

بررسی اثر صمغ دانه بالنگو شیرازی و پروتئین آب پنیر بر پایداری امولسیون روغن در آب

وحیده سادات حسینی^{۱*}، مسعود نجف نجفی^۲، علی محمدی ثانی^۳، آرش کوچکی^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، قوچان، ایران

* نویسنده مسئول (vahideh86_hosseini@yahoo.com)

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، مؤسسه آموزش عالی علمی- کاربردی وزارت جهاد کشاورزی

۳- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، قوچان، ایران

۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۶

تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۶/۱۰

واژه‌های کلیدی

امولسیون

بالنگو شیرازی

پتانسیل زتا

صمغ

طرح مرکب مرکزی

هدف این مطالعه، بررسی تأثیر صمغ دانه بالنگو شیرازی بر خصوصیات امولسیون روغن در آب تثبیت شده با پروتئین آب پنیر با استفاده از روش آماری طرح مرکب مرکزی بود. بدین منظور امولسیون با غلظت‌های مختلف پروتئین (۵/۰ تا ۳ درصد)، صمغ (صفر تا ۰/۳ درصد) و روغن (۲۰ تا ۵۰ درصد) تولید گردید. ویژگی‌های امولسیون نظیر قطر متوسط ذرات، پتانسیل زتا، کشش سطحی و کشش بین سطحی اندازه‌گیری شد. پس از انتخاب مدل مناسب، منحنی‌های پاسخ-سطح جهت بررسی رابطه‌ی میان پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل رسم گردید. در تمام موارد مدل درجه دوم توانست داده‌های آزمایشگاهی را به صورت مناسبی برازش دهد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت صمغ از صفر به ۰/۱۵ درصد، اندازه ذرات کاهش یافت اما با افزایش بیشتر غلظت صمغ اندازه ذرات افزایش پیدا کرد. بررسی پتانسیل زتا نیز نشان داد که افزایش غلظت صمغ باعث منفی‌تر شدن پتانسیل زتا امولسیون‌ها گردید. مقادیر بهینه متغیرهای مستقل توسط آنالیز سطح پاسخ برای غلظت صمغ، پروتئین و جزء حجمی روغن به ترتیب ۰/۱۲، ۴/۷ و ۲۱/۷ درصد تعیین شد.

مقدمه

می‌باشند. صمغ‌ها هیدروکلوئیدهایی هستند که با جذب آب و افزایش گرانیروی (و یا تشکیل ژل در فاز آبی) مانع از تحرک قطرات روغن و بهم چسبیدگی آن‌ها شده و به این ترتیب باعث پایداری برخی از امولسیون‌های غذایی می‌شوند (Dickinson et al., 1988). ایران به دلیل دارا بودن پوشش گیاهی متنوع و غنی، قابلیت تولید انواع بی‌شماری از صمغ‌های گیاهی را دارا می‌باشد و بسیاری از دانه‌های بومی ایران حاوی صمغ‌های با ارزشی هستند. از جمله این

امولسیون‌ها سامانه‌های جدید و نوظهوری نیستند و از دوران باستان تاکنون به روش‌های گوناگون تهیه می‌شوند. امروزه فناوری تولید امولسیون‌ها بسیار گسترش یافته و تنوع مصارف و کاربردهای آنها، بر پیچیدگی این صنعت افزوده است. اما با این وجود هنوز هم پایداری امولسیون‌ها موضوعی چالش برانگیز است. یکی از موادی که به منظور پایداری امولسیون‌ها مورد توجه محققین قرار گرفته است، صمغ‌ها

Huck-Iriart و همکاران (۲۰۱۱) نیز به ترتیب تأثیر صمغ قدومه شیرازی، صمغ دانه کتان و لوبیای خرنوب را بر تشکیل و خصوصیات امولسیون‌ها بررسی کردند. نتایج تمامی این محققین حاکی از تأثیر مثبت صمغ‌های مورد استفاده بر پایداری امولسیون‌ها بود. در تحقیقی خصوصیات امولسیون‌های حاصل از صمغ زانتان در ترکیب با چهار نوع پروتئین بررسی شد. نتایج نشان داد که دو نمونه کارئینات سدیم و ایزوله پروتئین آب پنیر هیچ گونه دو فازشدنی از خود نشان ندادند. Hemar و همکاران (۲۰۰۱)، دلیل این امر را ناسازگاری ترمودینامیکی ناشی از دافعه بین بارهای منفی مولکول‌های زانتان و کارئین دانستند. همچنین در مطالعه دیگری تأثیر مثبت هم افزایی پروتئین آب پنیر و زانتان بر پایداری امولسیون روغن در آب بررسی شد. این بررسی نشان داد که افزایش غلظت پروتئین موجب کاهش اندازه ذرات گردید ولی بر سرعت خامه‌ای شدن، رفتار جریان و پایداری امولسیون در حضور زانتان تأثیری نداشت (Sun et al., 2009).

با وجود تحقیقات صورت گرفته، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر همزمان صمغ استخراج شده از دانه بالنگوی شیرازی و پروتئین آب پنیر در پایداری امولسیون‌های روغن در آب انجام نشده است. لذا هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر صمغ دانه‌ی بالنگو شیرازی بر خصوصیات امولسیون روغن در آب تثبیت شده با پروتئین آب پنیر به عنوان ترکیب پروتئینی با ارزش بیولوژیکی و خصوصیات عملکردی بالا بود.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

روغن سویا با نام تجاری کارولی (ایتالیا) از بازار محلی خریداری گردید. پروتئین آب پنیر تغلیظ شده (با کد A635 و حاوی ۸۰ درصد پروتئین) توسط شرکت پودر مولتی اهدا شد. دانه بالنگو از عطاری‌های سطح شهر تهیه شد. برای ساخت امولسیون و محلول‌ها از آب مقطر دیونیزه استفاده شد.

صمغ‌ها، صمغ حاصل از دانه‌ی بالنگو شیرازی است. بالنگو^۱ گیاهی با نام علمی *Lallemantia royleana* متعلق به خانواده نعناعیان بوده و دانه‌های تیره رنگ و به شکل بیضی کشیده‌ای دارد. دانه‌های بالنگو بلافاصله پس از قرار گرفتن در داخل آب، آن را جذب کرده و مایع چسبناک و بی مزه‌ای را تولید می‌کنند. صمغ دانه بالنگو به شرایط محیطی مانند دما، حضور یون‌ها و شکر حساس است. باین وجود در مقایسه با سایر هیدروکلوئیدها، صمغ حاصل از دانه بالنگو ویسکوزیته ذاتی بالاتری دارد (Razavi et al., 2012). این صمغ رفتار پسودو پلاستیک دارد و در سرعت‌های برشی پائین ویسکوزیته بالایی ایجاد می‌کند (Razavi and Karazhiyan, 2009). هیدروکلوئید استخراج شده از این دانه به طور عمده از پلی‌ساکاریدها (حدود ۶۱/۷۴ درصد) تشکیل شده است (Mohammad, 2007). این ویژگی‌های صمغ دانه بالنگو این امکان را می‌دهد تا بتوان آن را به عنوان یک ترکیب پایدار کننده‌ی سیستم‌های امولسیونی بکار برد.

علاوه بر صمغ‌ها، پروتئین‌ها نیز گروهی از مواد هستند که می‌توانند به عنوان تثبیت کننده در پایداری امولسیون‌ها نقش داشته باشند. این مواد تمایل زیادی به جذب در سطح مشترک روغن و آب دارند و لایه‌ای در اطراف قطرات روغن ایجاد می‌کنند (Dickinson, 2003). یکی از موضوعات مورد علاقه محققین در سال‌های اخیر بررسی اثر همزمان پروتئین و هیدروکلوئید بر پایداری امولسیون‌ها بوده است. تاکنون تحقیقات زیادی به منظور تعیین تأثیر افزودن یک یا ترکیب چند نوع صمغ یا ترکیب صمغ و پروتئین به فرمول امولسیون انجام گرفته است. Huang و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر افزودن ۱۴ نوع هیدروکلوئید حاصل از صمغ‌های مختلف بر خصوصیات امولسیون پرداختند. آن‌ها دریافتند که افزایش صمغ با کاهش اندازه ذرات و پایداری امولسیون همراه بود. Koocheki و همکاران (۲۰۰۹ و ۲۰۱۱)، Wang و همکاران (۲۰۱۱) و

استخراج صمغ

اضافه و به مدت ۴ دقیقه با همان سرعت قبلی عملیات همگن سازی صورت گرفت. آزمایشات با هدف مشخص کردن تأثیر غلظت پروتئین، غلظت صمغ و فاز روغن و تعیین نسبت بهینه آن‌ها انجام گرفت. بدین منظور امولسیون‌های روغن سویا در آب تثبیت شده با پروتئین آب پنیر (در غلظت‌های ۰/۵ تا ۳ درصد) با افزودن صمغ (در غلظت‌های ۰/۰ تا ۰/۳ درصد) و فاز پراکنده روغن سویا (۲۰ تا ۵۰ درصد) مشابه روش توضیح داده شده در بخش ۲-۳ تهیه شد. همه اندازه‌گیری‌ها پس از یک ساعت استراحت حداقل در دو تکرار انجام شد.

اندازه‌گیری اندازه ذرات امولسیون

متوسط قطر ذرات به کمک دستگاه انکسار نور لیزر (مدل Zetasizer nano zs, شرکت Malvern, انگلستان) اندازه‌گیری گردید. برای محاسبه قطر متوسط قطرات که با نماد d_{43} (قطر حجم-طول) نمایش داده می‌شود، از معادله زیر استفاده شد.

$$D_{43} = \sum z_i d_i^4 / \sum z_i d_i^3 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این معادله، z_i تعداد ذرات با قطر d_i می‌باشد.

اندازه‌گیری کشش سطحی و بین سطحی

با استفاده از دستگاه تنشیومتر (مدل K-100 ساخت شرکت KRUSS، آلمان) کشش سطحی بین نمونه و هوا و کشش بین سطحی روغن به ترتیب با کمک پروب صفحه‌ای و پروب حلقه‌ای در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پتانسیل زتا

برای تعیین پتانسیل زتا، از دستگاه زتاسایزر (DLS, Malvern, ساخت انگلیس) استفاده گردید. در این دستگاه یک سل الکتروشیمیایی وجود دارد که دارای دو الکتروود است. برای اندازه‌گیری، نمونه‌ها توسط آب دیونیزه به نسبت ۱ به ۱۰۰ (رقیق سازی می‌شدند و در سل دستگاه قرار می‌گرفتند. زمانی که ولتاژ اعمال می‌شود ذرات دارای بار منفی به سمت الکتروود مثبت حرکت می‌کنند و سرعت حرکت ذرات اندازه‌گیری می‌شود.

صمغ دانه بالنگو با استفاده از روش ارائه شده توسط Mohammad Amini (۲۰۰۷) تهیه شده است. 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، $pH=7$ و نسبت آب به دانه ۵۹ به ۱ قرار گرفتند. پس از مدت زمان ۲۰ دقیقه، صمغ حاصله توسط نیروی گریز از مرکز با شتاب ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه از دانه‌های بالنگو جدا شد. به منظور حذف ناخالصی‌های موجود، محلول صمغ از صافی‌های توری با قطر منافذ ۲۰ میکرومتر و عبور داده شد. پس از آن توسط آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و صمغ حاصل خرد و به منظور یکنواخت شدن پودر الک گردید (Mohammad Amini, 2007)

آماده سازی فاز پیوسته

برای تهیه فاز آبی، مقادیر متفاوتی از پروتئین آب پنیر تغلیظ شده و صمغ دانه بالنگو به طور جداگانه توزین و توسط همزن مغناطیسی در دمای اتاق و در مقادیر محاسبه شده از آب مقطر حل شد. به منظور هیدراته شدن کامل، پراکنش‌ها به مدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. pH تمامی نمونه‌ها با استفاده از اسید کلریدریک ۱ نرمال بر روی ۷ تنظیم شد و تغییر pH در نمونه‌ها در مراحل مختلف آزمایش مشاهده نشد.

آماده سازی امولسیون

برای تهیه امولسیون‌ها، مقادیر مورد نظر از روغن سویا (۲۰ تا ۵۰ گرم) طی زمانی ثابت (برای همه نمونه‌ها ۱۰ دقیقه) به محلول پروتئین در حین همزدن با همزن مغناطیسی اضافه و پیش مخلوط امولسیونی تهیه گردید. پیش مخلوط امولسیونی در مرحله بعد، توسط دستگاه همگن ساز اولتراتوراکس (JKA, مدل T25, ساخت آلمان) به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق همگن شد. پس از این مرحله، محلول صمغ که به مدت ۲۴ ساعت هیدراته شده بود، به امولسیون تهیه شده

آنالیز آماری

مدل از سایر مدل‌ها بالاتر و برابر با ۰/۹۵ بود. بنابراین در برازش داده‌های اندازه ذرات امولسیون مدل درجه دوم چندگانه مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور اطمینان از صحت مدل انتخاب شده، جدول تحلیل واریانس مربوط به این مدل مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، آزمون عدم برازش برای متغیر مورد اندازه‌گیری با ضریب اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نبود که بیانگر مدل مناسب می‌باشد. حروف A، B و C به ترتیب نماد صمغ، پروتئین و روغن است. ضریب تبیین به دست آمده برای اندازه ذرات برابر با ۰/۹۵ بود که نشان می‌دهد تغییرات در مدل محاسبه شده است و داده‌ها به خوبی با مدل انتخابی برازش شده‌اند. برازش داده‌های حاصل از کار آزمایشگاهی به وسیله مدل توسط نرم افزار نیز ادعای بالا را ثابت کرد. مطابق جدول، اثر درجه اول غلظت پروتئین ($p < 0/0001$) و جزء حجمی روغن ($p < 0/0150$) و اثر درجه دوم غلظت پروتئین ($p < 0/0345$) بر اندازه ذرات امولسیون معنی‌دار بودند.

به منظور بررسی اثر متقابل متغیرهای مستقل بر صفات مورد آزمایش، نمودار پاسخ سطحی رسم شد. در هر نمودار اثر دو متغیر در حالی که متغیر سوم در نقطه مرکزی قرار داشت، بررسی گردید. شکل ۱- الف اثر غلظت صمغ و پروتئین بر اندازه ذرات امولسیون را نشان می‌دهد. در تمام غلظت‌های صمغ، با افزایش غلظت پروتئین اندازه ذرات کاهش یافت. این کاهش به دلیل افزایش جذب پروتئین و ایجاد غشای کامل حول سطح قطرات روغن است که مانع از ناپایداری و همچنین تجمع مجدد قطرات در حین هموژنیزاسیون می‌گردد (Sun et al., 2009). در تحقیق مشابهی گزارش شده است که اندازه قطرات امولسیون با افزایش غلظت کازئینات سدیم کاهش یافت (Ye, 2008).

Huang و همکاران (۲۰۰۱)، تأثیر افزودن ۱۴ نوع هیدروکلوئید از جمله پکتین، صمغ عربی و زانتان را بر اندازه ذرات امولسیون بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که افزایش غلظت هیدروکلوئیدها با کاهش اندازه ذرات و بالطبع پایداری امولسیون همراه بود. کاهش اندازه ذرات با افزایش غلظت صمغ را می‌توان به دلیل

جهت یافتن اثرات مستقل و اثرات همزمان سه پارامتر افزودن صمغ، پروتئین و فاز روغن بر هر یک از ویژگی‌های امولسیون از طرح مرکب مرکزی استفاده شد. طرح با ۳ فاکتور غلظت پروتئین، غلظت صمغ و نسبت روغن اجرا و مقادیر بهینه این ۳ فاکتور جهت دستیابی به پایدارترین امولسیون تعیین گردید. از آنجا که برای آنالیز اثرات هر دو حالت فقط از روش سطح پاسخ استفاده شد، قبل از هرچیز مدل مناسب انتخاب گردید. داده‌های بدست آمده در این طرح با استفاده از نرم افزار design expert مدل ۶/۲/۲ مدل‌سازی و منحنی‌های پاسخ- سطح جهت بررسی رابطه‌ی میان پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل رسم گردید. میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

تأثیر افزودن صمغ بر اندازه ذرات امولسیون

اصولاً پایداری یک امولسیون به عوامل مختلفی بستگی دارد که مهمترین آن تجمع و بهم آمیختگی ذرات می‌باشد. این تغییرات به اندازه و پراکندگی ذرات فاز پراکنده در امولسیون بستگی دارد. بر اساس قانون استوکس، سرعت حرکت قطرات با مربع شعاع آن متناسب می‌باشد، بنابراین پایداری امولسیون با جداسازی گرانشی، از طریق کاهش اندازه قطرات تشدید می‌شود (McClements, 1999). در غیاب صمغ دانه بالنگو، میانگین قطر ذرات امولسیون تثبیت شده با WPC، $0/09 \pm 1/49$ میکرومتر بود. در تمام محدوده غلظت پروتئین، با افزایش غلظت صمغ تا حدود ۰/۱۵ درصد به امولسیون اندازه ذرات کاهش یافت که حاکی از مثبت بودن تأثیر صمغ بر تثبیت ذرات امولسیون بوده اما با افزایش بیشتر غلظت صمغ اندازه ذرات افزایش پیدا کرد (شکل ۱- الف). لذا به منظور بررسی تأثیر غلظت صمغ، پروتئین و فاز روغن بر اندازه ذرات امولسیون، مدل‌های خطی، درجه دوم ساده، اثر متقابل و مکعبی برای برازش داده‌های حاصل از آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. در میان مدل‌های مذکور، مدل درجه دوم چندگانه داده‌ها را به صورت مناسبی برازش داد. ضریب تبیین (R^2) در این

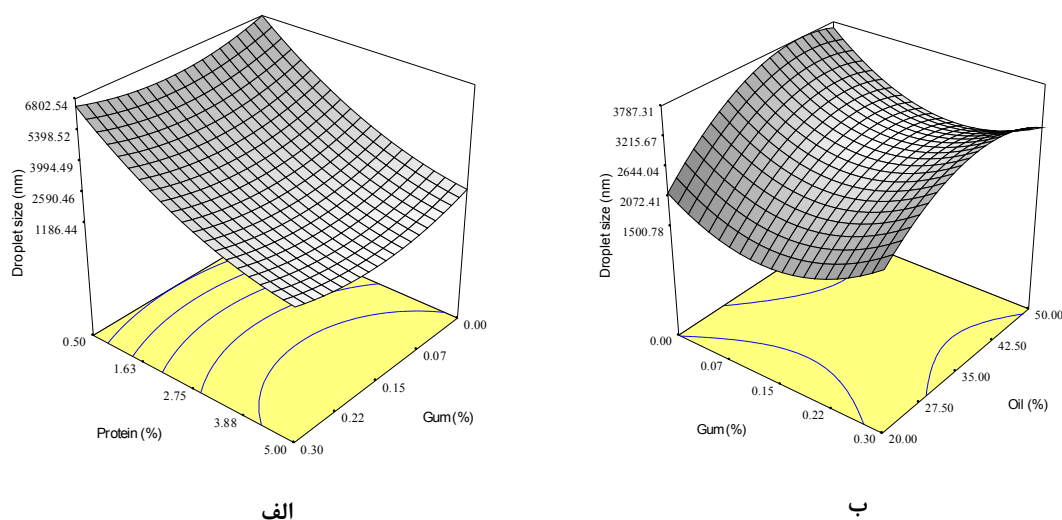
افزایش نیروی دافعه بین صمغ و پروتئین که از ناسازگاری ترمودینامیکی بین این دو منتج می‌شود، مربوط دانست که پروتئین بیشتری بر سطح قطرات روغن قرار می‌گیرد (Uruakpa et al., 2005).

جدول ۱- جدول تحلیل واریانس مدل درجه دوم اثر متقابل برای اندازه ذرات، پتانسیل زتا، کشش سطحی و کشش بین سطحی ذرات

مدل	DF	اندازه ذره		پتانسیل زتا		کشش سطحی		کشش بین سطحی	
		ضریب	Pr>F	ضریب	احتمال < ضریب فیشر	ضریب	Pr>F	ضریب	Pr>F
مرجع	۹	۲۲۴/۴	<۰/۰۰۰۱	۱۳/۵	۰/۰۰۰۲	۵۶/۴۷	<۰/۰۰۰۱	-۲۲/۶۱	۰/۰۰۰۱
A	۱	-۷۶۰/۱۵	۰/۵۲۳۵	۱۹۹/۹	۰/۰۱۶۶	۴۵/۳۷	<۰/۰۰۰۱	-۹۳/۱۸	۰/۰۳۳۶
B	۱	-۱۹۲۵/۶	<۰/۰۰۰۱	-۱۳/۵	۰/۰۹۵۳	-۳/۸۰	۰/۰۰۰۱	-۱۶/۸۳	۰/۰۱۷۶
C	۱	۲۵۹/۸	۰/۰۱۵۰	-۱/۵	۰/۰۱۵۳	-۰/۳۴	۰/۰۵۹۷	۰/۶۵	۰/۰۲۱۶
A _۲	۱	۳۳۵۶۱/۶	۰/۵۳۵	۱۷۶/۵	۰/۰۹۹۲	-۱۲۲/۵۸	۰/۰۰۰۲	۱۰/۷۷	۰/۹۱۳۶
B _۲	۱	۱۶۶/۷	۰/۰۳۴۵	۰/۷۱	۰/۱۳۰۴	۰/۴۳	۰/۰۰۱۳	۲/۷۱	<۰/۰۰۰۱
C _۲	۱	-۲/۹	۰/۰۸۵۵	۴/۳	۰/۶۶۶۲	۴۲۳۷/۱۷	۰/۰۸۳۱	-۰/۰۱	۰/۱۷۳۷
AB	۱	۱۲۰/۳	۰/۸۴۴۹	۱۴/۳	۰/۰۰۳۶	۳/۰۱	۰/۰۰۵۷	۲۵/۳	<۰/۰۰۰۱
AC	۱	-۱۰۲/۷	۰/۲۷۹۸	۲/۴	۰/۰۰۱۶	-۰/۰۵	۰/۶۸۳۳	-۱۱/۱۰	۰/۰۷۹۰
BC	۱	-۱/۵	۰/۸۰۱۹	۰/۲۳	۰/۰۰۰۱	۷۵۳۳/۳۳	۰/۴۰۱۸	-۰/۰۱۳	۰/۰۷۳۶۲
باقی مانده	۱۰								
عدم برازش	۵		۰/۰۵۴۲		۰/۴۰۰۸		۰/۸۸۷۸		۰/۸۴۴۰
خطای خالص	۵								
خطای کل	۱۹								
ضریب تعیین		۰/۹۵		۰/۹۱		۰/۹۴		۰/۹۲	
ضریب تعیین بدست آمده		۰/۹۰		۰/۸۴		۰/۸۹		۰/۸۶	

افزایش اندک اندازه ذرات با افزایش بیشتر غلظت صمغ از ۰/۱۵ به ۰/۳۰ درصد را می‌توان ناشی از به هم پیوستن نقصانی قطرات توسط مولکول‌های آزاد در فاز آبی دانست. منابع دیگر نیز علت بزرگتر شدن اندازه ذرات را در غلظت مشابه از صمغ زانتان را همین علت ذکر کردند (Nor Hayati et al., 2008). Wang و همکاران (۲۰۱۱)، اثر صمغ بذر کتان بر خصوصیات امولسیون تهیه شده با پروتئین سویا را مطالعه نمودند. آن‌ها روند مشابهی را با افزودن غلظت صمغ در اندازه ذرات مشاهده کردند. آن‌ها گزارش کردند که افزودن غلظت صمغ تا ۰/۱ درصد به امولسیون، با کاهش اندازه ذرات و افزایش بیشتر غلظت صمغ تا ۰/۵ درصد با افزایش اندازه ذرات همراه بود. آن‌ها علت این پدیده را برهم‌کنش‌های محدود بین صمغ و پروتئین دانستند.

در شکل ۱- ب اثر غلظت صمغ و جزء حجمی روغن بر اندازه ذرات امولسیون رسم شده است. با افزایش جزء حجمی فاز روغنی در غلظت‌های زیاد و کم صمغ، اندازه ذرات امولسیون ابتدا افزایش و سپس اندکی کاهش یافت که روند تغییرات افزایشی اندازه ذرات امولسیون در غلظت‌های پایین‌تر صمغ مشهودتر بود. علت این امر را می‌توان به عدم پوشش کافی قطرات توسط پروتئین و ایجاد اتصال بین ذرات روغن توسط پروتئین نسبت داد (Guo, 2011). با توجه به شکل ۱- ب مشخص است شیب این افزایش اندازه ذرات با تغییر درصد فاز روغنی از ۳۵ به ۵۰ درصد کاهش می‌یابد. علت این رویداد را می‌توان مربوط به برهم‌کنش‌های مثبت صمغ و پروتئین در غلظت‌های بالای روغن یا جذب آسان‌تر پروتئین بر سطح مولکول‌های درشت‌تر روغن دانست.



شکل ۱- اثر الف) صمغ و پروتئین در غلظت ۳۵ درصد روغن و ب) غلظت صمغ و جزء حجمی روغن در غلظت ۲/۷۵٪ پروتئین بر اندازه ذرات امولسیون

و غلظت پروتئین/فاز روغنی ($p < 0.0016$)

بر مقدار پتانسیل زتا معنی دار بودند. ($p < 0.0001$)

همچنین افزایش غلظت صمغ در غلظت‌های پایین پروتئین، باعث منفی‌تر شدن پتانسیل زتای امولسیون‌ها گردیده است (شکل ۲-الف). اما افزایش غلظت پروتئین در امولسیون در غلظت‌های کم و زیاد صمغ به ترتیب همراه با افزایش پتانسیل زتا و کاهش آن بود. افزایش پتانسیل زتا یا ناپایداری شدن امولسیون را می‌توان به دلیل عدم پوشش مناسب و کافی سطح قطرات روغن توسط مولکول‌های صمغ مربوط دانست. در مطالعات انجام شده توسط سایر محققان، افزایش غلظت صمغ‌های بذریکته، یا صمغ زانتان تأثیر چشم‌گیری در پتانسیل زتا نداشت. این محققان علت عدم این تأثیر پذیری را مربوط به وجود دافعه الکتروستاتیک بین صمغ و پروتئین دانستند (Khalloufi et al., 2008; Mirhosseini et al., 2008).

نتایج اندازه‌گیری‌ها نشان داد که قطرات روغن پایدار شده با پروتئین آب پنیر در pH خنثی، پتانسیل زتای در محدوده ۳/۴۲- میلی ولت داشتند که نشان‌دهنده منفی بودن بار پروتئین در pH‌های بالاتر از نقطه ایزو الکتریک است. از سوی دیگر محلول

تأثیر افزودن صمغ بر ویژگی پتانسیل زتای امولسیون

به منظور تعیین روند تغییرات پتانسیل زتای ذرات

و نیز بررسی تأثیر غلظت صمغ، پروتئین و فاز روغن، مدل‌های خطی، درجه دوم ساده، اثر متقابل و مکعبی برای برازش داده‌های حاصل از آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. در میان مدل‌های مذکور مدل درجه دوم اثر متقابل داده‌ها را به صورت مناسبی برازش داد (دارای ضریب تبیین و ضریب فیشر^۱ بزرگتر به ترتیب برابر با ۰/۹۱ و ۷/۰۶ بود). جدول تحلیل واریانس مربوط به این مدل به منظور اطمینان از صحت مدل انتخاب شده در جدول بررسی شده است. آزمون عدم برازش برای متغیر مورد اندازه‌گیری با ضریب اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نبود که بیانگر مدل مناسب می‌باشد. ضریب تبیین به دست آمده برای این متغیر ۰/۹۱ بود که نشان‌دهنده برازش مناسب داده‌ها با مدل انتخابی است. علاوه بر این، مقدار عدم برازش^۲ مدل معنی‌دار نبود. همانطور که در جدول دیده می‌شود، اثر درجه اول غلظت صمغ ($p < 0.0016$) و جزء حجمی روغن ($p < 0.0015$) و اثر متقابل غلظت صمغ/پروتئین ($p < 0.0036$)، غلظت صمغ/فاز روغن

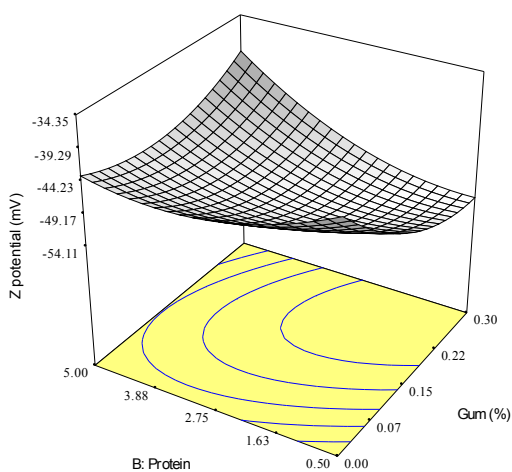
1- F value

2- Lack of fit

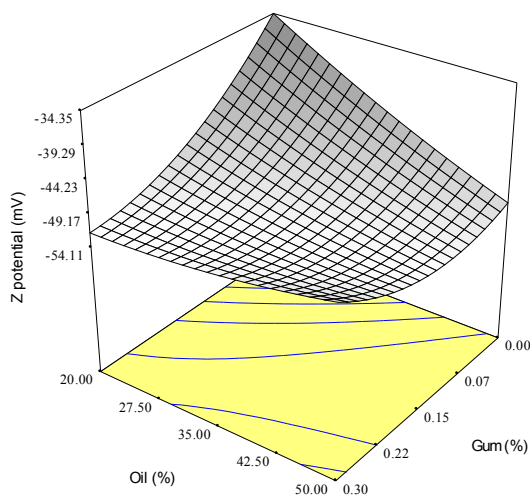
۰/۳ درصد) و حداقل غلظت پروتئین آب پنیر (۰/۵ درصد) روی داد. افزایش درصد فاز روغنی در تمام غلظت‌های صمغ باعث منفی تر شدن پتانسیل زتای امولسیون گردید (شکل ۲-ب). شیب کاهشی پتانسیل زتا برای غلظت‌های پایین تر صمغ بزرگتر بود. در غلظت‌های زیاد صمغ، افزایش درصد فاز روغن منتج به ناپایدارتر شدن امولسیون و افزایش پتانسیل زتا شد که مربوط به هم پوشانی ضعیف قطرات روغن توسط صمغ می‌باشد.

حاوی صمغ بالنگو در pH های خنثی نیز دارای بار الکتریکی منفی بود که مربوط به حضور گروه‌های اسیدی در ساختمان این صمغ می‌باشد. بنابراین صمغ بالنگو و پروتئین آب پنیر در شرایط آزمایش از بار الکتریکی هم نامی برخوردار هستند و یکدیگر را دفع می‌کنند.

پایدارترین حالت امولسیون با درصد حجمی فاز روغنی ۳۵ درصد، پتانسیل زتایی برابر با $-۵۹/۴$ میلی‌ولت داشت که در حداکثر غلظت صمغ بالنگو



الف



ب

شکل ۲- اثر الف) (غلظت پروتئین و صمغ در غلظت ۳۵٪ روغن) و ب) (غلظت صمغ و روغن در غلظت ۲/۷۵٪ پروتئین) بر پتانسیل زتای امولسیون

در سایر مدل‌ها، آزمون عدم برازش معنی‌دار بود. بنابراین مدل درجه دوم متقابل در نهایت برای برازش داده‌های کشش سطحی انتخاب شد.

با بررسی جدول تحلیل واریانس مربوط به مدل درجه دوم اثر متقابل داده‌های کشش سطحی جدول مشخص گردید که آزمون عدم برازش برای متغیر مورد اندازه گیری معنی‌دار نبود که بیانگر مناسب بودن مدل می‌باشد. ضریب تبیین به دست آمده نیز برابر با ۰/۹۲ بود. مطابق با خروجی نرم افزار، داده‌های حاصل از کار آزمایشگاهی بطور مطلوبی برای هر دو ویژگی کشش سطحی و بین سطحی توسط مدل برازش شدند.

تأثیر افزودن صمغ بر ویژگی کشش سطحی و کشش بین سطحی امولسیون

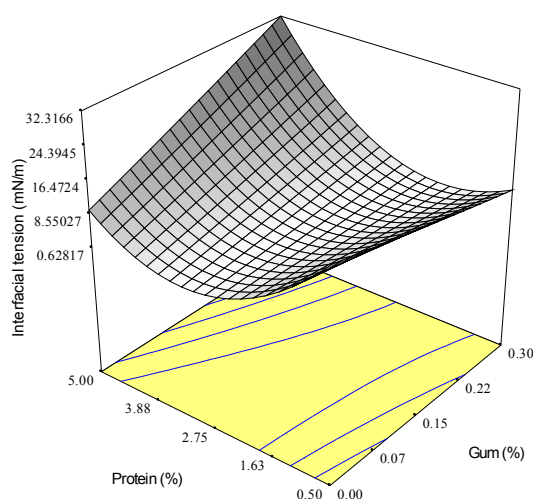
در میان مدل‌های مورد بررسی توسط نرم افزار، داده‌های کشش سطحی و بین سطحی به دلیل داشتن ضریب تبیین بالا و ضریب فیتس بزرگتر با مدل درجه دوم برازش گردید. صحت مدل انتخاب شده، توسط تحلیل جدول واریانس بررسی شد. همانطور که در جدول مشاهده می‌شود، آزمون عدم برازش برای متغیر مورد اندازه‌گیری کشش سطحی با ضریب اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نبود که بیانگر مدل مناسب می‌باشد. ضریب تبیین به دست آمده برای کشش سطحی ۰/۹۴ بود که نشان می‌دهد داده‌ها می‌توانند به خوبی توسط مدل انتخابی برازش شوند.

کاهش سطح توانایی کشش سطحی این صمغ‌ها همراه بوده است (Youssef *et al.*, 2009; Brummer *et al.*, 2003). دلیل عمده این تفاوت را می‌توان در روش مورد استفاده برای حذف پروتئین نام برد.

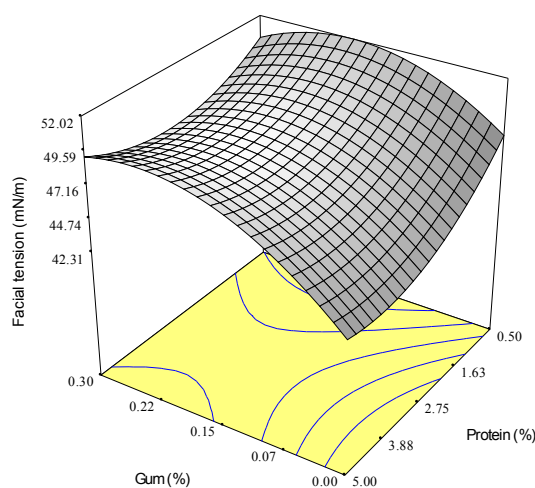
لازم به ذکر است افزودن پروتئین آب پنیر باعث کاهش کشش سطحی آب- هوا شده است. در شکل ۳-ب اثر متقابل غلظت پروتئین و صمغ بر داده‌های کشش بین سطحی آب و روغن در امولسیون رسم شده است. در غلظت‌های پایین پروتئین، افزایش درصد صمغ باعث کاهش کشش بین سطحی شد. اما در غلظت‌های بالای پروتئین، افزایش درصد صمغ با افزایش کشش بین سطحی همراه بود. علت این پدیده را می‌توان افزایش بیش از حد گرانیروی محلول در غلظت‌های بالای پروتئین و صمغ دانست به طوری که با تشکیل لایه غلیظی بر سطح محلول، مانع از خروج حلقه از داخل محلول می‌شود. کمترین مقادیر کشش بین سطحی مربوط به افزودن ۰/۳ درصد صمغ (حداکثر غلظت صمغ مورد بررسی) به محلول حاوی ۰/۵ درصد پروتئین (حداقل غلظت پروتئین مورد بررسی) بود.

همانطور که در جدول دیده می‌شود، اثر درجه اول غلظت پروتئین ($p < 0/0001$) و اثر درجه اول غلظت صمغ ($p < 0/0001$) و نیز اثر درجه دوم آن‌ها بر مقدار کشش سطحی در امولسیون معنی‌دار بودند. همچنین اثر درجه اول غلظت صمغ، پروتئین و روغن و نیز درجه دوم پروتئین و اثر متقابل غلظت صمغ و غلظت پروتئین ($p < 0/0001$) بر شاخص کشش بین سطحی در امولسیون معنی‌دار بودند (جدول ۱).

در شکل ۳-الف، تأثیر غلظت صمغ- پروتئین بر داده‌های کشش سطحی فاز آبی رسم شده است. با افزایش غلظت صمغ، کشش سطحی افزایش یافته است. شیب افزایشی در غلظت‌های پایین صمغ چشمگیرتر است بطوریکه محلول با ۰/۱۵ درصد صمغ بیشترین میزان کشش سطحی را داشت. این نتایج نشان می‌دهد که خالص سازی صمغ بالنگو و جدا نمودن بخش پروتئینی آن اثر قابل توجهی بر فعالیت سطحی نداشته است. Garti و همکاران (۱۹۹۴) نیز گزارش کرده اند که جدا نمودن بخش پروتئینی از ساختار صمغ گوار و لوبیای لوکاست اثری بر فعالیت سطحی آنها نداشته است. اما سایر تحقیقات بر روی خالص سازی صمغ شنبلیله یا صمغ لوبیای لوکاست با



ب



الف

شکل ۳- اثرات متقابل تغییر غلظت صمغ و پروتئین در حضور ۳/۵٪ روغن بر ویژگی‌های الف- کشش سطحی و ب- کشش بین سطحی

پارامترهای اندازه ذرات، پتانسیل زتا، کشش سطحی و بین سطحی توسط نرم افزار Design Expert تعیین شد. بر این اساس، ابتدا اهداف بهینه سازی مشخص

تعیین سطوح بهینه اجزای تشکیل دهنده امولسیون سطوح بهینه غلظت صمغ، پروتئین و جزء حجمی روغن برای ساخت یک امولسیون پایدار با توجه به

روغن توانایی لازم برای پایداری امولسیون‌های روغن در آب تثبیت شده با پروتئین آب پنیر را دارد با این حال راندمان پایداری به شدت به عوامل مختلفی از جمله غلظت صمغ و غلظت پروتئین وابسته بود. به منظور تعیین روند تغییرات متغیرهای وابسته، مدل‌های مختلفی برای برازش داده‌های حاصل از آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. در تمام موارد مدل درجه دوم داده‌ها را به صورت مناسبی برازش داد. با افزایش غلظت صمغ از صفر به ۰/۱۵ درصد در تمام محدوده غلظت پروتئین، اندازه ذرات کاهش یافت اما با افزایش بیشتر غلظت صمغ اندازه ذرات افزایش یافت. بررسی پتانسیل زتای امولسیون‌ها نشان داد که افزایش غلظت صمغ باعث منفی‌تر شدن پتانسیل زتای امولسیون‌ها گردیده است. مقادیر بهینه متغیرهای مستقل برای غلظت صمغ، پروتئین و جزء حجمی روغن به ترتیب ۰/۱۲، ۴/۷ و ۲۱/۶ درصد تعیین شدند.

گردید. یعنی پارامترهای اندازه ذرات و پتانسیل زتا (منفی‌تر) در کمینه در نظر گرفته شد. مقادیر بهینه متغیرهای مستقل برای غلظت صمغ، پروتئین و جزء حجمی روغن به ترتیب ۰/۱۲، ۴/۶۹ و ۲۱/۵۹ درصد تعیین شدند. در این شرایط بهینه مقدار اندازه ذرات ۳۳۷/۱۷ نانومتر و پتانسیل زتا ۴۸/۵- میلی‌ولت به دست آمد. درجه مطلوبیت^۱ این مقادیر برابر با ۱ بود. درجه مطلوبیت نشان‌دهنده توانایی مقادیر متغیرهای مستقل پیشنهادی در رسیدن به اهدافی است که قبلاً برای نرم افزار مشخص شده است. این نتایج حاکی از آن است که مقادیر بالای پروتئین و روغن و مقادیر میانی صمغ سبب تولید امولسیون پایداری گردید.

نتیجه گیری

نتایج مطالعات انجام شده در این پژوهش نشان داد که صمغ بالنگو به دلیل ایجاد ویسکوزیته بالا و افزایش گرانیوی فاز پیوسته و کاهش حرکت قطرات

منابع

- 1- Brummer, Y., W. & Wang, Q. 2003. Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. *Food Hydrocolloids*, 17: 229-236.
- 2- Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17: 25-39.
- 3- Dickinson, E. 1988. In G. O. Phillips, J. D. Wedlock, & A. P. Williams (Eds.), *Gums and stabilizers for the food industry*, Vol. 4 (pp. 249-259). Oxford: IRL Press.
- 4- Garti, N. & Reichman, D. 1994. Surface properties and emulsification activity of galactomannans. *Food Hydrocolloids*, 8: 155-173.
- 5- Guo, Q. & Mu, T, H. 2011. Emulsifying properties of sweet potato protein: effect of protein concentration and oil volume fraction. *Food Hydrocolloids*, 25: 98-106.
- 6- Hemar, Y., Tamehana, M., Munro, P. A. & Singh, H. 2001. Viscosity, microstructure and phase behaviour of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 15: 565-574.
- 7- Hogan, S.A., McNamee, B.F., Dolores O'Riordan, E. & O'Sullivan, M. 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11: 137-144.
- 8- Huang, X. 2001. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15 (4-6): 533-542.
- 9- Huck-Iriart, C., Jorge Candal, R. & Lidia Herrera, M. 2011. Effect of processing conditions and composition on sodium caseinate emulsions stability. *Procedia Food Science*, 1: 116-122.
- 10- Khalloufi, S., Corredig, M., Goff, H. D. & Alexander, M. 2008. Flaxseed gums and their adsorption on whey protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 23(3): 611-618.
- 11- Koocheki, A. & Kadkhodaei, R. 2011. Effect of *Alyssum homolocarpum* seed gum, tween 80 and NaCl on droplets characteristics, flow properties and physical stability of ultrasonically prepared corn oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 25: 1149-1157.
- 12- Koocheki, A., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., Razavi, S. M. A. & Taherian, A. R. 2009. Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seeds as a new source of thickening agent. *Journal of Food Engineering*, 91: 490-496.
- 13- Martínez, K. D., Sánchez, C. C., Ruíz-Henestrosa, V. P., Rodríguez Patino, J. M. & Pilosof, A.M.R. 2007. Effect of limited hydrolysis of soy protein on the interactions with polysaccharides at the air-water interface. *Food Hydrocolloids*, 21(5-6): 813-822.
- 14- McClements, D. J. 1999. *Food emulsions principles, properties and techniques*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- 15- Mirhosseini, SH., Chin Ping, T., Sheikh Abdul Hamid, N. & Salmah, Y. 2008. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on ζ -potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 315(1-3): 47-56.
- 16- 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.

- 17- Nor Hayati, I., Bin Che Man, Y., Ping Tan, C. & Nor Aini, I. 2008. Droplet characterization and stability of soybean oil/palm kernel olein O/W emulsions with the presence of selected polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 23(2): 233–243.
- 18- Sun, C. & Gunasekaran, S. 2009. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 23(1): 165-174.
- 19- Sun, C., Gunasekaran, S. & Richards, M. P. 2007. Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 21: 555-564.
- 20- Razavi, M., Moghaddam, T. & Mohammad Amini, A. 2012. Physical-mechanical properties and chemical composition of Balangu (*Lallemantia royleana* (Benth. in Walla.)) seed. *International Journal of Food Engineering*, 4(5).
- 21- Razavi, M. & Karazhiyan, H. 2009. Flow properties and thixotropy of selected hydrocolloids: experimental and modelling studies. *Food hydrocolloids*, 23: 908-912.
- 22- Uruakpa, F. O. & Arntfield, S. D. 2005. Emulsifying characteristics of commercial canola protein–hydrocolloid systems. *Food Research International*, 38(6): 659-672.
- 23- Wang, Y., Dong, L., Wang, L. J. & Adhikari, B. 2011. The effect of addition of flaxseed gum on the emulsion properties of soybean protein isolate (SPI). *Journal of Food Engineering*, 104(1): 56-62.
- 24- Ye, A. 2008. Interfacial composition and stability of emulsions made with mixtures of commercial sodium caseinate and whey protein concentrate. *Food Chemistry*, 110: 946-952.
- 25- Youssef, M. K., Wang, Q., Cui, S. W. & Barbut, S. 2009. Purification and partial physicochemical characteristics of protein free fenugreek gums. *Food Hydrocolloids*, 23: 2049-2053.

Effect of *Lallemantia royleana* seed gum and whey protein concentrate on stability of oil-in-water emulsion

Vahideh Sadat Hosseini ^{1*}, Masoud Najaf Najafi ², Ali Mohammadi Sani ³, Arash Koocheki ⁴

1- MSc. graduated student, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

* Corresponding author (vahideh86_hosseini@yahoo.com)

2- Assistant professor, Department of Food science and Technology, Institute of Scientific - Applied Higher Education Jihad-e-Agriculture

3- Assistant professor, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

4- Assistant professor, Department of Food science and Technology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of *Lallemantia royleana* seed gum on the properties of oil-in-water emulsions stabilized by whey protein using "Response Surface Methodology (RSM)". For this purpose, emulsions with different whey protein concentrates (0.5_ 3%), seed gum (0 - 0.3%), and oil volume fraction (20- 50%) were prepared. Several properties of emulsions including mean diameter of droplets, zeta potential, surface tension and interfacial properties were studied. Selecting an appropriate model, the response-surface graph was drawn. For each response, a second-order polynomial model was developed using "Multiple Linear Regression Analysis". Results indicated that increasing the gum concentration from 0 to 0.15% the mean diameter of the droplets will be diminished but its further increase would enlarge the size of particles. Zeta potential analysis showed that the more concentration of resin emulsions the more negative zeta potential of emulsion will be. The optimum formulation was suggested to be: 0.12% *Lallemantia royleana* seed gum, 4.69% whey protein and 21.59% oil.

Keywords: Droplet mean diameter, Emulsion stability, Response surface methodology, Shirazi Balangu gum, Zeta potential