

ارزیابی ویژگی‌های رئولوژیکی و ساختاری کمپلکس کواسرواسیون کنسانتره پروتئین آب‌پنیر - صمغ کتیرا

سودابه محمدی^۱، حبیب الله میرزایی^{۲*}، سید مهدی جعفری^۳، فاطمه آذری کیا^۴

۱- دانشجوی دکتری مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۲- دکترای علوم و صنایع غذایی، دانشیار گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳- دکترای علوم و صنایع غذایی، استاد گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۴- دکترای علوم و صنایع غذایی، استادیار گروه فناوری صنایع غذایی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۱)

چکیده

کواسرواسیون بین بسپارهای زیستی از طریق ایجاد برهم‌کنش الکترواستاتیک بین گروه‌های دارای بار مخالف تولید می‌شود. پروتئین و پلی‌ساکارید دوسپار زیستی رایج جهت تولید کمپلکس از طریق برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک می‌باشند که می‌توانند سبب تشکیل کمپلکس محلول پایدار و یا نامحلول گردند. در این پژوهش، تولید و ویژگی‌های کمپلکس حاصل از کنسانتره پروتئین آب‌پنیر- صمغ کتیرا مورد بررسی قرار گرفت. به منظور یافتن pH بهینه تشکیل کمپلکس، مقدار جذب در محدوده وسیعی از pH (۸-۲)، اندازه ذرات، پتانسیل زتا، ریزساختار و ویژگی‌های رئولوژیکی نمونه برای تعیین نسبت بهینه پروتئین و پلی‌ساکارید بررسی گردید. طبق اطلاعات به دست آمده، بهترین مقدار pH برای تشکیل کمپلکس کنسانتره پروتئین آب‌پنیر- صمغ کتیرا ۴/۵ بود. براساس نتایج، با افزایش مقدار صمغ کتیرا تا ۰/۷۵ درصد وزنی/وزنی در غلظت ثابت پروتئین (۰/۵ درصد وزنی/وزنی) کمترین و بیشترین اندازه ذرات به ترتیب در نسبت ۱:۱ (۳۰۱۸ نانومتر) و ۱۰:۱ (۴۰۷۰ نانومتر) پروتئین به پلی‌ساکارید مشاهده گردید. پتانسیل زتا از مقدار ۳/۱۱ میلی‌ولت در غیاب صمغ کتیرا تا ۶/۸۲- میلی‌ولت در غلظت ۰/۷۵ درصد صمغ کتیرا تغییر یافت. تصاویر میکروسکوپی نیز وجود ذرات کروی مجزا (به جزء غلظت ۰/۰۵ درصد صمغ کتیرا) را نشان دادند. مناسب‌ترین مدل رئولوژیکی برای بیان رفتار سیالیت کمپلکس‌ها به نسبت پروتئین-پلی‌ساکارید بستگی داشت و رفتار سیالیت غالب بر این سامانه‌ها رفتار رقیق‌شونده با برش بود. افزایش غلظت کتیرا سبب افزایش گرانشی ظاهری، ضریب قوام و مقدار تنش تسلیم شده و به کاهش شاخص توان منجر گردید.

کلید واژگان: صمغ کتیرا، پروتئین آب‌پنیر، کمپلکس تجمعی، اندازه ذرات، پتانسیل زتا

*مسئول مکاتبات: mirzaehabib1@gmail.com

۱- مقدمه

پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها به عنوان بسپارهای زیستی، کاربردهای مختلفی در صنایع غذایی می‌توانند داشته باشند که مهم‌ترین این کاربردها عبارتند از: قوام دهندگی، ژل‌کنندگی، پایدارکنندگی، امولسیون‌کنندگی، تشکیل‌دهنده پوشش و فیلم، عامل ضدبیاتی، جایگزین چربی و کاربرد در ریزپوشانی [۱، ۲]. عوامل مهم تأثیرگذار بر خصوصیات این مواد، وزن مولکولی، شکل مولکولی، غلظت، pH، بار سطحی، قدرت یونی، دما و نوع برهم‌کنش بین پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهاست [۳]. از طرفی در سال‌های اخیر، استفاده از نانو ذرات بسپار زیستی، در سامانه‌های غذایی و دارویی به عنوان حامل ترکیبات زیست فعال و غذا داروها (مانند ویتامین، کاروتنوئیدها، اسیدهای چرب امگا-۳، فلاونوئیدها، استرول‌ها و غیره) مورد توجه زیادی قرار گرفته است و در سامانه‌های رهایشی و دارورسانی جهت انتقال هدف‌دار کاربردهای فراوانی یافته‌اند. نانو ذرات بسپار زیستی به تنهایی از طریق تجمع و به هم پیوستگی زنجیرهای یک نوع بسپار زیستی (پروتئین یا پلی‌ساکارید) یا از طریق کنترل اتصال و کمپلکس شدن مولکول‌های پروتئین و پلی‌ساکارید می‌توانند تولید شوند. نانو ذرات پروتئین - پلی - ساکارید، به علت حفاظت شیمیایی و کلئیدی بالاتر، نسبت به نانو ذرات بسپار زیستی خالص، بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند [۴]. پژوهش‌ها نشان داده است که کمپلکس بین بسپارهای زیستی پروتئینی و پلی‌ساکاریدی دارای پایداری و کاربرد بیشتری نسبت به بسپار زیستی تنها هستند [۵]. در مقایسه با سامانه پروتئینی تنها، ایجاد کمپلکس پروتئین-پلی-ساکارید، بسیاری از ویژگی‌های عملکردی را بهبود می‌دهد، نظیر؛ حلالیت، امولسیفیکاسیون، پایداری خوب در مقابل تغییرات pH، قدرت یونی بالا و افزایش دما [۶]. همچنین رهایش مواد فعال از کمپلکس‌های پروتئین-پلی‌ساکاریدی نسبت به پروتئین تنها، به علت دیواره محکم در طول زمان کمتر اتفاق می‌افتد و در نتیجه مواد فعال بهتر حفظ می‌شوند [۷، ۸]. همچنین برهم-کنش پروتئین و پلی‌ساکارید نقش مهمی در کاربردهای مختلف مواد زیستی و غذایی ایفا می‌کند مانند استفاده در کنترل ساختار و حامل‌های رهایش کنترل شده [۹، ۱۰].

هنگامی که پروتئین و پلی‌ساکارید در یک محیط مایع با هم مخلوط می‌شوند، دو حالت مختلف ناسازگاری ترمودینامیکی (در نتیجه جداشدن بسپار زیست‌یازهم در دو فاز مجزا) یا توده‌ای شدن کمپلکسی (به هم پیوستن بسپارهای زیستی) می‌تواند رخ دهد. بسته به بار الکتریکی موجود روی هر بسپار زیستی و نیز عوامل موثر بر آنها مانند pH، قدرت یونی و اینکه مخلوط در چه شرایطی باشد، امکان وقوع هر دو حالت وجود دارد. جداسازی فازی مجزا در غلظت و قدرت یونی بالا هنگامی که هر دو بسپار زیستی بارهای مشابه دارند رخ می‌دهد که در نتیجه منجر به ایجاد دافعه الکترواستاتیک بین مولکول‌ها می‌گردد. از طرف دیگر جداسازی فازی پیوسته یا توده‌ای شدن کمپلکس معمولاً در غلظت و قدرت یونی کم و وجود بار مخالف در دو بسپار رخ می‌دهد [۱۵-۱۱]. برهم‌کنش‌های جذبی، یشترب ایجاد پیوندهای الکترواستاتیک بین بارهای مخالف بسپارهای زیستی انجام می‌شود و بین پروتئین‌های با بار مثبت در pH کمتر از نقطه ایزوالکتریک ($pH < pI$) و پلی‌ساکاریدهای آنیونی (حاوی گروه‌های کربوکسیل، فسفات و سولفات) یا پروتئین با بار منفی ($pH > pI$) و پلی‌ساکاریدهای کاتیونی (مانند کیتوزان) رخ می‌دهد [۱۱، ۱۶]. توده‌ای شدن کمپلکسی برای ایجاد سامانه‌های حفاظت و رسانش ترکیبات زیست فعال در ریزپوشانی بسیار مورد بررسی قرار گرفته است. به منظور دست‌یابی به پروفیل رهایش مطلوب ترکیبات زیست فعال و رسانش هدف‌دار در سامانه گوارشی بدن انسان، پارامترهای موثر بر تشکیل توده‌ای شدن کمپلکسی توسط بسپارهای زیستی باید بهینه‌سازی گردد [۱۷].

پروتئین‌ها به علت داشتن هر دو نواحی آب‌گریز و آب‌دوست می‌توانند حامل خوبی برای انواع مختلف ترکیبات زیست‌فعال در محیط‌های آبی باشند. پروتئین‌های شیر، به‌ویژه پروتئین آب-پنیر، به طور گسترده‌ای در مطالعات مربوط به سامانه‌های کمپلکسی پروتئین و پلی‌ساکارید مورد استفاده قرار گرفته است [۱۸، ۱۹]. کنسانتره پروتئین آب-پنیر ترکیبی از پروتئین‌های کروی به‌طور عمده شامل بتالاکتوگلوبولین و آلفالاکتالبومین می‌باشد و نیز دارای زنجیرهای آب‌دوست و آب‌گریز و نیز اسیدهای آمینه باردار و غیر باردار می‌باشد

(محدوده ۸-۲) بود. همچنین، مطالعه تاثیر نسبت‌های مختلف بسپارهای زیستی براندازه ذرات، پتانسیل زتا ویژگی‌های رئولوژیکی و ریز ساختاری از اهداف این پژوهش به شمار می‌آید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل هیدروکسید سدیم و اسیدکلریدریک (مرک آلمان)، کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) (مولتی مشهد) و کتیرا (گونه آسترگالوس گوسپینوس) بود. کتیرا از فروشگاه‌های عطاری سنتی شیراز خریداری شد و پس از آسیاب شدن توسط آسیاب آزمایشگاهی (Sanyo ساخت ژاپن) و عبور دادن از الک آزمایشگاهی شماره ۶۰، پودر حاصل برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- آماده‌سازی محلول صمغ کتیرا و کنسانتره پروتئین آب پنیر

مقدار مورد نظر از پودر کتیرا به آب مقطر افزوده شده و به منظور جذب آب و به وجود آمدن بافت یکنواخت به مدت ۱۲ ساعت توسط هم‌زن مغناطیسی هم‌زده شده و پس از ۱۰ دقیقه حرارت دادن در حمام آب گرم (به منظور کمک به جذب آب) با دمای ۷۰ درجه سلسیوس، به منظور تکمیل شدن فرایند جذب آب به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید [۳۳]. محلول کتیرا در چهار غلظت ۰/۰۵، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد تهیه شد. همچنین پودر کنسانتره پروتئین آب پنیر نیز پس از توزین برای تهیه محلول ۰/۵۰ درصد به آب مقطر اضافه شده و پس از ۳۰ دقیقه اختلاط توسط هم‌زن مغناطیسی، جهت اطمینان از انحلال و آبگیری کامل یک شب در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید [۱۹]. کلیه محلول‌ها از روز قبل به صورت تازه تهیه گردید.

۲-۲-۲- تهیه کمپلکس WPC/GT

[۲۰، ۲۱]. این پروتئین به علت دارا بودن ارزش تغذیه‌ای بالا و توانایی در تشکیل ژل‌ها، امولسیون‌ها و کف‌ها به‌طور گسترده-ای در فرآورده‌های غذایی کاربرد دارد [۲۲].

صمغ کتیرا تراوه خشک شده طبیعی حاصل از برخی گونه‌های آسترگالوس بوده و دارای فازهای محلول (تراگاکانتین) و نامحلول (باسورین) در آب می‌باشد. نسبت فاز محلول و نامحلول در کتیرا به شدت وابسته به گونه آن می‌باشد، کمترین نسبت در گونه گوسپینوس گزارش شده است که دارای بالاترین مقدار اسید گالاکتورونیک (۳۷ درصد) در بین گونه‌های آسترگالوس می‌باشد [۲۵-۲۳]. کتیرا به‌عنوان پایدارکننده، امولسیون‌کننده، فوام‌دهنده و جایگزین چربی کاربرد وسیعی در صنایع غذایی دارد. در داروسازی نیز به عنوان ژل‌ساز، عامل معلق‌ساز و چسباننده در تهیه قرص‌ها و داروها و ریزپوشانی مواد مختلف مثل ویتامین‌ها و عطر و طعم استفاده می‌شود [۲۶].

در سال اخیر مطالعات گسترده‌ای برای تولید و به کارگیری کمپلکس (نانو و میکرو) پروتئین‌های مختلف (مانند کازئینات، بتالاکتوگلوبولین، زئین، ژلاتین و غیره) با پلی‌ساکاریدهای آنیونی (پکتین، صمغ عربی، کاراگینان و آلژینات) انجام گردیده است [۳۰-۲۷]. در این رابطه، بررسی‌های انجام شده توسط محققان روی برهم کنش‌های پکتین-بتالاکتوگلوبولین طی تشکیل نانوکمپلکس نشان داد که پیوندهای یونی، هیدروژنی و الکتروستاتیک، اساس شکل‌گیری این کمپلکس را تشکیل می‌دهند و در محدوده‌های زیر نقطه ایزوالکتریک پروتئین و افزودن مقادیر اضافی پکتین، نانوکمپلکس‌های محلول با دافعه الکتروستاتیک قوی ایجاد می‌شود که در نهایت پایداری سیستم کلوئیدی را افزایش می‌دهد [۳۱]. در پژوهشی دیگر، بررسی نانو کمپلکس‌های کیتوزان-زئین حاوی آلفا-توکوفرول نشان داد که عامل تشکیل کمپلکس و پایداری سیستم، برهم‌کنش‌های الکتروستاتیک بین زئین و کیتوزان می‌باشد [۳۲].

با توجه به موارد بیان شده، هدف پژوهش حاضر، یافتن pH مناسب ایجاد کمپلکس کواسرواسیون بین صمغ کتیرا (به‌عنوان صمغ بومی) و کنسانتره پروتئین آب پنیر با توجه به تعیین مقدار کدورت مخلوط بسپارهای زیستی به صورت تابعی از pH

و تعیین نوع رفتار سیالیت نمونه‌ها از روش افزایش شیب‌دار^۱ سرعت برشی استفاده شد. برای این منظور، در یک فاصله زمانی ۱۰ دقیقه، سرعت برشی از 0.1 S^{-1} تا ۶۰۰ افزایش یافت و تنش برشی هر ۱۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. از آنجاییکه سرعت برشی اعمال شده در حفره دهانی حدود $5.0 \times 10^{-1} \text{ S}^{-1}$ می‌باشد [۳۵، ۳۴]؛ لذا، گرانروی ظاهری به‌دست آمده در سرعت برشی $51/2 \text{ S}^{-1}$ به‌عنوان گرانروی ظاهری نمونه‌ها گزارش شد. به‌علاوه، برای تعیین و پیش‌گویی رفتار سیالیت در شرایط مختلف مقدار برآزش داده‌های به‌دست آمده از آزمون‌های عملی با مدل‌های نیوتنی، قانون توان، بینگهام، هرشل-بالکلی و کاسون ارزیابی شد. سپس، مناسب‌ترین مدل ریاضی بر اساس شاخص‌های ضریب تعیین^۲ و ریشه دوم خطای میانگین از استاندارد^۳ انتخاب و نهایتاً شاخص‌های رئولوژیکی برای هر یک از نمونه‌ها گزارش شد [۳۳].

۲-۲-۶- بررسی‌های ریزساختاری

بهم‌منظور بررسی ریزساختار و تهیه عکس‌های میکروسکوپی، از میکروسکوپ نوری Nikon (مدل E1000) و دوربین دیجیتال Canon (مدل DXM 1200) ساخت کشور ژاپن استفاده شد. پس از ریختن یک قطره از نمونه روی لام و قرار دادن لام روی نمونه، از بزرگ‌نمایی حاصل ضرب (چشمی $10 \times$ شیئی ۱۰۰) برای مشاهده ریزساختار نمونه‌ها استفاده شد.

۲-۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج آماری و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 انجام گردید و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (۲۰۱۶) استفاده شد.

۳- یافته‌ها

۳-۱- دیاگرام فازی

شکل ۱ تاثیر pH و غلظت کتیرا بر رفتار فازی محلول کنسانتره پروتئین آب-پنیرو نیز کمپلکس‌های حاصل را نشان می‌دهد.

مخلوط پروتئین و پلی‌ساکارید از اختلاط محلول‌های پلی-ساکاریدی و پروتئینی و همزدن به مدت ۲ ساعت با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه به دست آمد. غلظت پروتئین ثابت (۵۰/۵۰ درصد وزنی/وزنی) در نظر گرفته شد و اثر مقادیر مختلف پلی‌ساکارید از ۰/۰۵ تا ۰/۷۵ درصد وزنی/وزنی (نسبت‌های ۱۰:۹۰، ۳۰:۷۰، ۵۰:۵۰ و ۶۰:۴۰ پروتئین به پلی‌ساکارید) مورد مطالعه قرار گرفت. pH مخلوط‌ها در محدوده ۲ تا ۸ با استفاده از محلول سود و اسید کلریدریک ۰/۱۰ نرمال تنظیم گردید. جهت جلوگیری از فساد میکروبی، سدیم آزید به کلیه نمونه‌ها افزوده شد [۲۳].

۲-۲-۳- دیاگرام فازی

نمونه‌ها با pH مختلف داخل لوله آزمایش شفاف به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. رفتار فازی به صورت چشمی بررسی و نتیجه حاصل در ۴ گروه طبقه‌بندی گردید؛ محلول شفاف، محلول شیری/کدر، محلول کدر با رسوب و محلول شفاف با رسوب [۲۳].

۲-۲-۴- سنجش کدورت

اندازه‌گیری کدورت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف سنج مرئی-فرابنفش (UV-lab Steroglass 2601، ایتالیا) در طول موج ۶۰۰ نانومتر به‌عنوان تابعی از pH در محدوده ۲-۸ انجام شد [۲۳]. نمونه‌ها قبل از اندازه‌گیری جهت یکنواخت شدن کاملاً مخلوط شدند.

۲-۲-۵- سنجش اندازه ذرات و پتانسل زتا

توزیع اندازه ذرات، قطر متوسط آنها و نیز پتانسل زتا توسط دستگاه زتا سایزر (ZENa3600Malvern، انگلستان) پس از رقیق‌سازی نمونه‌ها (تا ۱۰۰ برابر)، توسط آب دارای pH یکسان با نمونه، در دمای محیط اندازه‌گیری شد.

۲-۲-۵- اندازه‌گیری ویژگی‌های رئولوژیکی

بهم‌منظور بررسی ویژگی‌های رئولوژیکی نمونه‌ها از دستگاه رئومتر (Anton Paar Rheolab QC، آلمان) مجهز به ژئومتری استوانه‌های هم‌مرکز استفاده گردید و اندازه‌گیری در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس صورت گرفت. برای اندازه‌گیری تنش برشی و گرانروی به‌صورت تابعی از سرعت برشی

1. Ramp increase
2. R2
3. RMSE: Root Mean Standard Error

ایجاد پوشش مناسب در سطح پروتئین و ایجاد دافعه فضایی به- دلیل شاخه‌های جانبی موجود در ساختار این هیدروکلوئید سبب ایجاد پایدارگردید [۴۴].

همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود تقریباً هیچ برهم-کنشی بین پروتئین و پلی‌ساکارید در pH های ۲ و ۲/۵ وجود ندارد، چرا که گروه‌های کربوکسیل هیدروکلوئیدها در این pH پروتونه می‌گردد [۲۳، ۱۳].

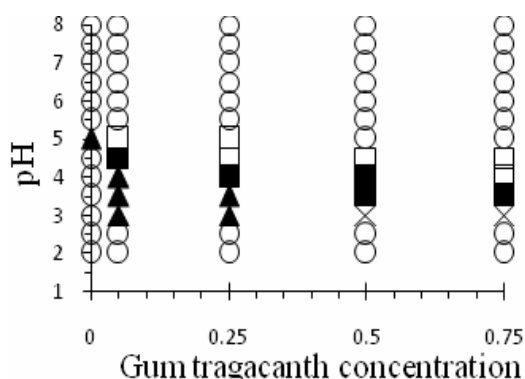


Fig 1 State diagram of aqueous solution system in a wide range of pH (2-8) as a function of gum concentration. The amount of protein in the entire samples is 0.5% (w/w). The solubility/insolubility was evaluated by visual observation: (O) clear solution, (□) cloudy/milky solution, (■) precipitation and cloudy solution, and (▲) precipitation and clear solution.

احتمالاً ظاهر شفاف مخلوطها در این pH ها تا حدودی مربوط به دافعه الکترواستاتیک بین بارهای مثبت زیاد پروتئین می-باشد، به علاوه بیان شده است که بتالاکتوگلوبولین به شکل مونومر در pH ۲ وجود دارد [۲۳، ۴۵]. به طور کلی کارایی پلی‌ساکارید جهت تشکیل کمپلکس نه تنها به ساختار و انعطاف پذیری زنجیره‌اش وابسته می‌باشد بلکه با توزیع و مقدار گروه‌های عاملی آن نیز در ارتباط می‌باشد [۱۳].

۲-۳- سنجش کدورت

اندازه‌گیری کدورت جهت بررسی تاثیر تغییر نسبت پروتئین-پلی‌ساکارید بر تشکیل کمپلکس و یافتن pH بهینه صورت پذیرفت. نتایج حاصل در شکل ۲ نشان می‌دهد که در یک

محلول‌های کنسانتره پروتئین آب-پنیر در pH ۵ رسوب داده و روندی متفاوت از حالت مخلوط با کتیرا نشان دادند. معمولاً رسوب در pH های نزدیک به pH ایزوالکتریک به علت برابر شدن بارهای مثبت و منفی رخ می‌دهد. pH ایزوالکتریک پروتئین آب-پنیر در پژوهش‌های مختلف در محدوده ۴/۴ تا ۵/۴ گزارش شده است [۳۶-۳۹]. در pH های بالاتر و پایین‌تر از نقطه ایزوالکتریک به ترتیب غالب بودن بارهای منفی و مثبت در محلول پروتئینی و وجود دافعه الکترواستاتیک مانع از نزدیک شدن ذرات پروتئینی به یکدیگر و در نتیجه مشاهده محلول شفاف می‌گردد [۴۰-۴۲].

با توجه به شکل ۱ افزودن صمغ کتیرا در غلظت پایین سبب تشکیل رسوب در pH های ۳ تا ۴/۵ گردید، با افزایش غلظت، محدوده و نیز pH تشکیل رسوب کاهش یافت که می-تواند به علت افزایش بار منفی ناشی از گروه‌های عاملی (کربوکسیل) صمغ کتیرا و در نتیجه نیاز به بار مثبت بیشتر پروتئین در pH پایین‌تر باشد. نتایج نشان داد که در صورت مناسب بودن غلظت کتیرا امکان تشکیل کمپلکس‌های محلول در محدوده وسیعی از pH وجود دارد. به طوری که در غلظت ۰/۷۵ درصد تشکیل رسوب فقط در pH ۳ مشاهده گردید. در پژوهش‌های مختلف انجام شده نیز نتایج مشابهی حاصل شده است. جورداین و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که رسوب ایجاد شده در pH های ۳/۵ تا ۵ در مخلوط کازئینات سدیم-دکستران سولفات در غلظت پایین بسیار قندی مربوط به رسوب نرمال کازئینات سدیم در اطراف pH ایزوالکتریک پروتئین می‌باشد و رسوب ایجاد شده در pH های ۲ تا ۳/۵ نشان‌دهنده تشکیل کمپلکس نامحلول با توجه به وجود جاذبه قوی بین دو بسپار زیستی توسط بارهای مخالف می‌باشد [۴۲]. مشاهده رسوب در pH ۴ و کمتر در این پژوهش می‌تواند مربوط به ناکافی بودن مقدار صمغ کتیرا و نداشتن کارایی لازم جهت جلوگیری از تجمع ذرات پروتئینی باشد [۴۳]. ناکافی بودن صمغ کتیرا سبب ایجاد اتصال آن به بیش از یک مولکول پروتئین و در نتیجه ایجاد تجمع می‌گردد. در حالیکه، افزودن مقدار کتیرا به مقدار کافی، علاوه بر رفع این مشکل، به علت

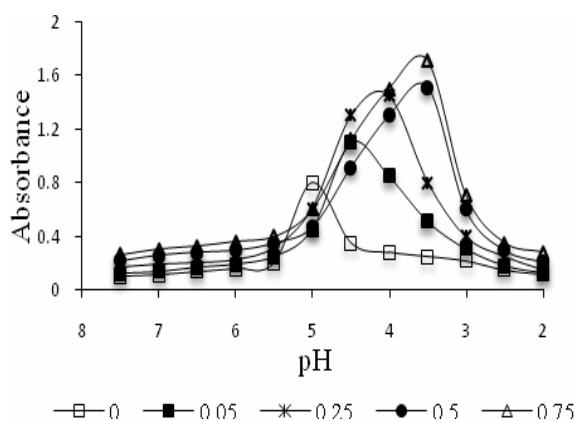


Fig 2 Whey protein concentrate–tragacanth gum complex absorbance as a function of pH and tragacanth gum concentration. The amount of protein in the entire samples is 0.5% (w/w).

۳-۳- اندازه ذرات

نتایج حاصل از سنجش اندازه ذرات بر اساس دو شاخص قطر متوسط ذرات^۱ و بس‌پاشندگی^۲ در جدول ۱ نشان داده شده است. با تغییر نسبت پروتئین- پلی ساکارید ممکن است کاهش یا افزایش در اندازه ذرات مشاهده گردد. نتایج نشان دادند که با افزایش مقدار صمغ کتیرا تا غلظت ۰/۵۰ درصد، در غلظت ثابت پروتئین اندازه ذرات روند کاهشی داشت. با توجه به برهم‌کنش‌هایی که بین پروتئین و پلی ساکارید رخ می‌دهد می‌توان افزایش اندازه ذرات در غلظت کم کتیرا را به ناکافی بودن مقدار آن جهت پوشش سطح پروتئین نسبت داد که به علت ایجاد پلی شدن تجمعی و اتصال یک مولکول کتیرا با چند مولکول پروتئین سبب افزایش اندازه ذرات گشته است. به نظر می‌رسد که افزایش مقدار صمغ کتیرا سبب فراهم گشتن مقدار کافی صمغ جهت پوشاندن کامل سطح پروتئین شده و با ایجاد نیروهای دافعه الکترواستاتیک و دافعه فضایی مانع از تجمع و به هم چسبیدن ذرات و در نهایت تولید ذرات با اندازه کوچک‌تر گشته است [۳۹]. همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود افزایش مقدار صمغ کتیرا از ۰/۵۰ به ۰/۷۵ درصد به افزایش اندازه ذرات منتهی شده است؛ احتمالاً، افزایش مقدار این صمغ سبب شده که مولکول‌های بیش‌تری از طریق جاذبه الکترواستاتیک به پروتئین‌ها متصل شده و ذرات بزرگ‌تر شوند.

نسبت ثابت پروتئین- پلی ساکارید با کاهش pH از ۸ به ۲، شدت کدورت افزایش یافته و پس از رسیدن به یک مقدار حداکثری مجدداً کاهش داشت. با توجه به پدیده‌هایی که در حضور پروتئین و پلی ساکارید در محلول آبی رخ می‌دهد می‌توان افزایش کدورت را بدین صورت توصیف نمود؛ در pHهای بالا به علت وجود بار منفی در هر دو بسیار زیستی و وجود دافعه الکترواستاتیک، سامانه حالت محلول و پایدار خواهد داشت، برهم‌کنش پروتئین و پلی ساکارید در pHهای بالاتر از pH ایزوالکتریک، محدوده‌ای که هر دو بسیار دارای بار منفی می‌باشند، در پژوهش‌های پیشین نیز گزارش شده است [۴۳].

با کاهش pH و افزایش بار مثبت پروتئین، برهم‌کنش بین دو بسیار زیستی به واسطه وجود جاذبه الکترواستاتیک صورت گرفته و سبب تشکیل کواسروات محلول می‌گردد که با افزایش مقدار کواسروات تشکیل شده شدت کدورت و در نتیجه آن مقدار جذب افزایش می‌یابد، با کاهش بیشتر pH و برابر شدن بارهای مثبت و منفی موجود در سامانه تجمع، رسوب و به عبارت دیگر کواسروات نامحلول تشکیل می‌گردد که حداکثر کدورت و جذب مشاهده می‌گردد. با کاهش بیشتر pH مجدداً مقدار جذب کاهش می‌یابد که می‌تواند نشان‌دهنده ناپایدار بودن کمپلکس‌های تشکیل یافته و تخریب آنها باشد [۴۶، ۴۷]. در برخی مقالات حداکثر جذب را به تجمع ذرات ناشی از وجود نیروهای جاذبه شامل جاذبه هیدروفوبیک، نیروهای واندروالسی و الکترواستاتیک مربوط دانستند [۲۳].

با توجه به نتایج حاصل از بررسی دیاگرام فازی، از آنجایی که در pHهایی که حداکثر کدورت مشاهده شده تجمع و ناپایداری رخ داده است لذا بالاترین pH مشترکی که کدورت (بدون دوفاز شدن) در آنها مشاهده شد به عنوان pH بهینه برای بررسی‌های بعدی انتخاب گردید. بر این اساس، pH ۴/۵ به عنوان pH مناسب جهت تشکیل کمپلکس که به دوفاز شدن سامانه منجر نمی‌شود جهت بررسی‌های بیشتر و تعیین غلظت بهینه انتخاب شد.

1Z-average
2PDI: Particle dispersibility index

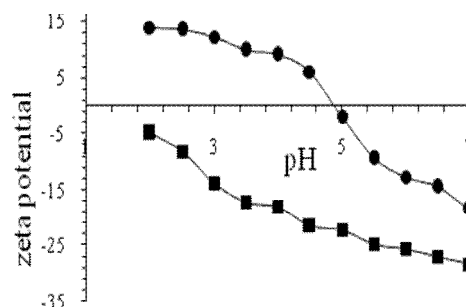
Table 1 Complex particle size as a function of gum tragacanth concentration

Gumtragacanth concentration (%)	0.05	0.25	0.50	0.75
Z-average (nm)	4070 ^a	4005 ^b	3018 ^c	3143 ^d
PDI	1.00	1.00	1.00	1.00

صمغ کتیرا از ۳۵- به ۱- میلی ولت کاهش یافت. صمغ کتیرا هیدروکلوئیدی با بار سطحی منفی می باشد که در مطالعات قبلی محققان نیز به این امر اشاره شده است. با کاهش pH به - علت پروتونه شدن گروه های اسید کربوکسیلیک از مقدار بار منفی آن کاسته می شود [۲۳]. لذا، یافته های این بخش با پژوهش های پیشین همخوانی دارد. نتایج حاصل از اندازه گیری پتانسیل زتای کمپلکس ها در جدول ۲ ارائه شده است. همان طور که مشاهده می گردد در عدم حضور صمغ کتیرا، بار سطحی پروتئین در pH مشخص شده (۶/۵) مثبت و مقدار عددی آن ۳/۱۱ (که زیر نقطه ایزوالکتریک قرار دارد) بود و با افزودن صمغ کتیرا مقدار پتانسیل زتا از مثبت به منفی تغییر یافت که می تواند نشان دهنده قرارگیری کتیرا بر سطح پروتئین باشد چرا که با افزایش مقدار صمغ کتیرا بر مقدار بار منفی نیز افزوده شده است. طوری که با افزایش مقدار صمغ از ۰/۰۵ به ۰/۷۵ درصد مقدار پتانسیل زتا از ۱/۱۴- به ۶/۸۲- میلی ولت رسید.

۳-۴- پتانسیل زتا

همان طور که در شکل ۳ مشاهده می گردد با کاهش pH، بار الکتریکی منفی سطح پروتئین کاهش یافته و در pH اسیدی بار مثبت حاکم می باشد. همچنین، نقطه ایزوالکتریک (پتانسیل زتا صفر) پروتئین در pH حدود ۵ مشاهده شد.

**Fig 3** Zeta potential of gum tragacanth (■) and whey protein concentrate (●)

به علاوه، مشاهده شد که با تغییر pH از ۸ به ۲، پتانسیل زتای

Table 2. Zeta potential of whey protein concentrate- gumtragacanth complex (pH=4.5)

Tragacanth concentration (%)	0.00	0.05	0.25	0.50	0.75
Zeta potential (mV)	+3.11 ^a	-1.14 ^b	-5.64 ^c	-6.02 ^d	-6.82 ^e

غلظت ها بیشترین مقدار ضریب تعیین در مدل هرشل بالکلی مشاهده گردید. شکل ساختاری پروتئین در شرایط اسیدی، پیوندهای بین مولکولی و ویژگی های ترمودینامیکی پروتئین نوع برهم کنش بین ذرات و رفتار رئولوژیکی سامانه را تعیین می کند [۴۸].

۳-۵- ویژگی های رئولوژیکی

همان طور که از نتایج جدول ۳ مشاهده می گردد نمونه حاوی ۰/۲۵ و ۰/۰۵ درصد صمغ کتیرا بیشترین ضریب تعیین (R^2) را به ترتیب با مدل های بینگهام و قانون توان نشان دادند و در سایر

Table 3. Comparison of the effect of gumtragacanth concentration on the rheological behavior of complexes fitted with mathematical models

Samples	Index	Mathematical Models				
		Newtonian	Bingham	Power law	Herschel-Bulkley	Casson
WPC: TG (0.5:0.05)	RMSE	0.2556	0.0028	0.2111	—	—
	R^2	0.9578	0.9999	0.9907	—	—
WPC: TG (0.5:0.25)	RMSE	0.7647	0.1691	0.0827	0.0834	0.2438
	R^2	0.8136	0.9911	0.9979	0.9979	0.9961
WPC: TG (0.5:0.50)	RMSE	1.575	0.2103	0.2699	0.1226	0.2124
	R^2	0.6351	0.9936	0.9893	0.9977	0.9963
WPC: TG (0.5:0.75)	RMSE	3.305	0.4899	0.8026	0.1912	0.4839
	R^2	0.4558	0.9857	0.9664	0.9981	0.9941

کمپلکس حاصل از کازئینات سدیم و فاز محلول صمغ فارسی از مدل هرشل بالکلی تبعیت نموده که در pH های ۲ و ۳ به مدل بینگهام تغییر می‌یابد و کمپلکس حاصل از کنسانتره پروتئین آب-پنیر با فاز محصول صمغ فارسی رفتار سیالیت قانون توان را دارا بوده که در pH ۲ به مدل بینگهام تغییر رفتار می‌دهد [۲۳].

شاخص‌های مربوط به مدل‌های رفتار سیالیت در جدول ۴ آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد افزایش غلظت صمغ کتیراموجب افزایش گرانروی شده است. در پژوهش‌های گذشته نیز به افزایش گرانروی انواع کمپلکس‌ها با افزودن هیدروکلوئیدهای مختلف اشاره شده است [۲۳، ۳۷].

همچنین نوع و غلظت پلی‌ساکارید و شرایط سامانه مانند pH از عوامل موثر بر تعیین رفتار سامانه می‌باشد [۲۳، ۴۸].

وو و همکاران (۲۰۱۴) ویژگی‌های رئولوژیکی کمپلکس ژلاتین و پکتین را مورد بررسی قرار دادند. مدل متناسب با رفتار جریان این کمپلکس هرشل بالکلی معرفی گردید [۴۹]. آذری‌کیا و عباسی (۲۰۱۵) ویژگی‌های رئولوژیکی کمپلکس حاصل از پروتئین‌های کازئینات سدیم و کنسانتره پروتئین آب-پنیر با صمغ‌های بومی ایران (فاز محلول صمغ کتیرا و فاز محلول صمغ فارسی) را مورد بررسی قرار دادند. رفتار سیالیت کمپلکس حاصل از هر دو پروتئین با فاز محلول صمغ کتیرا از مدل قانون توان تبعیت نموده و مستقل از pH معرفی گردید.

Table 4 The effect of gum tragacanth concentration on the apparent viscosity and variables of the Power law, Bingham and Herschel-Bulkley

Sample	Apparent viscosity (mPa.s) ($\eta/\dot{\gamma}$)	Consistency coefficient (k) (mPa.s ⁿ)	Power index (n)	Yield stress (σ_0) (mPa)
WPC:GT ¹ (0.5:0.05)	7.03	—	—	2.071
WPC:GT ² (0.5:0.25)	47.31	0.1382	0.6426	—
WPC:GT ³ (0.5:0.50)	73.81	0.0631	0.7909	2.357
WPC:GT ³ (0.5:0.75)	132.24	0.1362	0.7411	4.563

1- Bingham 2- Power law 3- Herschel-Bulkley

کمپلکس‌ها کاهش یافت که نشان‌دهنده وجود رفتار رقیق‌شونده با برش در سامانه می‌باشد.

کرویف و همکاران (۲۰۰۴) برای سامانه حاوی کمپلکس پروتئین آب-پنیر و صمغ عربی در سرعت‌های برشی کمتر از 30 s^{-1} رفتار رقیق‌شونده با برش‌خیلی محدود گزارش کردند و در سرعت‌های بالاتر کاهش سریع در گرانروی مشاهده گردید [۱۳]. چن و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی ویژگی‌های رئولوژیکی کمپلکس ایزوله پروتئین آب-پنیر و پکتین، بیان کردند که گرانروی کواسرووات کمپلکسی خیلی بالاتر از محلول هر یک به تنهایی بوده و رفتار رقیق‌شونده با برش در سامانه مشاهده گردید [۳۶].

عباسی و رحیمی (۲۰۰۶) نیز در پژوهش خود گزارش کردند هر افزایشی در غلظت کتیرا منجر به افزایش گرانروی می‌گردد [۴۸]. همچنین با توجه به قابلیت جذب آب توسط باسورین، می‌توان گفت جذب آب بیشتر به واسطه افزایش غلظت باسورین نیز سبب افزایش در گرانروی خواهد شد. در این راستا، محمدی‌فر و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که محلول تراگاکانتین دارای گرانروی کمتری نسبت به تعلیق‌های باسورین و کتیرا می‌باشد [۲۶].

کمتر بودن شاخص توان از ۱ و بررسی روند تغییرات گرانروی به صورت تابعی از سرعت برشی (شکل ۴) تاییدکننده رفتار شبه‌پلاستیک (سودوپلاستیک) می‌باشد [۳۳]. همان‌طور که مشاهده می‌گردد با افزایش سرعت برشی، گرانروی کلیه

۳-۶- بررسی‌های ریزساختار

تصاویر مربوط به بررسی ریزساختار کمپلکس‌ها در شکل ۴ ارائه شده است. قطرات کروی و همگن در کلیه نمونه‌ها به جزء نمونه حاوی ۰/۰۵ درصد صمغ کتیرا مشاهده می‌گردد که با نتایج حاصل از بررسی دیگرام فازی نیز مطابقت دارد. در این غلظت، ناکافی بودن مقدار صمغ کتیرا و اتصال یک مولکول به چند مولکول پروتئین، سبب ایجاد تجمعات و رسوب می‌گردد. در غلظت‌های بالاتر، ذرات کروی مجزا مشاهده گردید که نشان دهنده کافی بودن غلظت کتیرا جهت پوشش هر مولکول پروتئین می‌باشد. قرارگیری کتیرا در سطح پروتئین با ایجاد دافعه فضایی و الکترواستاتیک مانع از اتصال ذرات به یکدیگر و در نتیجه پایداری سامانه گردید.

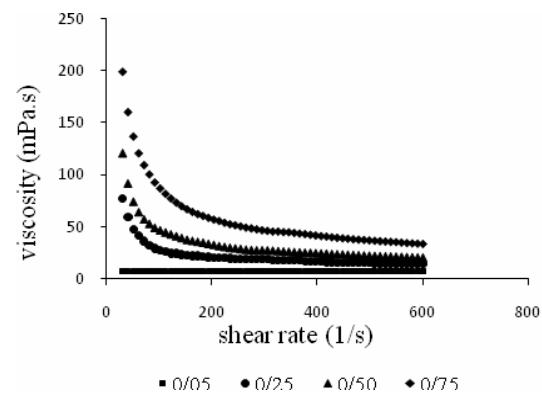


Fig 4 Viscosity variations versus shear rate with different concentrations of gumtragacanth and 0.5% protein, measured at 10 °C.

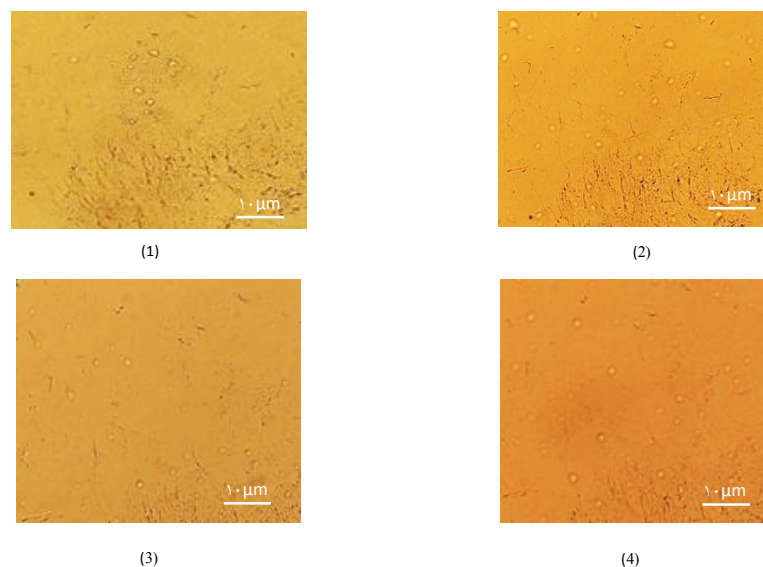


Fig 5. Microstructure images of complexes (10×100). Clear circles represent a complex protein concentration in all samples was 0.5% and gum tragacanth concentration was: 1) 0.05% 2) 0.25% 3) 0.50% 4) 0.75%.

در استفاده از کتیرا جهت پایدارسازی نوشیدنی‌های اسیدی شیر نیز تصاویر میکروسکوپی مشابهی رویت گردید. گزارش شده که در این نوع نوشیدنی‌ها افزودن صمغ‌های جاذبی مانند فاز محلول کتیرا و پکتین با قرارگیری در سطح پروتئین کازئین و ایجاد دافعه فضایی و الکترواستاتیکی سبب ایجاد پایداری می‌گردد. قطرات کروی مجزا و همگن موجود در تصاویر میکروسکوپی نیز تایید کننده این فرضیه بود [۴۴، ۵۰].

در بررسی تصاویر میکروسکوپی کمپلکس ایزوله پروتئین آب-پنیر با صمغ‌های پکتین با متوکسیل بالا، پکتین با متوکسیل پایین و کربوکسی متیل سلولوز در pH ۴ جهت ریزپوشانی لوتئین در pH ۴ ذرات بزرگ‌تر کمپلکس مشاهده گردید و با افزودن هر یک از صمغ‌ها قطرات کروی کوچک‌تری مشاهده گردید که دلیل آنرا به صمغ‌های باردار منفی ارتباط دادند که به صورت یکنواخت، سطح پروتئین را پوشش می‌دهد [۳۵].

lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for omega 3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloid*, 23:1120-26.

- [6] Liu, L., Zhao, Q., Liu, T., Kong, J., Long, Z. and Zhao, M. (2012). Sodium caseinate/carboxymethylcellulose interactions at oil-water interface: Relationship to emulsion stability. *Food Chemistry*, 132: 1822-1829.
- [7] Garti, N. (2008). *Delivery and Controlled release of bioactives in foods and nutraceuticals*. Cambridge England, Woodhead Publishing Limited. 497.
- [8] Teng, Z., Luo, Y. and Wang, Q. (2013). Carboxymethyl chitosan-soy protein complex nanoparticles for the encapsulation and controlled release of vitamin D3. *Food Chemistry*, 14:1524-1532.
- [9] Fang, Y., Li, L., Inoue, C., Lundin, L. and Appelqvist, I. (2006). Associative and segregative phase separations of gelatin/k-carrageenan aqueous mixtures. *Langmuir*, 22: 9532-9537.
- [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/egg Arabic complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 1521-1526.
- [11] Turgeon, S.L. and Laneville, S.I. (2006). *Modern biopolymer science*, Elsevier, USA, Chapter. 11, 339-342.
- [12] Doublier, J. L., Garnier, C., Renard, D. and Sanchez, C. (2000). Protein-polysaccharide interactions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 5:202-214.
- [13] DeKruif, C. G., Weinbreck, F. and de Vries, R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9:340-349.
- [14] Turgeon, S. L., Beaulieu, M., Schmitt, C. and Sanchez, C. (2003). Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8: 401-414.
- [15] Salminen, H. and Weiss, J. (2013). Electrostatic adsorption and stability of whey protein-pectin complexes on emulsion interfaces. *Food Hydrocolloids*, 31: 1-10.
- [16] Matalanis, A., Jones, O. and McClements, D.J. (2011). Structure biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic

۴- نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که در غلظت ثابت پروتئین افزایش مقدار صمغ کتیرا، مقدار کدورت افزایش و pH تشکیل کمپلکس کاهش می‌یابد. تغییر اندازه ذرات روند متغیر داشته طوری که کوچک‌ترین و بزرگ‌ترین اندازه ذرات به ترتیب در غلظت ۰/۵ درصد و ۰/۰۵ صمغ کتیرا حاصل گردید. مقدار پتانسیل زتا با افزایش غلظت صمغ در جهت منفی افزایش یافت. همچنین، افزایش غلظت کتیرا سبب افزایش گرانیرویسامانه شده و نتایج حاصل از برازش داده‌ها و تغییرات گرانیروی با افزایش سرعت برشی، وجود رفتار شبه پلاستیکی و رقیق شونده با برش را در کلیه نمونه‌ها تایید نمود. بررسی ریز ساختار نیز وجود ذرات کروی و مجزا که نشان‌دهنده پایداربود را نشان داد.

۵- سپاسگزاری

بدین وسیله از شرکت فرآورده‌های لبنی کاله و نیز دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که در پیش‌برد این پژوهش همکاری فراوان داشته‌اند سپاسگزاری می‌گردد.

۶- منابع

- [1] Aiqian, Y. (2008). Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction. *International Journal of Food Science and Technology*, 43:406-415.
- [2] Turgeon, S. L. and Laneville, S. I. (2006). Protein polysaccharide coacervates and complexes: From scientific background to their application as functional ingredients in food products. Kasapis, S., Norton, T. I. and Ubbink, B. J. London. Academic Press. 339-342.
- [3] Goh, K. T. K., Sarkar, A. and Singh, H. (2008). Milk protein-polysaccharide interaction. Thompson, A., Boland, M. and Singh, H. (Ed), *Milk proteins: from expression to food*, 5:347-368.
- [4] Jones, O., Andrew, E. D. and McClements, D. J. (2010). Thermal analysis of β -lactoglobulin complexes with pectins or carrageenan for production of stable biopolymer particles. *Food Hydrocolloids*, 24:239-248.
- [5] Zimet, P. and Livney, Y.D. (2009). Beta-

- soluble part of gum tragacanth exudate from *Astragalus gossypinus*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 38: 31-39.
- [27] Ye, A., Flanagan, J. and Singh, H. (2006). Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum arabic. *Biopolymers*, 82: 121-133.
- [28] Peinado, I. Lesmes, U., Andres, A. and McClements, D. J. (2010). Fabrication and morphological characterization of biopolymer particles formed by electrostatic complexation of heat treated lactoferrin and anionic polysaccharides. *Langmuir*, 26: 27-34.
- [29] Harnsilawata, T., Pongsawatmanita, R. and McClements, D. J. (2006). Characterization of blactoglobulin–sodium alginate interactions in aqueous solutions: A calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study. *Food Hydrocolloids*, 20: 577-585.
- [30] Zimet, P., Rosenberg, D. and Livney Y. D. (2011). Re-assembled casein micelles and casein nanoparticles as nano-vehicle for w-3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 25: 1270-1276.
- [31] Girard, M, Turgeon, S. L. and Gauthier, S. F.(2003). Thermodynamic parameters of beta-lactoglobulin –pectin complexes assessed by isothermal titration calorimetry. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 51:4450-4455.
- [32] Luo, Y., Zhang, B., Whent, M. and Wang, Q.(2011). Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of tocopherol, and its in vitro controlled release study. *Colloid Surface Bioscience*, 85, 145-152.
- [33] Mohammadi, S., Abbasi, S. and Hamidi, Z.(2010). Effects of hydrocolloids on physical stability, rheological and sensory properties of milk-orange juice mixture. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 5: 1-12.
- [34] Abbasi, S. (1386). *Texture and viscosity of food: Concept and Measurement*. Tehran. Marze Danesh. 384.
- [35] Muhoza, B., Karangwa, E., Zhang, X. and Shuqin, X. (2016). Effect of pH, polysaccharide concentrations on properties of lutein-loaded oil whey protein isolate in water based emulsions. *Journal of Academia and Industrial Research*, 4: 230-235.
- [36] Chen, B., Li, H., Ding, Y. and Suo, H. compounds. *Food Hydrocolloid*, 3: 1-16,
- [17] Thimma, R. T. and Tammishetti, S. (2003). Study of complex coacervation of gelatin with sodium carboxymethyl guar gum: microencapsulation of clove oil and sulphamethoxazole. *Journal of Microencapsulation*, 20: 203-210.
- [18] Livney, Y.D. (2010). Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15: 73-83.
- [19] Ghasemi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E. and Khomeiri, M. (2017). Production of pectin-whey protein nano-complexes as carriers of orange peel oil. *Carbohydrate Polymers*, 177: 369-377.
- [20] Assadpour, E., Maghsoudlou, Y., Jafari, S.M., Ghorbani, M. and Aalami, M. (2016). Optimization of folic acid nano-emulsification and encapsulation by maltodextrin-whey protein double emulsions. *International journal of biological macromolecules*, 86: 197-207.
- [21] Ghasemi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E. and Khomeiri, M. (2017). Nanoencapsulation of d-limonene within nanocarriers produced by pectin-whey protein complexes. *Food Hydrocolloids*, 77:152-162.
- [22] GBassi, g., Yolou, F., Sarr, S., Atheba, P., Amin, C. and Ake, m. (2012). Whey protein analysis in aqueous medium and in artificial gastric and intestinal fluids. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6: 1828-1837.
- [23] Azarikia, F. and Abbasi, S. (2015). Mechanism of soluble complex formation of milk proteins with native gums (tragacanth and Persian gum). *Food Hydrocolloids*, 59:35-44.
- [24] Gavlighi, H. A., Meyer, A. S., Zaidel, D. N. A., Mohammadifar, M. A. and Mikkelsen, J. D. (2013). Stabilization of emulsion by gum tragacanth (*Astragalus* spp.) correlated to the galacturonic acid content and methoxylation degree of the gum. *Food Hydrocolloids*, 31: 5-14.
- [25] Balaghi, S., Mohammadifar, M. A., Zargaraan, A., Gavlighi, H. A. and Mohammadi, M. (2011). Compositional analysis and rheological characterization of gum tragacanth exudates from six species of Iranian *Astragalus*. *Food Hydrocolloids*, 25: 1775-1784.
- [26] Mohammadifar, M. A. Musavi, S. M. Kiumarsi, A. and Williams, P. (2006). Solution properties of tragacanthin (water-

- complexation in solution. *Food Hydrocolloids*, 22: 647-659.
- [43] Kizilay, E., Kayitmazer, A. B. and Dubin, P. L. (2011). Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids. *Advances in Colloid and Interface Science*, 167: 24-37.
- [44] Azarikia, F. and Abbasi, S. (2010). On the stabilization mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by gum tragacanth. *Food Hydrocolloids*, 24: 358-363.
- [45] Kiani, H., Mousavi, S. M. A. and Emam-Djomeh, Z. (2008). Rheological properties of Iranian yoghurt drink, Doogh. *International Journal of Dairy Science*, 3: 71-78.
- [46] Hasandokht Firooz, M., Mohammadifar, M. A. and Haratian, P. (2012). Self-assembly of b-lactoglobulin and the soluble fraction of gum tragacanth in aqueous medium. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50: 925-931.
- [47] Guzey, D. and 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.
- [48] Abbasi, S. and Rahimi, S. (2006). Influence of concentration, temperature, pH, and rotational speed on the flow behavior of Iranian gum tragacanth (Katira) solutions. *Iranian Journal of Food Science & Technology*, 2: 29-42.
- [49] Wu, B., Degner, B. and McClements, D. J. (2014). Soft matter strategies for controlling food texture: formation of hydrogel particles by biopolymer complex coacervation. *Journal of Physics*, 26:1-11.
- [50] Abbasi, S. and Mohammadi, S. (2013). Stabilization of milk-orange juice mixture using Persian gum: efficiency and mechanism. *Food Bioscience*, 2: 53-60.
- (2012). Formation and microstructural characterization of whey protein isolate/beet pectin coacervations by laccase catalyzed cross-linking. *Food Science and Technology*, 47: 31-38.
- [37] Gentes, M. C., Daniel, S. G., Sylive, L. and Turgeon, S. (2010). Stabilization of whey protein isolate-pectin complexes by heat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 7051-7058.
- [38] Combrinck, J., Otto, A. and du Plessis, J. (2014). Whey protein/polysaccharide-stabilized emulsions: effect of polymer type and pH on release and topical delivery of salicylic Acid. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 15: 588-600.
- [39] Khoshmanzar, M., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., Sowti, M. and Rezayi Mokarram, R. (1391). Investigation of effective parameters on particle size, zeta potential and steady rheological properties of colloidal system based on carrageenan-caseinate nanoparticles. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4: 255-272.
- [40] Azizanbari, Ch., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H. and Hosseini, M. (1392). Gellan -caseinate nanocomplexes as a carrier of omega-3 fatty acids: study of particle size, rheological properties and encapsulation efficiency. *Journal of Food Processing and preservation*, 5: 19-24.
- [41] Jones, O., Andrew, E. D. and McClements, D. J. (2010). Thermal analysis of b-lactoglobulin complexes with pectin or carrageenan for production of stable biopolymer particles. *Food Hydrocolloids*, 24: 239-248.
- [42] Jourdain, L., Leser, M. E., Schmitt, Ch, Michel, M. and Dickinson, E. (2008). Stability of emulsions containing sodium caseinate and dextran sulfate: relationship to

Evaluation of rheological and structural characteristics of whey protein concentrate- gum tragacanth complex coacervation

Mohammadi, S. ¹, Mirzaei, H. ^{2*}, Jafari, S. M. ³, Azarikia, F. ⁴

1. PhD Student, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
2. Associate professor, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
3. Professor, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
4. Assistant professor, Department of Food Technology, College of Abouraihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran

(Received: 2018/08/05 Accepted: 2019/03/02)

Complex coacervation is generated through electrostatic interaction between oppositely charged biopolymers (proteins and polysaccharides). Complexation via electrostatic interactions can lead to formation of soluble or insoluble complexes. In the current research, the production and characteristics of the complexes formed from whey protein concentrate (WPC) and gum tragacanth (GT) were evaluated. In order to find the optimum pH for complexation, absorbance of protein-polysaccharide mixtures were measured at a wide range of pH (2–8). Furthermore, particle size, zeta potential, microstructure and rheological properties of the complexes were investigated. Based on the results, the best condition to form complex between WPC and GT was found to be at pH=4.5. With increasing the amount of GT up to 0.75% w/w in a constant protein concentration (0.5% w/w), the lowest and highest particle size for WPC-GT complex was found at protein: polysaccharide ratio of 1:1 (3018 nm) and 10:1 (4070 nm), respectively. Zeta potential changed from +3.11 mV (0% gum tragacanth) to -6.82 mV due to addition of GT (0.75% w/w). Microscopic images showed the presence of separate spherical particles, except at the concentration of 0.05% w/w. The appropriate rheological model to predict flow behavior of complexes was depended on protein-polysaccharide ratio and the dominant flow behavior index was found to be shear thinning. Increasing of GT concentration lead to lower flow behavior index as well as higher apparent viscosity, consistency coefficient and the yield stress.

Keywords: Gum Tragacanth, Whey protein, Complex coacervation, Particle size, Zeta potential.

* Corresponding Author E-Mail Address: mirzaei Habib1@gmail.com