jahanbin, K., Moini, S., Gohari, A. R., Emam-Djomeh, Z. and Masid, P. 2012. Isolation, purification and characterization of a new gum from Acanthophyllum bracteatum roots. Food Hydrocolloids, 27: 14-21.

[28] Malsawmtluangi, C., Thanzami, K., Lalhlenmawia, H., Selvan, V., Palanisamy, S., Kandasamy, R. and Pachuau, L. 2014. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of Prunus cerasoides D. Don gum exudates. International Journal of Biological Macromolecules, 69: 192–199.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

[29] Farahnaki, A., Askari, H. and Bakhtiari, M. 2011. An Investigating of Some Rheological Properties of Garden Cress Seed Mucilage. 42(1): 113-120.

[30] Razavi, S.M.A., Cui, S. and Ding, H. 2013. Physicochemical characteristics of Balangu (*Lallemantia royleana*) seed gum, in press.

[31] Tabarsa M., Han J. H., Kim C.Y. and You S.G. 2012. Molecular characteristics and immunomodulatory activities of water-soluble sulfated polysaccharides from Ulva pertusa, Journal of medicinal food, 15(2): 135-144.

[32] Guo, Q., Cui, S. W., Wang, Q., Hu, X., Guo, Q., Kang, J. and Yada, R. 2011. Extraction, fractionation and physicochemical characterization of water-soluble polysaccharides from *Artemisia sphaerocephala* Krasch seed. Carbohydrate Polymers, 86**:** 831-836.

[33] Karazhiyan, H., Razavi, S., Phillips, G. O., Fang, Y., Al□Assaf, S. and Nishinari, K. 2011. Physicochemical aspects of hydrocolloid extract from the seeds of *Lepidium sativum.* International Journal of Food Science & Technology, 46**:** 1066-1072.

[34] Goormaghtigh, E., Ruysschaert, J.-M. and Raussens, V. 2006. Evaluation of the information content in infrared spectra for protein secondary structure determination. Biophysical journal, 90**:** 2946-2957.

[35] Kong, F., Zhang, M., Liao, S., Yu, S., Chi, J. and Wei, Z. 2010. Antioxidant activity of polysaccharide-enriched fractions extracted from pulp tissue of Litchi Chinensis sonn. Molecules, 15: 2152-2165.

[36] Naji-Tabasi, S., Razavi, S.M.A., Mohebbi, M. and Malaekeh-Nikouei, B. 2016. New studies on basil (*Ocimum bacilicum* L.) seed gum: Part I -Fractionation, physicochemical and surface activity characterization. Food Hydrocolloids, 52: 350-358.

[37] Faria, S., de Oliveira Petkowicz, C. L., de Morais, S. A. L., Terrones, M. G. H., de Resende, M. M., de França, F. P. and Cardoso, V. L. 2011. Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. Carbohydrate Polymers, 86: 469-476.

[38] Harding, S. E. and Adams, G. G. 2002. An introduction to polysaccharide biotechnology.CRC Press.

[39] Imeson, A. 2011. Food stabilisers, thickeners and gelling agents. John Wiley & Sons.

[40] Milani, J. and Maleki, G. 2012. Hydrocolloids in food industry. INTECH Open Access Publisher.

[41] Karazhiyan, H., Razavi, S., Phillips, G. O., Fang, Y., Al-Assaf, S., Nishinari, K. and Farhoosh, R. 2009. Rheological properties of *Lepidium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. Food hydrocolloids, 23: 2062-2068.

[42] Razavi, S. M. A., Cui, S. W., Guo, Q. and Ding, H. 2014. Some physicochemical properties of sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum. Food Hydrocolloids, 35: 453-462.

[43] Hesarinejad, M. A., Razavi, S. M. and Koocheki, A. 2015. *Alyssum homolocarpum* seed gum: Dilute solution and some physicochemical properties. International journal of biological macromolecules, 81: 418-426.

[44] Dickinson, E., Murray, B. S., Stainsby, G. and Anderson, D. M. 1988. Surface activity and emulsifying behaviour of some Acacia gums. Food Hydrocolloids, 2: 477- 490.

[45] Randall, R., Phillips, G. and Williams, P. 1988. The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic. Food Hydrocolloids, 2: 131-140.

[46] Osman, A., Osman, M., Hassan, E., Al-Assaf, S., Andres-Brull, M. and Phillips, G. 2011. Characterisation, Fractionation and Emulsification Properties of Acacia Polyacantha Gums.

[47] Song, K.-W., Kim, Y.-S. and Chang, G.-S. 2006. Rheology of concentrated xanthan gumsolutions: Steady shear flow behavior. Fibers and Polymers, 7: 129-138.

[48] Hosseini-Parvar, S., Matia-Merino, L., Goh, K., Razavi, S. and Mortazavi, S. 2010. Steady shear flow behavior of gum extracted from *Ocimum basilicum* L. seed: Effect of concentration and temperature. Journal of food engineering, 101: 236-243.

[49] McClements, D. J. 2004. Food emulsions: principles, practices, and techniques. CRC press.

[50] Mandala, I., Savvas, T. and Kostaropoulos, A. 2004. Xanthan and locust bean gum influence on the rheology and structure of a white model-sauce. Journal of Food Engineering, 64: 335-342.

[51] Hidalgo-Álvarez, R. 2009. Structure and functional properties of colloidal systems. CRC Press.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]

Enzymatic purification of Balangu seed (*Lallemantia royleana*) gum and evaluation of its physicochemical and emulsifying properties

Sardarodiyan, M. [1], Arianfar, A. [1*], Mohamadi Sani, A. [1], Naji-Tabasi, S. [2]

1. Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran
2. Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran

(Received: 2018/11/14 Accepted:2019/10/15)

Gums are long chain polysaccharides components with high molecular weight wildly used in the food and many other industries as stabilizer, texture modifier, gelling agent, thickener and emulsifier. The aim of this study was to investigation evaluation of physicochemical and emulsifying properties of protein-free balangu seed (*Lallemantia royleana*) gum. The results showed, balangu and protein-free balangu were obtained from molecular weight 3120 and 3360 kDa, respectively. Major functional groups were identified from FTIR spectrum of balangu and protein-free balangu, include O-H, C-H, C=O, -COO-, and C-O-C. The results of GC-MS showed that the major monosaccharides specified in Glucose, Galactose, Arabinose, Xylose and Rhamnose. According to the rheological protein-free balangu had the lowest protein content and this led to formation of large oil droplet size and lower emulsion stability. The parameters of Herschel–Bulkley model were showed, the values of coefficients of determinations (R^2) were near to 1 and Root Mean Square Error (RMSE) values were lower than 0.4, which indicate the suitability of this model to describe the flow behaviour of samples. Moreover all emulsions represented flow behaviour index values less than 1, which reveals shear thinning behaviour of emulsions, but no significant difference was found between emulsions ($p>0.05$). On amplitude sweep test, the storage modulus values were greater than loss modulus values in all emulsions, which indicates their elastic behaviour. On frequency sweep test, the storage modulus values were greater than loss modulus values in all emulsions, which confirmed solid like behavior. The indices of power law's storage modulus balangu and protein-free balangu emulsions had near to zero which reflect high elastic behaviour of emulsion.

Keywords: Balangu seed, Protein-free, Viscoelastic, FTIR ،GC-MS.

*Corresponding Author Email Address: a_aria_1443@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

[DOI: 10.29252/fsct.16.95.4]