

تشکیل کمپلکس محلول پروتئین‌های شیر-بخش محلول صمغ‌های بومی ایرانی و بررسی تاثیر غلظت بسپارهای زیستی بر رفتار فازی سامانه‌ها

فاطمه آذری کیا^۱، سلیمان عباسی^{۲*}، زهره حمیدی^۲، محمدحسین عزیزی^۳

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

با توجه به این که معمولا جاذبه‌ی الکترواستاتیک بین پروتئین‌ها و بسپارقندی‌های دارای بار مخالف منجر به تولید سامانه‌ی کلونیدی پایدار یا وقوع پدیده‌ی کواسرواسیون می‌شود. لذا، در این تحقیق رفتار فازی مخلوط پروتئین‌های شیر (کازئینات سدیم یا ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر) با بخش محلول صمغ-های بومی ایرانی (صمغ فارسی یا کتیرا) در غلظت ۰/۴ درصد از پروتئین و غلظت‌های ۱ تا ۲ درصد بخش محلول کتیرا و تا ۲ درصد صمغ فارسی به صورت تابعی از pH (۷-۲) مورد مطالعه قرار گرفت تا نسبت مناسب پروتئین: بسپارقندی برای تهیه‌ی کمپلکس‌هایی که در دامنه‌ی وسیعی از pH پایدار باشند به دست آید. نتایج حاصل از این بررسی نشان دادند که مخلوط کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی، کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا، ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی-بخش محلول صمغ فارسی و ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی-بخش محلول کتیرا به ترتیب در نسبت‌های ۰/۴:۰/۶، ۰/۴:۰/۲ و ۰/۴:۱ در محدوده‌ی pH ۷-۲ به صورت کمپلکس‌های پایدار بوده و پدیده‌ی کواسرواسیون مشاهده نشد. به علاوه، بررسی افزایش غلظت کل بسپارهای زیستی (در نسبت یکسان) نشان داد که افزایش غلظت، تفاوتی در رفتار فازی کمپلکس‌ها نداشت. همچنین، بررسی رفتار فازی مخلوط پروتئین‌های شیر-بخش نامحلول در الکل بخش محلول در آب صمغ‌های بومی نشان داد که احتمالا هر دو بخش محلول و نامحلول در الکل بخش محلول در آب صمغ‌های بومی در ایجاد پایداری در نسبت‌های بیان شده نقش دارند.

کلید واژگان: کتیرا، صمغ فارسی، کمپلکس پروتئین-بسپارقندی، دافعه‌ی الکترواستاتیک.

* مسئول مکاتبات: sabbasfood@modares.ac.ir

۱- مقدمه

اصولا بسپارهای زیستی (پروتئین‌ها و بسپارقندی‌ها) را می‌توان از طریق پیوندهای کوالانسی و غیرکوالانسی به یکدیگر متصل نمود. جاذبه‌ی الکترواستاتیک که در دسته‌ی پیوندهای غیرکوالانسی قرار دارد می‌تواند در محلول آبی پروتئین‌ها و بسپارقندی‌های دارای بار مخالف منجر به متصل شدن این بسپارها به یکدیگر شود؛ به-عنوان مثال، پروتئین‌ها در pH های پایین‌تر از نقطه‌ی ایزوالکتریک می‌توانند به بسپارقندی‌های آنیونی متصل شوند که این اتصال یا منجر به ایجاد کمپلکس‌های محلول می‌شود و یا به دوفاز شدن سامانه منتهی می‌گردد [۱، ۲ و ۳]. دوفاز شدن سامانه یا پدیده‌ی کواسرواسیون نیز منجر به ایجاد دو ناحیه‌ی غنی از بسپارهای زیستی و غنی از حلال می‌شود که در چنین حالتی، جاذبه‌ی الکترواستاتیک بین بسپارهای زیستی در قوی‌ترین حد ممکن می‌باشد [۴]. از طرف دیگر، بسپارهای زیستی دارای بار یکسان یا بدون بار، منجر به وقوع ناسازگاری ترمودینامیکی در سامانه می‌شوند [۱]. به‌هرحال، کمپلکس‌های پایدار پروتئین- بسپارقندی می‌توانند به‌عنوان حامل ترکیبات سودمندی مانند ویتامین D₂ در صنعت غذا کاربرد داشته باشند [۵].

همان‌گونه که اشاره شد، واکنش الکترواستاتیک در محدوده‌ی pH پایین‌تر از نقطه‌ی ایزوالکتریک پروتئین و بالاتر از pKa بسپارقندی اتفاق می‌افتد [۶]. هر چه pH پایین‌تر از نقطه‌ی ایزوالکتریک باشد، پروتئین بار مثبت بیشتری داشته و پیوند قوی-تری با بسپارقندی‌های آنیونی برقرار می‌کند؛ البته، تشکیل کمپلکس بین پروتئین و بسپارقندی در pH بالاتر از نقطه‌ی ایزوالکتریک پروتئین نیز امکان‌پذیر است [۷]. لازم به ذکر است که ویژگی-های بسپارزیستی (نوع، گروه‌های فعال، طول زنجیر، شاخه‌های جانبی، انعطاف‌پذیری، آب‌گریزی، نسبت اختلاط و غلظت) و ویژگی‌های حلال (pH و قدرت یونی) از جمله مهم‌ترین عوامل تعیین کننده میزان جاذبه‌ی الکترواستاتیک بین بسپارهای زیستی می‌باشند. به طوری که برای مثال با افزایش قدرت یونی، از طریق غربال کردن بار سطحی ذرات کلئیدی، می‌توان از تشکیل

کمپلکس جلوگیری کرد [۶]. در همین راستا گزارش شده است که NaCl در غلظت بیش از ۴۵ میلی‌مول به طور نسبی از تشکیل کمپلکس ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-کاراگینان ممانعت و در غلظت ۱ مولار به طور کامل جلوگیری می‌نماید [۸].

در یک دهه‌ی اخیر تحقیقات متعددی در رابطه با ایجاد جاذبه‌ی الکترواستاتیک بین پروتئین‌ها و بسپارقندی‌ها انجام شده است. گروهی از محققین واکنش‌های بین کازئینات سدیم و صمغ زانتان را در محلول آبی مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند که غلظت زانتان، pH و قدرت یونی از عوامل تاثیرگذار بر تشکیل کمپلکس بوده و امکان برقراری کمپلکس بدون حضور نمک وجود نداشته است [۹]. لیو و همکاران تاثیر pH، غلظت نمک و نسبت بسپارهای زیستی در تشکیل کمپلکس بین ایزوله‌ی پروتئین نخود و صمغ عربی را مطالعه نمودند [۱۰] و ویژگی‌های عملکردی (خصوصیات امولسیون‌کنندگی، کف‌کنندگی و حلالیت) کمپلکس را بررسی نموده و نشان دادند حضور صمغ علاوه بر بهبود پایداری امولسیون و کف موجب افزایش حلالیت در pH های اسیدی شد [۱۱]. در ضمن، تاکنون از واکنش الکترواستاتیک بین بخش محلول صمغ کتیرا و کازئین به‌منظور جلوگیری از دوفاز شدن دوغ [۱۲] و نیز از جاذبه‌ی الکترواستاتیک بین بخش محلول صمغ فارسی و کازئین در پایداری سازی شیر-آب پرتقال استفاده شده است [۱۳]. به‌علاوه، محققین اشاره کرده‌اند که اتصال پروتئین‌ها و بسپارقندی‌ها در سطح گویچه‌های چربی منجر به ایجاد یک لایه‌ی ضخیم در سطح مشترک روغن-آب شده و سبب افزایش پایداری امولسیون تحت شرایط نامساعد محیطی (pH اسیدی، قدرت یونی بالا، اعمال حرارت و فرایند انجماد-انجمادزدایی) می‌شود [۶].

کتیرا عصاره‌ی خشک شده‌ی به دست آمده از ساقه‌ی نوعی گون از جنس *آسترگالوس* (*Astragalus*) بوده که این گیاه به طور طبیعی در مناطقی از ایران، ترکیه و بعضی کشورهای دیگر رشد می‌نماید. این صمغ توسط سازمان غذا و دارو امریکا (FDA) به‌عنوان یک ماده‌ی غذایی سالم (GRAS) طبقه‌بندی شده و

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر (BiPRO whey protein isolate) و کازئینات سدیم (C8654, Casein sodium salt from bovine milk) به ترتیب از شرکت‌های Davisco و Sigma تهیه شدند. کتیرای نواری نیز از فروشگاه‌های عطاری سنتی تهران خریداری شد و پس از آسیاب شدن و عبور دادن از الک آزمایشگاهی شماره‌ی ۶۰ (۶۰-#)، پودر حاصل برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. بررسی ویژگی‌های صمغ نشان داد که احتمالاً کتیرای تهیه شده کتیرای ایرانی گونه‌ی *آسترگالوس گوسیپینوس* (*A. gossypinus*) بوده است [۱۲]. صمغ فارسی نیز از تنه و شاخه‌ی درختان بادام کوهی جنگل‌های ارسباران در استان آذربایجان شرقی به‌طور دستی جمع‌آوری و پس از بسته‌بندی به آزمایشگاه منتقل شد. پس از جداکردن هرگونه ماده‌ی خارجی، صمغ فارسی آسیاب شده و پودر حاصل پس از استفاده از الک آزمایشگاهی شماره‌ی ۶۰ برای انجام آزمایشات جمع‌آوری شد. در ضمن، NaOH و HCl مورد استفاده از شرکت مواد شیمیایی مرک آلمان خریداری و اتانول ۹۶ درجه از شرکت نور زکریای رازی تهیه گردید.

۲-۲- آماده‌سازی محلول‌ها

برای تهیه‌ی محلول کازئینات سدیم، پراکنش کازئینات سدیم پس از هم‌زدن توسط هم‌زن برقی به مدت ۱ ساعت در یخچال به مدت یک شب نگهداری شد تا جذب آب به طور کامل انجام گیرد. برای به‌دست آوردن محلول پروتئین عاری از ذرات نامحلول، پراکنش حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه (۲۰۳۷۹g) سانتریفوژ گردید. پس از خشک کردن بخش ترسیب کرده مشخص شد که ۲۰ درصد از وزن پروتئین به بخش نامحلول اختصاص داشت. محلول پروتئین‌های سرمی شیر نیز با حل کردن پودر آن در آب مقطر و نگهداری در یخچال (به مدت یک شب) به دست آمد. در مورد صمغ‌ها، ابتدا پراکنش‌های ۰/۵

به‌عنوان پایدارکننده، امولسیون‌کننده و قوام‌دهنده در صنایع غذایی، داروسازی و آرایشی-بهداشتی کاربرد دارد. این صمغ دارای بخش‌های محلول (تراگاکانتین) و نامحلول در آب (باسورین) می‌باشد که بخش محلول آن در دسته‌ی هیدروکلوئیدهای آنیونی جاذب قرار دارد. هم‌چنین، این دو بخش از لحاظ ویژگی‌های رئولوژیکی نیز با یکدیگر متفاوت هستند [۱۲ و ۱۴]

صمغ فارسی نیز صمغی است شفاف که از درخت بادام کوهی از خانواده‌ی گلسرخیان (Rosaceae) به دست می‌آید. البته اغلب درختان گلسرخیان نظیر بادام، هلو، آلو و ... نیز دارای مقادیر فراوانی تراوشات صمغی هستند. ایران عمده‌ترین تولید کننده‌ی صمغ فارسی است و سالیانه بیش از ۴۰۰ تن از آن به منظور استفاده در مواد غذایی، دارویی و سایر صنایع صادر می‌شود. قیمت صمغ فارسی در حدود ۴۰ برابر کمتر از کتیرا است. این بسیارقندی تقریباً دارای ۸۸/۷ درصد قند کل و ۱۰ درصد اورونیک اسید است و شاخه‌ی اصلی آن از نسبت تقریبی ۱:۲ گالاکتوز:آرابینوز ساخته شده است [۱۵].

از آنجایی‌که دلیل اصلی از انجام این تحقیق مقایسه‌ی عملکرد صمغ‌های بومی (کتیرا و صمغ فارسی) در ایجاد واکنش با پروتئین‌های شیر بود؛ لذا، اهداف این مطالعه عبارت بودند از: ۱) یافتن نسبت مناسب پروتئین:بسیارقندی برای ایجاد کمپلکس بین پروتئین‌های شیر با صمغ‌های بومی ایرانی (ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول کتیرا، کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا، ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی و کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی) که در محدوده‌ی وسیعی از pH (۷-۲) دوفاز شدن در آن‌ها مشاهده نشود (۲) بررسی تاثیر غلظت در نسبت ثابت پروتئین:بسیارقندی و (۳) تاثیر نقش بخش‌های محلول و نامحلول در الکل بخش محلول صمغ‌های بومی در ایجاد کمپلکس‌های پایدار با پروتئین‌های شیر.

درصد (وزنی/حجمی) از کتیرا و ۳ درصد (وزنی/حجمی) از صمغ فارسی با افزودن تدریجی هر یک از صمغ‌ها به آب مقطر (حین هم‌زدن روی هم‌زن مغناطیسی) تهیه و تا روز بعد در یخچال نگهداری شدند. سپس صمغ فارسی به مدت ۲۰ دقیقه و کتیرا به مدت ۴۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ (۲۰۳۷۹g) سانتی‌فوز و بخش محلول آن‌ها جدا گردید [۱۲ و ۱۳].

۲-۳- روش تهیهی کمپلکس پروتئین‌های شیر-

صمغ‌های بومی و بررسی رفتار فازی

به منظور بررسی رفتار فازی سامانه‌های دارای محلول آبی پروتئین‌های شیر و بخش محلول صمغ‌های بومی، محلول پروتئین (۰/۴ درصد وزنی/حجمی) و بخش محلول صمغ‌های بومی (۰/۲-۱ درصد وزنی/حجمی) با استفاده از هم‌زن مغناطیسی در ۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ ساعت مخلوط شدند. سپس تنظیم pH (۷-۲) با استفاده از سود (۰/۱ نرمال) و اسیدکلریدریک (۰/۵ و ۰/۱ نرمال) صورت گرفت. لازم به ذکر است که در مورد مخلوط پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی تا غلظت ۱ درصد از صمغ امکان تولید کمپلکس محلول در تمامی محدوده‌ی pH وجود نداشت؛ لذا، در این مورد از بخش محلول صمغ تا غلظت ۲ درصد استفاده شد. برای جلوگیری از رشد میکروب، به نمونه‌ها سدیم آزاید (۰/۰۴ درصد) اضافه شد و نمونه‌های به‌دست آمده به مدت یک شب در یخچال نگهداری شدند. حلالیت کمپلکس‌ها، در اولین مرحله، به‌طور چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت و به صورت محلول، شیری (کدر)، ترسیب کرده با فاز بالایی شفاف و ترسیب کرده با فاز بالایی شیری دسته‌بندی شدند [۷ و ۹]. کلیه‌ی نمونه‌ها در ۳ تکرار تهیه گردید.

۲-۴- بررسی تاثیر غلظت بسپارهای زیستی بر

رفتار فازی کمپلکس‌های پروتئین-بسیارقلندی

پس از به‌دست آوردن نسبت مناسب پروتئین-بسیارقلندی برای رسیدن به مخلوط‌هایی که دوفاز شدن در آن‌ها مشاهده نشود،

غلظت بسپارهای زیستی در همان نسبت به ۲ برابر تا ۵ برابر (بسته به نوع بسپارهای زیستی) افزایش داده شد تا بیشترین غلظتی که امکان تهیه مخلوط این بسپارهای زیستی وجود داشت به‌دست آید و نیز رفتار فازی با افزایش غلظت مورد مطالعه قرار گیرد. به‌علاوه، به منظور بررسی اثر کاهش غلظت، همان نسبت مناسب پروتئین-بسیارقلندی در غلظت ۱۰ برابر رقیق‌تر تهیه شدند.

۲-۵- تعیین میزان بخش محلول و نامحلول در

الکل بخش محلول در آب صمغ‌های بومی و

میزان حلالیت آن‌ها

به‌منظور جداسازی بخش‌های محلول و نامحلول در الکل بخش محلول در آب صمغ‌ها، ابتدا پراکنش صمغ‌ها مطابق آن‌چه قبلاً اشاره شد تهیه گردید. سپس ۱/۵ برابر حجم پراکنش، الکل ۹۶ درجه اضافه شده و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه (۲۰۳۷۹g) بخش‌های محلول و نامحلول در الکل بخش‌های محلول در آب کتیرا و صمغ فارسی به ترتیب طی ۶۰ و ۳۰ دقیقه از هم جدا شدند. بخش نامحلول در الکل در دمای ۳۵ درجه‌سانتی‌گراد خشک گردید؛ در حالی‌که، بخش محلول در الکل قبل از خشک شدن در آن، جهت تغلیظ به دستگاه تبخیر کننده‌ی چرخان منتقل شد. مقدار ماده‌ی خشک نمونه‌ها، پس از رسیدن به وزن ثابت، از اختلاف وزن نمونه با ظرف حاوی آن قبل و بعد از قرار دادن در آن به‌دست آمد. صمغ خشک شده توسط هاون دستی به پودر تبدیل شد و پس از الک شدن توسط الک آزمایشگاهی شماره‌ی ۶۰ در آزمون‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که قبل از انجام آزمایش‌های بعدی، ارزیابی میزان حلالیت پودرهای به‌دست آمده ضروری بود. لذا، به‌منظور بررسی میزان حلالیت پودرهای حاصل از جداسازی، ۳۰ میلی‌لیتر پراکنش ۱ درصد از هر یک از بخش‌های محلول و نامحلول در الکل تهیه و با استفاده از حمام آب گرم مجهز به سیستم هم‌زنی تحت تیمار حرارتی ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها با شتاب ۸۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتی‌فوز شدند و از محلول فوقانی ۱۰ میلی‌لیتر برداشته و تا

رسیدن به وزن ثابت در آون (۱۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) خشک شدند که در نهایت از رابطه‌ی زیر برای تعیین درصد حلالیت استفاده شد [۱۵]:

$$\text{درصد حلالیت} = \frac{100 \times (30 \times m_2)}{10 \times m_1}$$

m_1 و m_2 به‌ترتیب وزن اولیه‌ی نمونه (در ۳۰ میلی‌لیتر از پراکنش) و وزن نهایی پس از خشک کردن.

۲-۶- بررسی نقش بخش محلول در آب و

نامحلول در الکل صمغ‌های بومی در پایداری

کمپلکس‌های پروتئین-سیارقدی

برای انجام این قسمت از پژوهش، ابتدا مقدار بخش محلول در آب و نامحلول در الکل صمغ کتیرا در کمپلکس‌های پایدار (کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا (۰/۴:۰/۶)، ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول کتیرا (۰/۴:۱) و نیز مقدار بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی در کمپلکس‌های پایدار (کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی (۰/۴:۰/۶)، ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی (۰/۴:۲) محاسبه شد. سپس با توجه به میزان حلالیت پودرهایی که در اثر جداسازی بخش محلول و نامحلول در الکل بخش محلول صمغ‌های بومی به‌دست آمده بود مشخص شد که ۰/۶ و ۱ درصد از بخش محلول صمغ کتیرا به ترتیب دارای ۰/۴۴ و ۰/۷۳ درصد بخش نامحلول در الکل بود. همچنین، ۰/۶ و ۲ درصد از بخش محلول در آب صمغ فارسی دارای ۰/۳۸ و ۱/۲۵ درصد بخش نامحلول در الکل بود. لذا، به منظور بررسی اینکه آیا بخش نامحلول در الکل، محلول در الکل یا هر دو بخش در ایجاد پایداری موثر هستند کمپلکس‌های کازئینات سدیم-بخش محلول در آب و نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۴۴ درصد)، ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول در آب و نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۷۳ درصد)، کازئینات سدیم-بخش محلول در آب و نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۰/۴ درصد)

و ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول در آب و نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۱/۳۳ درصد) تهیه شد و رفتار فازی آن‌ها همانند مراحل قبل در محدوده‌ی pH ۷-۲ مورد بررسی قرار گرفت. تنها تفاوت موجود در تهیه‌ی کمپلکس پروتئین‌های شیر-بخش محلول در آب صمغ‌های بومی با کمپلکس پروتئین‌های شیر-بخش محلول در آب و نامحلول در الکل صمغ‌های بومی این بود که جهت حلالیت بهتر سیارقدی در این نمونه‌ها از دمای ۶۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تاثیر pH در ایجاد کمپلکس محلول بین

بخش محلول صمغ‌های بومی با پروتئین‌های شیر

شکل ۱ رفتار فازی مخلوط پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول کتیرا (الف)، کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا (ب)، کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا (ج) و پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی (د) را در دامنه‌ی وسیعی از pH (۷-۲) به‌صورت تابعی از غلظت صمغ‌های بومی نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر و کازئینات سدیم بدون حضور صمغ به‌ترتیب در pH ۵ و ۴- ترسیب نشان دادند که به‌علت نزدیک بودن این pHها به نقطه‌ی ایزوالکتریک آن‌ها می‌باشد. مطابق شکل ۱ (الف تا د)، در pH - های ۷ و ۶ در تمامی غلظت‌های مورد استفاده از صمغ‌های بومی سامانه‌های شفاف مشاهده شد. علت شفاف بودن سامانه‌ها در pH ۷ و ۶ احتمالاً دافعه‌ی الکترواستاتیک حاکم در این pHها است که از بار منفی هر دو بسپار ناشی می‌شود. به این معنی که، در سامانه‌های حاوی مخلوط پروتئین-سیارقدی در pH های بالاتر از نقطه‌ی ایزوالکتریک پروتئین، هر دو بسپارزیستی دارای بار مشابه و به‌صورت هم‌محلول در سامانه هستند [۱].

در ضمن، همان‌گونه که در شکل‌ها دیده می‌شود افزودن محلول صمغ‌های بومی به پروتئین‌های شیر تا رسیدن به غلظت مشخصی سبب ترسیب در محدوده‌ی pH ۳-۵ شده است. معمولاً ترسیب مخلوط پروتئین‌ها و بسپارقندی‌ها در دو ناحیه از pH اتفاق می‌افتد: اگر مقدار pH بین ۳/۵-۵ باشد، در چنین حالتی بار خالص کل مولکول‌های پروتئین پایین است و چنان‌چه مقدار بسپارقندی کم باشد دوفاز شدن سامانه مربوط به توده‌ای شدن طبیعی کازئین در پ‌های نزدیک pH ایزوالکتریک آن است. از طرف دیگر، اگر pH بین ۳/۵-۲ باشد ترسیب می‌تواند مربوط به تشکیل کمپلکس نامحلول پروتئین-بسپارقندی آنیونی باشد که از واکنش شدید بین این بسپارهای زیستی دارای بار مخالف ناشی می‌شود (۷). بنابراین، به‌نظر می‌رسد که در تمامی مخلوط‌های پروتئین‌های شیر-بخش محلول صمغ‌های بومی، در غلظت‌های پایین بسپارقندی، ترسیب در نزدیک نقطه‌ی ایزوالکتریک پروتئین‌ها (pH های ۴ و ۵) به علت توده‌ای شدن طبیعی پروتئین‌ها و ترسیب در pH ۳ ناشی از پدیده‌ی کواسرواسیون می‌باشد. به بیان دیگر، توده‌ای شدن و ترسیب پروتئین‌ها در pH های ۴ و ۵ به علت پایین بودن بار پروتئین‌ها و نیز ناکافی بودن مقدار بسپارقندی‌های آنیونی است. در چنین حالتی، افزایش مقدار بسپارقندی‌های جاذب می‌تواند از ترسیب پروتئین‌های توده‌ای شده جلوگیری نماید که علت این پایداری می‌تواند دافعه‌ی الکترواستاتیک ناشی از افزایش بار ذرات کلونیدی، دافعه‌ی فضایی حاصل از شاخه‌های جانبی بسپارقندی متصل شده به پروتئین یا افزایش گرانشی سامانه باشد (۷ و ۱۲). از طرف دیگر، وقوع پدیده‌ی کواسرواسیون در pH ۳ احتمالاً به علت خنثی شدن کربوکسیل دارای بار منفی مولکول‌های کتیرا و صمغ فارسی با گروه‌های آمین دارای بار مثبت مولکول‌های کازئین و پروتئین‌های سرمی شیر است که منجر به کاهش حلالیت کمپلکس‌ها شده است و نهایتاً سامانه‌ای دوفاز، قسمت بالایی غنی از حلال و قسمت پایینی غنی از بسپارهای زیستی (شکل ۲)، حاصل شده است [۴ و ۲].

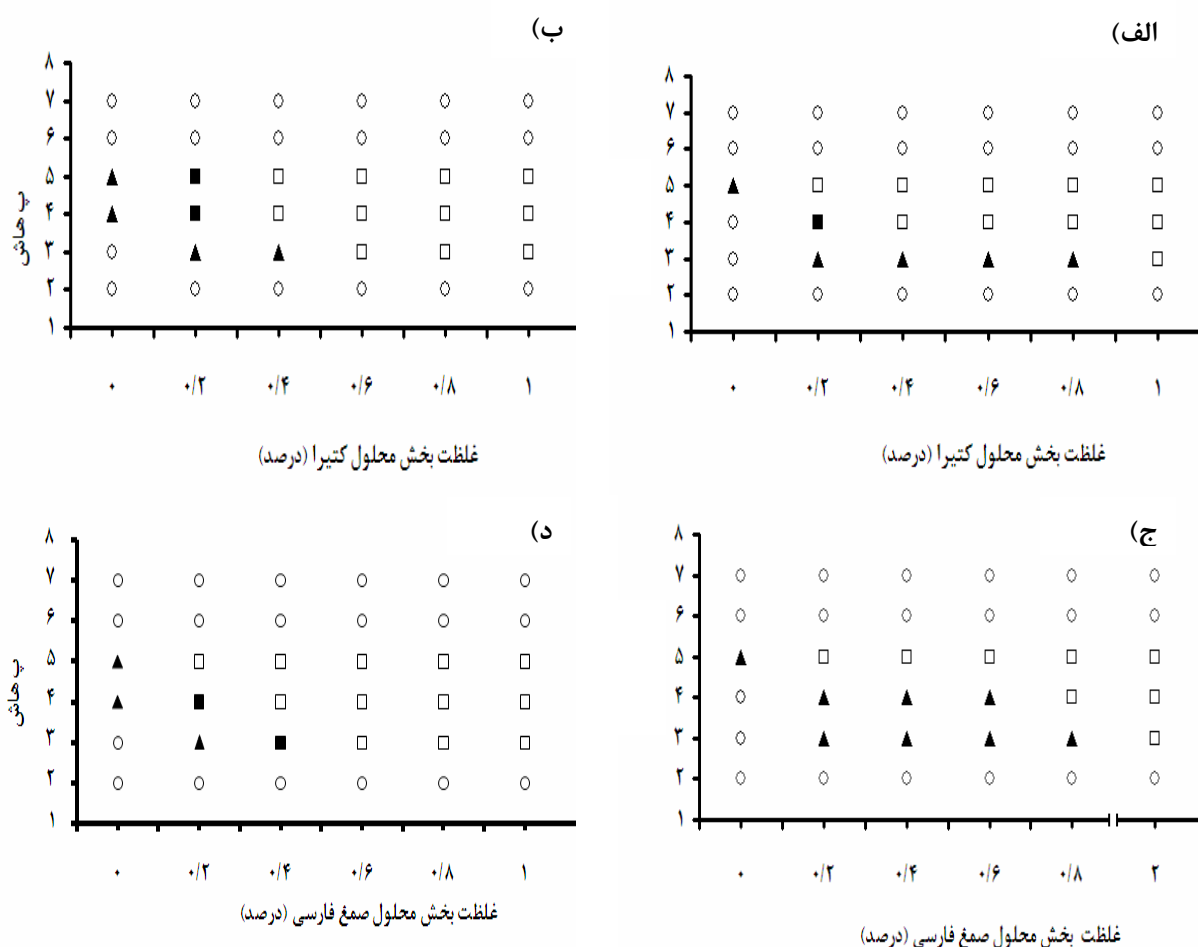
به‌علاوه، در شکل ۱ (الف تا د) مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت بسپارقندی‌های آنیونی، بالاخره در غلظت معینی ترسیب کمپلکس پروتئین-بسپارقندی در تمامی محدوده‌ی pH متوقف شده است که کمپلکس‌های پایدار در مخلوط‌های پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول کتیرا (تراگاکانتین)، کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا (تراگاکانتین)، پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی و کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی به‌ترتیب در مقادیر ۰/۴:۱، ۰/۴:۰/۶، ۰/۴:۰/۲ و ۰/۴:۰/۶ درصد پروتئین-بسپارقندی به‌دست آمد. به‌نظر می‌رسد که با افزایش غلظت بسپارقندی‌های آنیونی گروه‌های باردار منفی بیشتری در سامانه وجود داشت که با گروه‌های مثبت موجود در سطح توده-های پروتئین واکنش داده و بیشتر شدن بار منفی کمپلکس‌ها و نهایتاً افزایش دافعه‌ی الکترواستاتیک از رسوب کردن توده‌های پروتئین ممانعت نموده است [۱۶ و ۱۷]. پیش‌تر نیز اشاره شد که افزایش غلظت پکتین باعث ایجاد محلول‌های پایدار حاوی کمپلکس بتا-لاکتوگلوبولین-پکتین شده و از ایجاد ترسیب جلوگیری نمود [۵].

از آن‌جایی‌که pH ۲ تقریباً نزدیک نقطه‌ی pK_a بسپارقندی‌های دارای کربوکسیل است [۶]؛ لذا، در این pH، مقدار کربوکسیل باردار کم است و از این‌رو، امکان واکنش الکترواستاتیک بین پروتئین و بسپارقندی کمتر می‌شود. از آن‌جایی‌که با کاهش pH، پروتئین‌ها دارای بار مثبت بیشتری می‌شوند احتمالاً دلیل شفاف بودن و ممانعت از توده‌ای شدن پروتئین‌ها دافعه‌ی الکترواستاتیک حاکم بین پروتئین‌های دارای بار مثبت است. به-علاوه، در pH ۲، ساختار میسل مجدداً شکل می‌گیرد [۱۸] که این نیز می‌تواند در شفاف دیده شدن سامانه‌ها موثر باشد.

همان‌گونه که اشاره شد کمپلکس‌های پایدار در مخلوط‌های پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول کتیرا و پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی به‌ترتیب در مقادیر ۰/۴:۱، و ۰/۴:۰/۲ درصد پروتئین-بسپارقندی به‌دست آمدند که این نشان دهنده‌ی کارایی بیشتر بخش محلول کتیرا نسبت به صمغ فارسی است. در حالی‌که، کمپلکس‌های پایدار در مخلوط‌های کازئینات

سدیم-بخش محلول کتیرا و کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی هر دو در ۰/۴:۰/۶ درصد پروتئین:بسیار قندی حاصل شد؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که بخش محلول کتیرا چگالی بار الکتریکی بیشتری در مقایسه با بخش محلول صمغ فارسی نداشته (نتایج حاصل از اندازه‌گیری پتانسیل زتا شکل ۳ الف و ب نیز این مطلب را تأیید می‌کند) و احتمالاً دلیل کارایی بیشتر آن در

تشکیل کمپلکس‌های محلول با ایزوله‌ی پروتئین‌های آب‌پنیر مربوط به گرانروی بیشتر سامانه‌های محتوی بخش محلول این صمغ است که از ترسیب توده‌های پروتئین جلوگیری نموده است (داده‌های حاصل از آزمون‌های رئولوژیکی تأیید کننده‌ی این مطلب هستند).



شکل ۱ دیاگرام فازی سامانه‌های محلول آبی (الف) پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول کتیرا، (ب) کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا (ج) پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی و (د) کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی در دامنه‌ی وسیعی از pH (۷-۲) به صورت تابعی از غلظت صمغ. مقدار پروتئین در تمامی نمونه‌ها ثابت بود (۰/۴ درصد وزنی/حجمی). محلول یا نامحلول بودن به صورت چشمی تعیین گردید: ○ شفاف، □ کدر (شیری)، ■ ترسیب با فاز بالایی کدر، ▲ ترسیب با فاز بالایی شفاف.

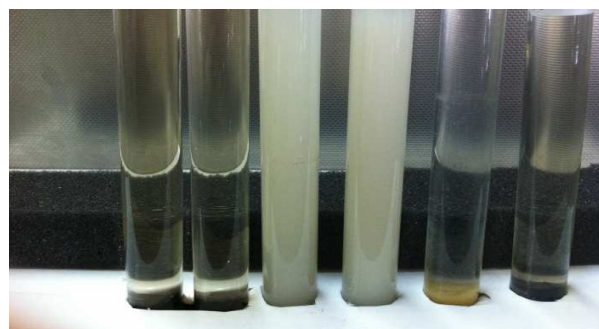
از طرف دیگر، تهیه کردن نمونه‌ها در غلظت ۱۰ برابر رقیق‌تر نشان داد که تغییری در رفتار فازی مخلوط پروتئین‌های شیر-بخش محلول صمغ‌های بومی (به جز کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی) در غلظت پایین‌تر اتفاق نیفتاد. در حالی‌که، در مورد کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی در غلظت-های کمتر از غلظت بهینه‌ی به دست آمده (۰/۴:۰/۶) در pH ۳ ناپایداری مشاهده شد. به نظر می‌رسد که در این نمونه کمپلکس کواسرواسیون نمی‌تواند اتفاق افتاده باشد چون مقدار پتانسیل زتا این نمونه نزدیک صفر نبوده است (داده‌های مربوط به پتانسیل زتا نشان داده نشده‌اند). شاید علت آن را بتوان این‌گونه توجیه کرد که پایین بودن گرانیوی این نمونه (داده‌های مربوط به بررسی‌های رئولوژی نشان داده نشده‌اند) و در نتیجه بیشتر بودن حرکت براونی منجر به افزایش برخورد ذرات شده و دافعه‌ی الکترواستاتیکی موجود به حدی نیست که از نزدیکی دو ذره ممانعت نماید و احتمالاً پلی‌شدن تجمعی (Bridging flocculation) بین ذرات اتفاق افتاده است.

۳-۳- تعیین میزان بخش محلول نامحلول در

الکل بخش محلول در آب صمغ‌ها و میزان

حلالیت مجدد آن‌ها

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود بخش محلول در آب کتیرا و صمغ فارسی حداقل از دو بخش محلول و نامحلول در الکل تشکیل شده‌اند که بخش اعظم را در هر دو صمغ بخش نامحلول در الکل تشکیل می‌دهد؛ البته، میزان بخش محلول در آب و نامحلول در الکل کتیرا ($73/33 \pm 5/5$) بیشتر از میزان بخش محلول در آب و نامحلول در الکل صمغ فارسی ($62/66 \pm 5/03$) می‌باشد.

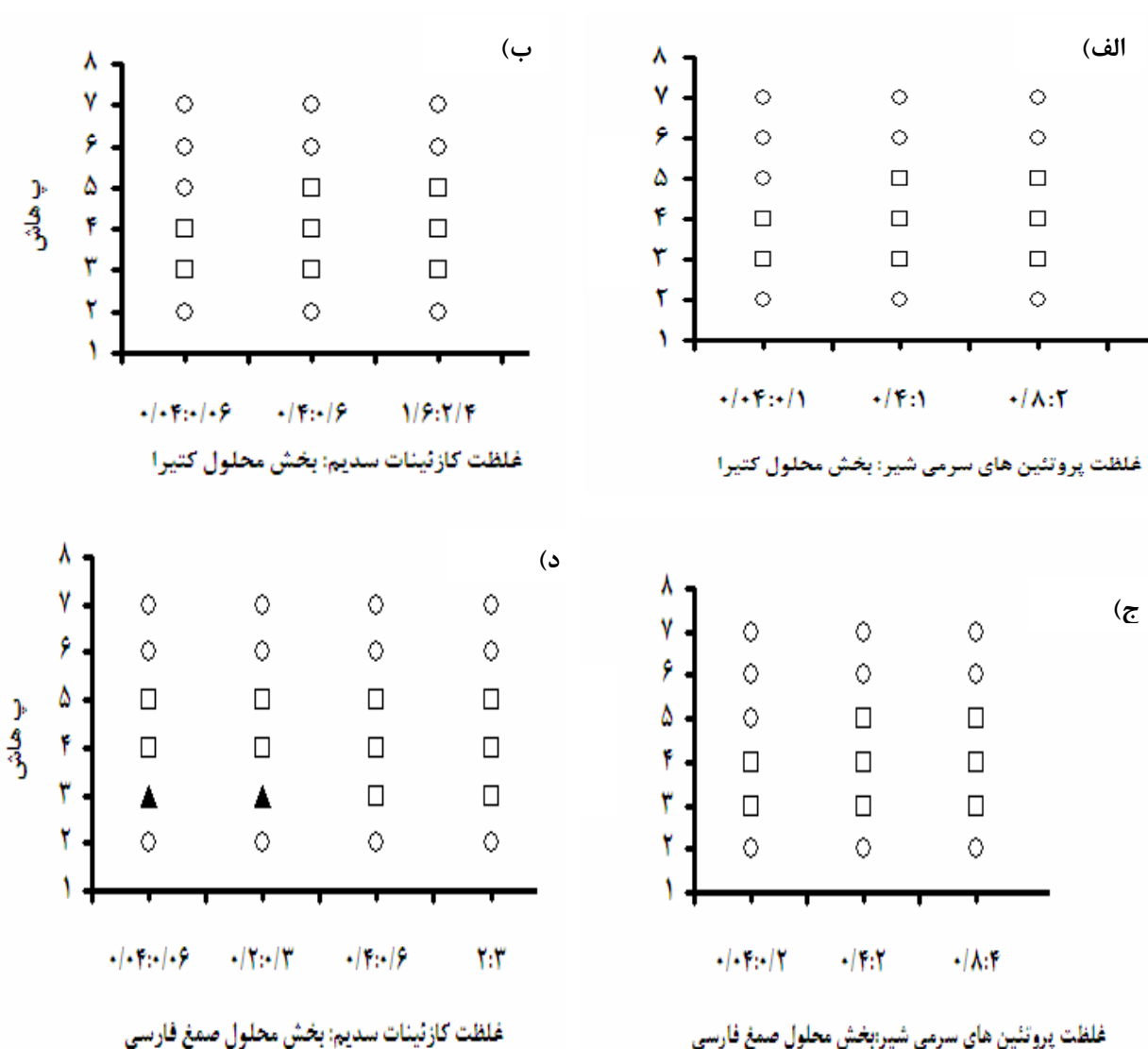


شکل ۲ کمپلکس‌های بخش محلول صمغ فارسی-پروتئین‌های سرمی شیر (۰/۴:۱ درصد). pH نمونه‌ها به ترتیب از سمت راست به چپ ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ می‌باشد. پدیده‌ی کمپلکس کواسرواسیون در pH ۳ قابل مشاهده است.

۳-۲- تاثیر غلظت بسپارهای زیستی بر رفتار

فازی کمپلکس‌های پروتئین-بسیارقندی

بعد از به دست آوردن نسبت مناسب تهیه‌ی کمپلکس پروتئین-بسیارقندی بین پروتئین‌های شیر و صمغ‌های بومی که در تمامی بازه‌های pH دارای پایداری باشد، تاثیر تغییر غلظت (با نسبت ثابت پروتئین: بسیارقندی) با تهیه‌ی نمونه‌هایی که ۱۰ برابر رقیق‌تر بودند و نیز افزایش غلظت تا جایی که امکان داشت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که حداکثر غلظت قابل تهیه از مخلوط پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول کتیرا، کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا، پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی و کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی به ترتیب مقادیر ۰/۸:۰/۲، ۱/۶:۰/۴، ۰/۸:۰/۴ و ۲:۰/۳ بودند و افزایش غلظت در یک نسبت ثابت تاثیری بر رفتار فازی نمونه‌ها نداشت. گزارش شده است که افزایش غلظت بسیارقندی‌ها در نسبت ثابت باعث افزایش کدورت نمونه‌ها می‌شود؛ در حالی‌که، شکل منحنی میزان جذب به صورت تابعی از pH و نیز pH ای که در آن بیشینه مقدار جذب دیده می‌شود برای تمامی غلظت‌ها ثابت بود [۱۷]. سایر محققین نیز بیان کرده‌اند که pH تشکیل کمپلکس محلول و نامحلول مستقل از غلظت بسپارهای زیستی می‌باشد [۱۹].



شکل ۳ بررسی تاثیر غلظت در یک نسبت ثابت پروتئین: بسیار قندی بر رفتار فازی سامانه های محلول آبی (الف) پروتئین های سرمی شیر-بخش محلول کتیرا (غلظت های ۰/۰۴:۰/۱، ۰/۴:۱ و ۰/۸:۲ درصد)، (ب) کازئینات سدیم-بخش محلول کتیرا (غلظت های ۰/۰۴:۰/۰۶، ۰/۴:۰/۰۶ و ۱/۶:۲/۴ درصد)، (ج) پروتئین های سرمی شیر-بخش محلول صمغ فارسی (غلظت های ۰/۰۴:۰/۲، ۰/۴:۲ و ۰/۸:۴ درصد) و (د) کازئینات سدیم-بخش محلول صمغ فارسی (غلظت های ۰/۰۴:۰/۰۶، ۰/۲:۰/۳، ۰/۴:۰/۶ و ۲:۳ درصد) در دامنه ی وسیعی از pH (۲-۷). محلول یا نامحلول بودن به صورت چشمی تعیین گردید: ○ شفاف، □ کدر (شیری)، ■ ترسیب با فاز بالایی کدر، ▲ ترسیب با فاز بالایی شفاف.

جدول ۲ میزان حلالیت بخش های محلول در آب و محلول و نامحلول در الکل کتیرا و صمغ فارسی را در دمای ۶۰ درجه ی سانتی گراد (به مدت ۳۰ دقیقه) نشان می دهد. همان گونه که مشاهده می شود در تمامی نمونه ها (به جز بخش محلول در آب و نامحلول در الکل صمغ فارسی) پودرهای به دست آمده به میزان

۱۰۰ درصد قابلیت انحلال دارند. از آنجایی که میزان حلالیت بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی $94/5 \pm 1/9$ درصد بود، این مقدار در محاسبه میزان پودر مورد نیاز برای تهیه ی کمپلکس پروتئین های شیر-بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی لحاظ گردید.

جدول ۱ مقادیر بخش‌های محلول و نامحلول در الکل بخش محلول در آب کتیرا و صمغ فارسی		
نوع صمغ	نامحلول در الکل (درصد)	محلول در الکل (درصد)
بخش محلول در آب کتیرا	۷۳/۳۳±۵/۵	۲۶/۶۷±۵/۵
بخش محلول در آب صمغ فارسی	۶۲/۶۶±۵/۰۳	۳۷/۳۴±۵/۰۳

جدول ۲ میزان حلالیت بخش‌های محلول در آب و محلول و نامحلول در الکل کتیرا و صمغ فارسی در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه

نوع بسیار زیستی	حلالیت (درصد)
بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی	۹۴/۵±۱/۹
بخش محلول در آب محلول در الکل صمغ فارسی	۱۰۰
بخش محلول در آب نامحلول در الکل کتیرا	۱۰۰
بخش محلول در آب محلول در الکل کتیرا	۱۰۰

۳-۴- نقش بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ‌های بومی در پایداری کمپلکس‌های پروتئین-بسیارقلندی

همان‌گونه که پیش‌تر نیز اشاره شد صمغ کتیرا از لحاظ شیمیایی از دو بخش محلول و نامحلول در آب تشکیل شده که به ترتیب تراگاکانتین و باسورین (تراگاکانتیک اسید) نامیده می‌شوند. البته در نام‌گذاری و طبقه‌بندی بخش‌های تشکیل دهنده‌ی کتیرا نظرات مختلفی وجود دارند؛ به طوری‌که، به نظر برخی پژوهش‌گران، بخش محلول خود از دو بخش نامحلول و محلول در اتانل ۷۰ درصد تشکیل شده است (۱۴). در آزمایشات اولیه از الکل ۷۰ درصد به منظور جداسازی این دو بخش استفاده شد و از آنجایی که بررسی‌ها نشان داد که جداسازی با الکل ۹۶ درصد بهتر صورت می‌گیرد؛ لذا، برای جداسازی بخش محلول و نامحلول در الکل بخش محلول صمغ‌ها از الکل ۹۶ درصد استفاده شد. جدول ۳ رفتار فازی کمپلکس‌های پروتئین‌های شیر-بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ‌های بومی را در محدوده‌ی pH ۲-۷ نشان می‌دهد. مقایسه‌ی رفتار فازی این کمپلکس‌ها به صورت

تابعی از pH با رفتار فازی پروتئین‌های شیر به تنهایی (شکل ۱) نشان می‌دهد که حضور بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ‌های بومی در کنار پروتئین‌ها توانسته است از توده‌ای شدن طبیعی آن‌ها در محدوده‌ی نقطه‌ی ایزوالکتریک پروتئین جلوگیری نماید. از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً بخش محلول در آب نامحلول در الکل هر دو صمغ بومی دارای بار منفی بوده که با پروتئین دارای بار مثبت واکنش داده است. از طرف دیگر، همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود در تمامی کمپلکس‌های تهیه شده در pH ۳، ناپایداری (کمپلکس کواسرواسیون) قابل رویت بود؛ در حالی‌که، مقدار بخش محلول در آب نامحلول در الکل مورد استفاده در این کمپلکس‌ها دقیقاً برابر با مقدار بخش محلول در آب نامحلول در الکل است که در نمونه‌های پایدار شده توسط بخش محلول در آب صمغ‌ها وجود داشت. بنابراین، از آنجایی که همان مقدار بخش نامحلول در الکل قادر به ایجاد پایداری و جلوگیری از ترسیب توده‌های پروتئین در pH ۳ نشده است، به نظر می‌رسد که حضور بخش محلول در الکل نیز در کنار این بخش در ایجاد واکنش با پروتئین‌ها ضروری بوده و در پایداری کمپلکس‌های پروتئین‌های شیر-بخش محلول در آب صمغ‌های بومی نقش داشته است.

به علاوه، در مورد هر چهار مورد کمپلکس (کازئینات سدیم-بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۰/۴) درصد)، ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۱/۳۳) درصد)، کازئینات سدیم-بخش محلول در آب نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۴) درصد) و ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول در آب نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۷۳) درصد)) مشاهده می‌شود که روند رفتار فازی این کمپلکس‌ها مشابه رفتار فازی کمپلکس‌های پروتئین‌های شیر-بخش محلول صمغ‌های بومی (شکل ۱) در غلظت کمتر از حد بهینه برای ایجاد کمپلکس پایدار بود. به عنوان مثال در مورد کازئینات سدیم: بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۰/۴) روندی مشابه با رفتار فازی کازئینات سدیم: بخش محلول در آب صمغ فارسی (۰/۴:۰/۲) داشت. در حالی که، مقدار بهینه برای ایجاد کمپلکس پایدار کازئینات سدیم: بخش محلول در آب صمغ فارسی ۰/۴:۰/۶ بود. همین‌طور، در مورد کازئینات سدیم-بخش محلول

در آب نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۴) درصد) روندی مشابه با کازئینات سدیم-بخش محلول در آب کتیرا (۰/۴:۰/۴) درصد) قابل رویت بود. همانند آنچه قبلاً اشاره شد چنانچه مقدار بسیارقندی آنیونی کمتر از مقدار مناسب باشد بار منفی کمتری در سامانه وجود داشته و به حدی نمی‌رسد که دافعه‌ی الکترواستاتیک بتواند از ترسیب توده‌های پروتئین ممانعت نماید؛ به علاوه، در مقادیر کمتر از مقدار مناسب ممکن است توده‌ای شدن پلی اتفاق افتد به طوری که یک مولکول از بسیارقندی به چند پروتئین دارای بار مثبت متصل شده و آن‌ها را به هم نزدیک نماید و منجر به ناپایداری گردد (۲۰). بنابراین، به نظر می‌رسد که در این نمونه‌ها (نمونه‌های حاوی بخش نامحلول در الکل بخش محلول در آب صمغ‌ها) مقدار بسیارقندی آنیونی کمتر از نمونه-هایی است که بخش محلول در الکل نیز در سامانه وجود دارد، از این‌رو، احتمالاً بخش محلول در الکل بخش محلول در آب صمغ‌ها که در این نمونه‌ها حذف شده اند نیز دارای بار منفی باشند.

جدول ۳ رفتار فازی کمپلکس‌های کازئینات سدیم-بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۰/۴) درصد)، ایزوله‌ی پروتئین-های سرمی شیر-بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۱/۳۳) درصد)، کازئینات سدیم-بخش محلول در آب نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۷۳) درصد) و ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر-بخش محلول در آب نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۷۳) درصد) در محدوده‌ی pH ۲-۷. محلول یا نامحلول بودن به صورت چشمی تعیین گردید: ○ شفاف، □ کدر (شیری)، ■ ترسیب با فاز بالایی کدر، ▲ ترسیب با فاز بالایی شفاف.

کمپلکس‌ها			
کازئینات سدیم: بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۰/۴)	ایزوله‌ی پروتئین-های سرمی شیر: بخش محلول در آب نامحلول در الکل صمغ فارسی (۰/۴:۱/۳۳)	کازئینات سدیم: بخش محلول در آب نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۷۳)	ایزوله‌ی پروتئین‌های سرمی شیر: بخش محلول در آب نامحلول در الکل کتیرا (۰/۴:۰/۷۳)
۷	○	○	○
۶	○	○	○
۵	□	□	□
۴	■	■	■
۳	▲	▲	▲
۲	○	○	○

۴- نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های بررسی حاضر نشان داد که امکان تشکیل کمپلکس‌های پروتئین‌های شیر-بخش محلول صمغ‌های بومی که در محدوده‌ی pH ۷-۲ ترسیبی در آن‌ها مشاهده نشود وجود دارد. به نظر می‌رسد دافعه‌ی الکترواستاتیک و افزایش گرانروی در حضور صمغ‌های بومی ایرانی که ماهیت آنیونی دارند در ایجاد این پایداری موثر هستند. در نهایت به نظر می‌رسد که چنین کمپلکس‌هایی می‌توانند به عنوان عوامل فعال سطحی مورد استفاده قرار گیرند تا وابستگی صنایع غذایی و دارویی کشور به امولسیون‌کننده‌های تجاری کاهش یابد که بررسی‌های لازم در زمینه‌ی کاربرد کمپلکس‌های مذکور به عنوان عوامل فعال سطحی و تاثیر آن‌ها در بهبود پایداری امولسیون‌ها تحت شرایط نامساعد محیطی در آزمایشگاه ما در حال انجام است.

۵- منابع

- [8] Weinbreck, F., Nieuwenhuijse, H., Robijn, G. W., de Kruif, C. G. 2004. Complex formation of whey proteins: exocellular polysaccharide EPS B40. *Langmuir*, 19(22):9404-9410.
- [9] Liu, L., Zhao, Q., Liu, T., Long, Z., Kong, J. Zhao, M. 2012. Sodium caseinate/xanthan gum interactions in aqueous solution: effect on protein adsorption at the oil-water interface. *Food Hydrocolloids*, 27:339-346.
- [10] Liu, S., Low, N. H. and Nickerson, M. T. 2009. Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate-gum Arabic complexes. 57(4): 1521-1526.
- [11] Liu, S., Elmer, C., Low, N. H. Nickerson, M. T. 2010. Effect of pH on the functional behavior of pea protein isolate-gum Arabic complexes. *Food Research International*, 43:489-495.
- [12] Azarikia, F. and Abbasi, S. 2010. On the Stabilization Mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by Gum Tragacanth. *Food Hydrocolloids*. 24(4): 358-363.
- [13] Abbasi, S., and Mohammadi, S. 2013. Stabilization of milk-orange juice mixture using Persian gum: Efficiency and mechanism. *Food Bioscience*, 2: 53-60.
- [14] Weiping, W., and Branwell, A. 2000. Tragacanth and Karaya. In *Handbook of Hydrocolloids* (eds. G.O. Phillips and P.A. Williams.). Cambridge: Woodhead publishing.
- [15] Abbasi, S., and Rahimi, S. 2014. Persian Gum. In *Encyclopedia of Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials* (ed. S. Mishra). Taylor & Francis. USA. DOI: 10.1081/E-EBPP-120049255.
- [16] Hasandokht Firooz, M., Mohammadifar, M. A. and Haratian, P. 2012. Self-assembly of β -lactoglobulin and the soluble fraction of gum tragacanth in aqueous medium. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50:925-931.
- [17] Ghorbani Gorji, S., Ghorbani Gorji, E. Mohammadifar, M. A. 2014. Characterisation of gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*)/sodium caseinate complex coacervation as a function of pH in an aqueous medium. *Food Hydrocolloids*, 34:161-168.
- [1] Dickinson, E. 1998. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. *Trends in Food Science and Technology*, 9: 347-354.
- [2] Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17: 25-39.
- [3] Dickinson, E. 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23: 1473-1482.
- [4] de Kruif, C. G., and Tuinier, R. 2001. Polysaccharide-protein interactions. *Food Hydrocolloids*, 15: 555-563.
- [5] Ron N., Zime P., Bargarum J. and Livney Y. D. 2010. Beta-lactoglobulin-polysaccharide complexes as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. *International Dairy Journal*, 20: 686-693.
- [6] Guzey, D. McClements, D. J. 2006. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloids and Interface Science*, 128: 227-248.
- [7] Jourdain, L., Leser, M. E., Schmitt, Ch., Michel, M. Dickinson, E. 2008. Stability of

- whey proteins and gum Arabic. *Biomacromolecules*, 4, 293–303.
- [20] Syrbe, A., Bauer, W. J., and Klostermeyer, H. 1998. Polymer science concepts in dairy system—An overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*, 8: 179–193.
- [18] Madadlou, A. and Azarikia, F. 2013. Nanocarriers, films and composites based on milk proteins. In *Advances in Natural Polymers: Composites and Nanocomposites*. (eds. S. Thomas, P. M. Visakh and A. P. Mathew) Springer. Book ISBN: 978-3-642-20939-0.
- [19] Weinbreck, F., de Vries, R., Schrooyen, P., de Kruif, C. G. 2003. Complex coacervation of

Formation of soluble complexes of milk proteins–soluble fraction of Iranian native gums and investigation of the effect of biopolymers concentration on phase behavior of systems

Azarikia, F. ¹, Abbasi, S. ^{2*}, Hamidi, Z. ², Azizi, M. H. ³

1. Ph.D Student of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Iran.
2. Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Iran.
3. Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Iran.

Electrostatic interaction between proteins and negatively charged polysaccharides leads to formation of stable colloidal system or causes complex coacervation. Therefore, in this study phase behavior of the mixtures of 0.4% milk proteins (sodium caseinate or whey protein isolate) with soluble fraction of tragacanth (up to 1%) or soluble fraction of Persian gum (up to 2%) as a function of pH (2–7) was investigated, in order to obtain appropriate protein:polysaccharide ratio to formation of soluble complexes in a wide range of pH. According to the results, the mixtures of sodium caseinate–soluble fraction of Persian gum, sodium caseinate–soluble fraction of tragacanth, whey protein isolate–soluble fraction of Persian gum and whey protein isolate–soluble fraction of tragacanth were soluble complexes at the whole pH range at the ratio of 0.4:0.6, 0.4:0.6, 0.4:2 and 0.4:1, respectively. Moreover, it was found that enhancement of total biopolymer concentration (at a same ratio) had no effect on the phase behavior of complexes. In addition, evaluation of the phase behavior of the mixture of milk proteins–alcohol-insoluble fraction of soluble part of native gums illustrated that both alcohol-insoluble and soluble fractions probably have impact on stability of complexes at mentioned ratios.

Key words: Tragacanth, Persian gum, Protein–polysaccharide complex, Electrostatic repulsion

* Corresponding Author E-Mail Address: sabbasifood@modares.ac.ir