



بررسی اثر صمغ فارسی بر ویژگی‌های ژل سرد کنسانتره پروتئین آب پنیر در شرایط خنثی و اسیدی

هدی خالصی^۱، بهاره عمادزاده^{۲*}، رسول کدخدایی^۳

۱. دانشجوی دکتری، علوم و صنایع غذایی، گروه فراوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد
۲. استادیار، گروه نانو فناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد
۳. دانشیار، گروه نانو فناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد

(تاریخ دریافت: 95/9/7، تاریخ پذیرش: 95/11/6)

چکیده

پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها نقش مهمی را در ایجاد ساختار، بافت و ثبات سیستم‌های غذایی ایفا می‌کنند و ژل حاصل از ترکیب آن‌ها به‌عنوان مدلی برای محصولات نرم جامد استفاده می‌شود. تولید ژل پروتئینی به روش سرد از روش‌های نوین فراوری مواد غذایی است و می‌تواند بر ویژگی‌های فیزیکی ژل تولید شده تأثیر مثبت داشته باشد. در این تحقیق ژل‌های حاصل از ترکیب کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ فارسی با استفاده از روش سرد در pH خنثی (القا شده با کلرید کلسیم) و اسیدی (با استفاده از گلوکونو دلتالاکتون) تولید شد. ویژگی‌های رئولوژیکی دینامیک، میزان رهایش آب و ریزساختار آن‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. وجود پیوندهای قوی الکتروستاتیکی در pH اسیدی امکان تولید ژل سرد را در غلظت کم‌تری (4٪ وزنی) نسبت به ژل خنثی (7٪ وزنی) مهیا کرد که هر دو غلظت، کم‌تر از میزان غلظت بحرانی تشکیل ژل پروتئین آب پنیر (10-12٪ وزنی) است. نتایج نشان داد افزایش غلظت صمغ فارسی موجب افزایش مدول‌های ویسکوالاستیک در ژل پروتئینی خنثی می‌گردد. درحالی‌که این صمغ تغییرات بسیار کمی را در مدول‌های رئولوژیکی دینامیک ژل‌های ترکیبی اسیدی نشان داد. با افزایش غلظت صمغ فارسی، میزان سینرسیس آب توسط ژل ترکیبی در هر دو روش تولید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده امکان تولید دامنه‌ای از ژل‌ها با ویژگی‌های مختلف تحت روش تشکیل ژل سرد و با استفاده از ترکیب پروتئین آب پنیر-صمغ فارسی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تشکیل ژل سرد، کنسانتره پروتئین آب پنیر، صمغ فارسی، رئولوژی دینامیک.

1- مقدمه

هر دو مرحله تشکیل ژل یعنی تبدیل مونومرهای پروتئینی به تجمع‌های پروتئینی محلول و سپس مرحله ایجاد شبکه توسط حرارت دادن مناسب ایجاد شود، ژل تولیدی را ژل القا شده با حرارت می‌نامند. نکته قابل توجه این است که ژل‌های ایجاد شده به روش سرد به‌طور معمول خصوصیات مکانیکی و قابلیت جذب آب بهتری نسبت به ژل‌های ایجاد شده با حرارت دارند. هم‌چنین تولید ژل به روش سرد در غلظت‌های پایین تری از پروتئین، در مقایسه با روش گرم، صورت می‌گیرد. روش تشکیل ژل سرد با استفاده از پروتئین‌های کروی از روش‌های نوین فراوری مواد غذایی محسوب می‌شود. ژل تولیدی به روش سرد می‌تواند سیستم مناسبی برای حفظ و انتقال ترکیبات حساس به حرارت (ترکیبات مغذی و دارویی) باشد و مزیت‌های این روش موجب برتری و کاربرد آن در تولیدات غذایی و دارویی شده است [5، 6].

پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها، اجزای اصلی سیستم‌های غذایی را تشکیل می‌دهند و نقش اساسی در ایجاد ساختار، بافت و پایداری سیستم را دارا هستند. فرایند تشکیل ژل پروتئین نیز مانند سایر ویژگی‌های عملکردی آن، در حضور پلی ساکاریدها تغییر می‌کند [7]. تاکنون تحقیقات بسیاری در مورد تشکیل ژل ترکیبی پروتئین آب پنیر و یا پروتئین‌های تشکیل دهنده آن با طیف گسترده‌ای از پلی ساکاریدها از جمله زانتان، آلژینات و صمغ دانه ریحان انجام شده است [8-11]. نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد که با توجه به ماهیت بیوپلیمرها (خنثی یا یونی بودن)، غلظت نسبی هر یک از ماکرومولکول‌ها و شرایط محیطی (دما، pH و قدرت یونی) ژل‌های متفاوتی ایجاد می‌شوند. خواص بافتی، مکانیکی و حسی این ژل‌ها تحت تاثیر ریزساختار آن‌ها قرار دارد که این موضوع بیش از هر چیز به نوع و درجه برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین و پروتئین-پلی ساکارید بستگی دارد [12، 13]. کوهن و همکاران نیز با بررسی ژل پروتئین آب پنیر تهیه شده توسط کلرید کلسیم و به روش سرد گزارش کردند که افزودن صمغ بذرتان به سیستم سبب تغییر در ساختار و ویژگی‌های ژل می‌شود و قابلیت جذب آب نمونه در غلظت‌های بالای صمغ (0/5٪ وزنی) کاهش می‌یابد. لی و همکاران نیز در تهیه ژل اسیدی حاصل از بتالاکتوگلوبولین و صمغ زانتان افزایش سفتی و کاهش

پروتئین آب پنیر به دلیل ارزش غذایی بالا، قابلیت هضم آسان و ویژگی‌های عملکردی از جمله خاصیت ایجاد امولسیون، پایدارکنندگی، ایجاد کف و تشکیل ژل، ترکیب مهمی در صنعت غذا محسوب می‌شود. این پروتئین ترکیبی از پروتئین‌های کروی از جمله آلفا-لاکتالبومین¹، بتا-لاکتوگلوبولین²، آلبومین سرم گاوی³، ایمنوگلوبولین⁴ و تعدادی دیگر از پروتئین‌های جزئی است. ویژگی‌های ذاتی این پروتئین از جمله اندازه مولکولی، شکل، بار خالص، کنفورماسیون، خاصیت هیدروفوبی، مقدار ترکیبات آمینواسیدی و گروه‌های سولفیدریل بر خصوصیات عملکردی آن اثر می‌گذارد [1]. هم‌چنین تاثیر تیمار حرارتی پروتئین آب پنیر وابسته به ویژگی‌های اولیه محلول آن (pH، مقدار نمک و غلظت پروتئین) و شرایط حرارت دهی (دما و زمان) می‌باشد. کاربرد این پروتئین در بهبود بافت بسیاری از مواد غذایی از جمله فراورده‌های گوشتی حرارت دیده، محصولات لبنی، دسرها، محصولات نانوبی، سس‌های سرد، سوریمی و مایونز رایج است. هم‌چنین این ترکیب با شبیه‌سازی خواص چربی در بافت مواد غذایی، می‌تواند نقش جایگزین چربی را داشته باشد [2].

تبدیل محلول پروتئین آب پنیر به ژل، فرایندی چند مرحله‌ای است. طی فرایند حرارت دهی، ابتدا بتالاکتوگلوبولین (به‌عنوان عمده‌ترین جزء آب پنیر) از حالت دیمر به مونومر تبدیل می‌شود. سپس در اثر دنا توره شدن مونومرها، تجمع‌های کوچک پروتئینی ایجاد می‌شود [3]. در آخرین مرحله، ایجاد شبکه توسط این تجمع‌های پروتئینی از طریق فرایندهای حرارتی و غیرحرارتی، موجب تشکیل ژل می‌گردد. در روش غیر حرارتی، تشکیل ژل حتی می‌تواند در دمای معمول اتاق و یا دمای یخچال نیز صورت گیرد. به همین دلیل ژل‌های تشکیل شده به این روش، ژل‌های سرد نامیده می‌شوند [4]. روش مرسوم تشکیل ژل سرد به‌طور معمول به صورت حرارت دادن اولیه محلول به منظور ایجاد تجمع‌های پروتئینی و در مرحله بعد اضافه کردن نمک و یا کاهش pH برای القای تشکیل ژل در دمای محیط (یا دمای یخچال) است. درحالی‌که وقتی

1. α -lactalbumin (α -la)
2. β -lactoglobulin (β -lg)
3. Bovine serum albumin (BSA)
4. Immunoglobulin (IMG)

جدول (1) آنالیز شیمیایی صمغ فارسی

ماده	ترکیب	مقدار (%)
رطوبت		9/656 ± 0/084
پروتئین		1/02 ± 0/009
صمغ فارسی		0/1632 ± 0/001 (نیترژن)
خاکستر		1/662 ± 0/085
کربوهیدرات		87/66 ± 0/18

اطلاعات شرکت فروشنده حاوی 4/53٪ رطوبت، 80/95٪ پروتئین، 4/7٪ چربی، 6/92٪ لاکتوز و 2/9٪ خاکستر است. گلوکونودلتالاکتون از شرکت سیگما و کلرید کلسیم و سدیم آزاید از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

2-2- آماده سازی محلول

محلول استوک 14٪ وزنی پروتئین تغلیظ شده آب پنیر و 2٪ درصد وزنی صمغ فارسی با استفاده از آب دیونیزه تهیه و 0/02 درصد بازدارنده میکروبی سدیم آزاید به محلول اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت 2 ساعت به وسیله همزن مغناطیسی با سرعت 300 و 600 rpm به ترتیب برای محلول پروتئین و صمغ فارسی در دمای اتاق همزده شدند. به منظور هیدراته شدن کامل، نمونه‌ها یک شب در دمای 4 °C نگهداری شدند. قبل از شروع آزمایش، محلول استوک به مدت یک ساعت بیرون از یخچال قرار گرفت تا به دمای محیط برسد. سپس با افزودن هیدروکسید سدیم 0/5 نرمال در pH=7 تنظیم گردید. بر اساس فرمولاسیون ژل‌های ترکیبی، محلول استوک کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ فارسی، با در نظر گرفتن غلظت مورد نیاز با یکدیگر مخلوط شدند [20].

2-3- تهیه ژل به روش سرد

محلول ترکیبی کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ فارسی، در دمای 90 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه با استفاده از حمام بخار، حرارت دهی و بلافاصله به وسیله حمام یخ تا دمای محیط خنک شد. در ادامه جهت تولید ژل در pH اسیدی، گلولوکونو دلتالاکتون (GDL) به نسبت 0/115 وزنی از GDL به WPC به سیستم تا رسیدن به pH=5 ± 0/1 اضافه شد.

سینرسیس ژل را با افزایش غلظت کل مشاهده کردند.

صمغ‌های ترش‌چی به لحاظ دسترسی آسان، از قدیمی‌ترین صمغ‌ها به شمار می‌روند. صمغ فارسی از شاخه و تنه درخت *Amygdalus scoparia Spach* (گونه‌ای بادام کوهی) ترشح می‌شود و نام‌های دیگر آن "صمغ شیرازی" یا "زدو" نیز می‌باشد. استفاده از این صمغ در طب سنتی نیز رواج داشته و به‌عنوان محرک اشتها، مسکن درد دندان، خرد کننده سنگ مثانه و غیره عمل می‌کند. صمغ فارسی متشکل از دو فاز محلول و نامحلول می‌باشد و جز گروه آرابینوگالاکتان‌ها محسوب می‌شود [15، 16]. در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای در مورد صمغ فارسی انجام شده است که قابلیت این صمغ را در ایجاد کمپلکس با پروتئین به منظور پایداری سیستم‌های کلوئیدی و امولسیون، تشکیل فیلم خوراکی، بهبود ویژگی‌های ماست کم چرب و جایگزین ژلاتین در پاستیل را نشان می‌دهند [16-19].

در این بررسی با توجه به مزایای تولید ژل به روش سرد، ویژگی‌های رئولوژیکی، قابلیت نگهداری آب و هم‌چنین خواص ریزساختار ژل ترکیبی پروتئین آب پنیر و صمغ فارسی تولید شده در pH خنثی (استفاده از یون کلسیم) و pH اسیدی (به‌کارگیری گلوکونو دلتالاکتون) مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج مربوط به این بررسی در انتخاب شرایط مناسب تولید ژل در محصولات غذایی حائز اهمیت خواهد بود.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد اولیه

صمغ فارسی به‌صورت ترشحات خشک شده از شاخه درخت بادام کوهی با نام علمی *Amygdalus scoparia Spach* به کمک شرکت دنا امولسیون شیراز، از منطقه میان جنگل، نزدیک شهرستان فسا در استان فارس جمع آوری شد. پس از مرحله تمیز کردن، گرانول‌های سفید رنگ تبدیل به پودر و از الک آزمایشگاهی بابک پارس، ساخت ایران، با مش 60 عبور داده شد. جدول (1) ترکیب شیمیایی صمغ فارسی مورد استفاده در این بررسی را توسط روش AOAC (2000) نشان می‌دهد. کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) تجاری از شرکت اینترفود کد 596490 ساخت هلند، خریداری شد و بر اساس

جامد داشته باشد، تانژانت اتلاف بالاتری را نشان خواهد داد. مدول کمپلکس نیز شاخص مناسب رئولوژی نوسانی برای میزان قدرت ژل در کرنش‌های پایین است [22، 23].

2-5- سینرسیس

این آزمون به روش بوتین و همکاران با کمی اصلاحات انجام شد. نمونه‌ها در قالبی استوان‌های شکل با ابعاد (27 میلی‌متر قطر و 7 میلی‌متر ارتفاع) تهیه شد. 24 ساعت بعد از تولید، نمونه‌ها از قالب خارج و بین دو کاغذ صافی واتمن یک به مدت 10 ثانیه توسط وزنه 14/00 گرمی، تحت فشار قرار گرفتند. درصد آب خارج شده از ژل با استفاده از رابطه (3) محاسبه شد [25]:

$$(3) \quad 100 \times \frac{\text{وزن رهائش آب}}{\text{وزن نمونه}} = (\%) \text{ سینرسیس}$$

این آزمون برای هر تیمار، پنج بار تکرار و میانگین داده‌ها گزارش شد.

2-6- میکروسکوپ الکترونی روبشی

نمونه‌ها به روش غوطه‌وری در نیتروژن مایع و استفاده از خشک کن انجمادی شرکت Heto، ساخت کشور انگلیس به مدت 48 ساعت، خشک شدند. سپس با قرار گرفتن بر روی پایه‌های آلومینیومی به‌وسیله دستگاه پوشش دهنده مدل Polaron E5230، شرکت Oxford، ساخت کشور انگلیس، روکش طلا بر روی آن‌ها ایجاد شد. میکروگراف‌ها به‌وسیله دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (مدل S360، شرکت Oxford، کشور انگلیس) با بزرگنمایی 200 از قسمت‌های مختلف نمونه تهیه شد [13].

2-7- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات در سه تکرار انجام و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS. 16 به روش تجزیه واریانس یک طرفه صورت گرفت. در مواردی که اختلاف میان نمونه‌ها در سطح اطمینان 95% ($p < 0/05$) معنی‌دار بود، میانگین‌ها به‌وسیله آزمون دانکن یا یکدیگر مقایسه شدند. نمودارها با استفاده از نرم افزار

هم‌چنین تولید ژل به روش خنثی ($\text{pH} = 7 \pm 0/1$)، با افزودن 10 mM نمک کلرید کلسیم (CaCl_2) به سیستم صورت گرفت. نمونه‌ها در قالب قرار گرفته و پس از پنج ساعت در یخچال نگهداری شدند [21]. در تولید ژل اسیدی و خنثی به‌ترتیب از سطوح 4 و 7% پروتئین WPC در کنار سه سطح صمغ فارسی (0/6، 0/3، 0 w/w) استفاده شد.

2-4- آزمون‌های رئولوژی دینامیک

جهت انجام آزمون‌های رئولوژیک از رئومتر ترموساینترفیک هاک مدل RheoStress 6000 Rotational، ساخت کشور آلمان، با استفاده از پروب دو صفحه موازی نوع p35TIS، با قطر 35 mm و فاصله 1 mm بینابینی استفاده شد. آزمون 18 ساعت بعد از تولید انجام شد. نمونه‌ها در زیر پروب به گونه ای قرار گرفتند که تمامی فضای زیر پروب توسط نمونه پر شود. سپس به‌منظور جلوگیری از تبخیر آب، لایه نازکی از روغن سیلیکون با ویسکوزیته پایین در فضای اطراف نمونه قرار گرفت. تمامی آزمون‌ها با سه بار تکرار و در هر تکرار، نمونه جدیدی استفاده شد.

2-4-1- آزمون رئولوژیکی دینامیک کرنش متغیر

این آزمون به‌منظور تعیین ناحیه خطی ویسکوالاستیک ماده، در فرکانس 1 هرتز و دمای 10 درجه سانتی‌گراد در دامنه کرنش 500 – 0/01% انجام و مقدار کرنش در محدوده خطی برای مرحله بعد مشخص گردید.

2-4-2- آزمون رئولوژیکی دینامیک فرکانس متغیر

این آزمون در دامنه فرکانسی 10 – 0/1 هرتز و دمای ثابت 10 درجه سانتی‌گراد انجام شد و پارامترهای مدول الاستیک (G')، مدول ویسکوز (G'') به‌دست آمد. هم‌چنین مقادیر تانژانت اتلاف ($\text{Tan } \delta$) و مدول کمپلکس (G^*) به ترتیب از رابطه 1 و 2 محاسبه شد:

$$(1) \quad \tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

$$(2) \quad G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2}$$

هر قدر ماده رفتار شبه سیال بیش‌تری نسبت به رفتار شبه

Excel. 2013 رسم شده است.

فارسی در دو روش تشکیل ژل سرد، متفاوت است. این مشاهده به دلیل برهمکنش‌های متفاوت و در نتیجه ویژگی‌های متفاوت ژل تولید شده با استفاده از افزودن کلسیم و یا گلوکونو دلتالاکتون می‌باشد. پروتئین‌های تجمع یافته و محلول در مرحله اول فرایند تشکیل ژل سرد، با کاهش نیروهای دافعه الکتروستاتیک بین آن‌ها، توانایی ایجاد شبکه و تشکیل ژل را پیدا می‌کنند. در pH خنثی، افزودن یون کلسیم سبب ایجاد پیوند بین پروتئین‌های تجمع یافته می‌شود. در حالی که در شرایط اسیدی به وجود آمدن بارهای مخالف در تجمعات پروتئینی به دلیل نزدیک شدن pH به نقطه ایزوالکتریک سبب ایجاد پیوند بین پروتئین‌ها می‌شود. بنابراین غلظت و بار الکتریکی سطح پروتئین بسته به pH محیط تاثیرگذار است [26]. برای انجام آزمون‌های دینامیک، تغییر شکل‌های کوچک ناحیه خطی ویسکوالاستیک و فرکانس‌های کم توصیه می‌شود تا ساختار شبکه ژل با کم‌ترین آسیب مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین مقدار کرنش 0/5٪ برای آزمون فرکانس متغیر انتخاب شد. ناحیه خطی ویسکوالاستیک برای بسیاری از مواد غذایی

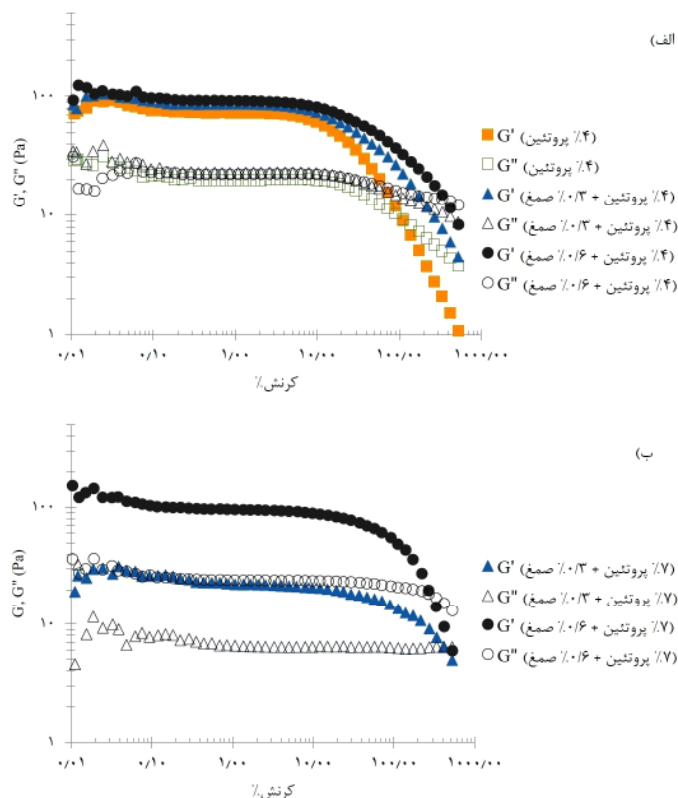
3- نتایج و بحث

3-1- آزمون‌های رئولوژیکی دینامیک

3-1-1- آزمون کرنش متغیر

پیش از بررسی ویژگی‌های ویسکوالاستیک نمونه‌ها، لازم است ناحیه خطی ویسکوالاستیک (LVE) به وسیله آزمون کرنش متغیر تعیین شود. مقادیر مدول الاستیک و ویسکوز در این ناحیه، ثابت و مستقل از مقدار کرنش مورد آزمون است [22]. نتایج آزمون کرنش متغیر نشان داد نمونه حاوی 7٪ کنسانتره پروتئین آب پنیر و فاقد صمغ فارسی در pH خنثی، پتانسیل تبدیل شدن به ژل را ندارد. در حالی که در تمامی نمونه‌های دیگر، مقدار مدول الاستیک بزرگ‌تر از مدول ویسکوز به دست آمد و این بیانگر وجود رفتار شبه جامد الاستیک در نمونه‌ها است (شکل 1).

با افزایش غلظت صمغ فارسی، هر دو مدول افزایش یافتند. با این حال روند تغییرات مدول‌های دینامیک با افزودن صمغ



شکل (1) نمودار کرنش متغیر ژل حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ فارسی به روش الف) القاء با گلوکونو دلتالاکتون، ب) القاء با Ca^{2+} (فرکانس 1 Hz و دمای $10^\circ C$)

قرار دارد که بیانگر ایجاد ساختار ژلی ضعیف است (جدول 2). نمونه خنثی حاوی 7٪ کنسانتره پروتئین آب پنیر، به تنهایی قدرت تشکیل ژل را نداشت و با افزودن صمغ فارسی در سطح 0/3 و 0/6 درصد وزنی، ژل تشکیل شد. همچنین با افزایش غلظت صمغ فارسی در نمونه‌های ژل خنثی القا شده با نمک کلسیم، مقدار هر دو مدول الاستیک، ویسکوز و اختلاف بین آن‌ها افزایش یافت و در نتیجه کاهش در مقدار تانژانت اتلاف ژل‌ها مشاهده شد. این امر نشان دهنده افزایش حالت جامد و استحکام بیش‌تر شبکه تشکیل شده در pH خنثی تحت تاثیر افزودن صمغ فارسی می‌باشد. هرچند افزودن صمغ فارسی در نمونه‌های ژل اسیدی القا شده با گلوکونو دلتالاکتون نیز سبب افزایش مدول‌های الاستیک و ویسکوز سیستم شده است. با این حال تأثیر صمغ فارسی در این روش تولیدی در مقایسه با ژل خنثی القا شده با یون کلسیم بسیار کم‌تر است. مقدار مدول کمپلکس نیز در هر دو روش تشکیل ژل سرد، با افزایش غلظت صمغ فارسی به‌طور منظم و معنی‌دار افزایش یافت (جدول 2).

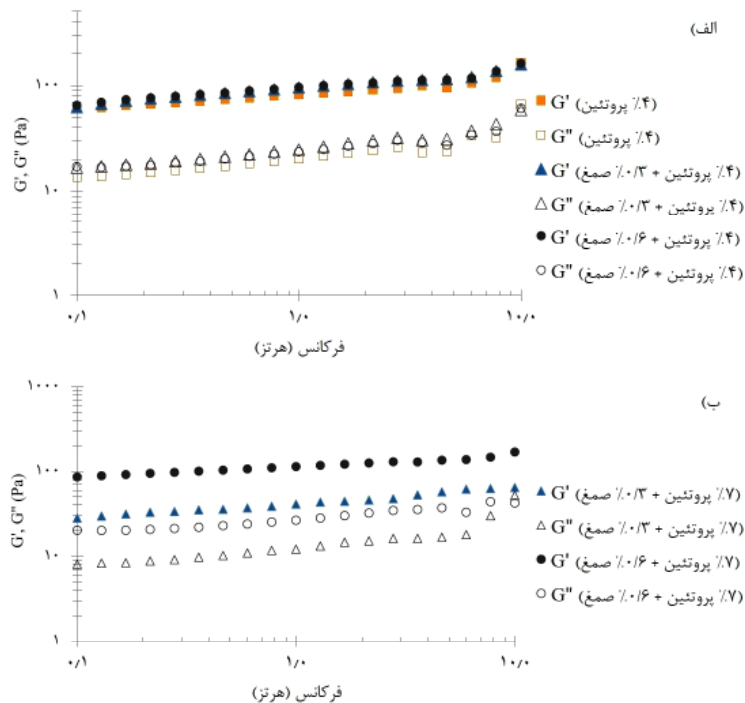
اثر مشاهده شده از صمغ فارسی بر ویژگی‌های رئولوژیکی سامانه ژل‌های تولید شده را می‌توان با پدیده ناسازگاری

به‌طور معمول در محدوده کرنش 2-0/1٪ تخمین زده شده است [26-27].

3-1-2- آزمون فرکانس متغیر

تغییرات مدول الاستیک و ویسکوز به‌عنوان تابعی از فرکانس برای ژل‌های ترکیبی تولید شده به روش سرد در شکل (2) نشان داده شده است. ژل اسیدی در غلظت پروتئینی کم‌تر از میزان WPC مورد نیاز برای تولید ژل خنثی، تشکیل شد. زیرا در شرایط اسیدی ایجاد پیوندهای قوی الکتروستاتیکی به دلیل وجود بارهای مخالف بین پروتئین‌ها امکان پذیر است. سیتیکی جیوتین و همکاران در مقایسه ژل حاصل از بتالاگتوگلوبولین در pH برابر با 7 و 4/7 گزارش کردند که ژل اسیدی به دلیل ایجاد پیوندهای الکتروستاتیک، خواص الاستیک بیش‌تری نسبت به ژل مشابه در pH خنثی را دارا می‌باشد.

در مورد ویژگی‌های ویسکوالاستیک، هرچه مقدار مدول الاستیک بزرگ‌تر از مدول ویسکوز و یا مقدار تانژانت اتلاف کم‌تر از یک باشد، نشان دهنده ایجاد حالت شبه جامد و خاصیت الاستیسیته بیش‌تر ماده است [29]. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد مقدار تانژانت اتلاف نمونه‌ها در بازه 0/29 - 0/23



شکل (2) نمودار مدول الاستیک (G') و مدول ویسکوز (G'') در برابر فرکانس برای ژل کنسانتره پروتئین آب پنیر و صمغ فارسی به روش الف القا با گلوکونو دلتالاکتون، ب القا با Ca^{2+} (کرنش 0/5٪ و دمای $10^{\circ}C$)

جدول (2) پارامترهای ویسکوالاستیک به‌عنوان تابعی از غلظت بیوپلیمرها و روش تولید ژل (فرکانس 1 Hz)

روش تشکیل ژل سرد	غلظت WPC (% W)	غلظت PG (% W)	G' (Pa)	G'' (Pa)	G* (Pa)	tan δ
الفا شده با GDL	0/0	0/0	82/391 \pm 3/872 ^b	20/633 \pm 1/598 ^b	84/93 \pm 4/14 ^b	0/250 \pm 0/007 ^{ab}
	4	0/3	95/819 \pm 7/795 ^c	24/821 \pm 2/231 ^{cd}	98/92 \pm 8/10 ^c	0/258 \pm 0/002 ^b
	0/6	0/6	97/954 \pm 4/17 ^c	23/470 \pm 0/893 ^c	100/72 \pm 1/93 ^c	0/239 \pm 0/008 ^a
	0/0	0/0	-	-	-	-
الفا شده با Ca ²⁺	7	0/3	41/193 \pm 2/242 ^a	12/297 \pm 0/195 ^a	42/99 \pm 2/17 ^a	0/299 \pm 0/014 ^c
	0/6	0/6	113/012 \pm 3/088 ^d	26/698 \pm 1/164 ^d	116/12 \pm 3/27 ^d	0/236 \pm 0/003 ^a

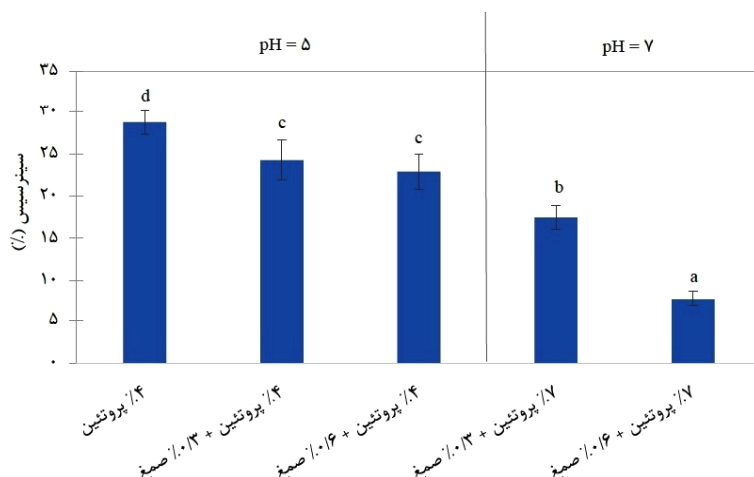
برخلاف تحقیقات انجام شده در pH خنثی، نتایج مختلف و متفاوتی در مورد استفاده از هیدروکلوئیدها در ژل‌های اسیدی حاصل از پروتئین آب پنیر گزارش شده است. براساس نتایج ارائه شده، صمغ تارا و پکتین سبب افزایش خواص ویسکوالاستیک ژل حاصل از پروتئین آب پنیر شده است [28، 31]. صمغ دانه خرنوب در غلظت پایین پروتئین آب پنیر تاثیر منفی در تشکیل شبکه پروتئینی دارد، اما این اثر در غلظت‌های بالاتر پروتئین مثبت است [36]. ایجاد ساختار ضعیف‌تر شبکه ژل پروتئینی در اثر افزودن صمغ کتیرا، کاراگینان و گوار نسبت به نمونه فاقد هیدروکلوئید ثبت گردیده است [37-39]. تاثیر هیدروکلوئیدها بر ژل اسیدی به ویژگی‌های پلی ساکارید مورد استفاده (از جمله دانسیته بار، وزن مولکولی متوسط و ساختمان زنجیره)، غلظت پروتئین، نسبت بیوپلیمرها، فرایند تولید، سرعت اسیدی شدن سیستم و میزان pH نهایی محصول بستگی دارد [39، 40].

3-2- سینرسیس

سینرسیس ژل، عامل مهمی در پذیرش محصولات غذایی از سوی مصرف کننده محسوب می‌شود. نتایج به‌دست آمده حاکی از این است که ژل‌های حاوی غلظت بالاتر کنسانتره پروتئین آب پنیر (ژل‌های خنثی) صرف نظر از روش تولید، میزان رهایش آب کم‌تری را داشتند (شکل 3). بررسی‌های گذشته نیز نشان می‌دهند میزان غلظت پروتئین به‌عنوان عامل ایجاد کننده ژل، مهم‌ترین فاکتور تاثیرگذار در میزان نگهداری آب در شبکه ژل است. زیرا افزایش غلظت آن سبب کاهش فضای آزاد و اندازه تخلخل در ژل پروتئینی تولید شده به

ترمودینامیکی الفا شده در مرحله اول فرایند تولید مرتبط دانست. در طی حرارت دهی محلول ترکیبی پروتئین و صمغ فارسی در pH = 7، دافعه بین پلیمرها بسته به میزان غلظت هیدروکلوئید می‌تواند منجر به افزایش اندازه تجمع‌های پروتئینی نسبت به نمونه فاقد صمغ شود. به عبارت دیگر به دلیل پدیده جدا شدن فازی، غلظت پروتئین به‌طور موضعی افزایش می‌یابد و سایز تجمع‌های پروتئینی بهتر و سریع‌تر به مقدار بحرانی برای ایجاد پایه اولیه ساختار ژل می‌رسد [30]. ژانگ و همکاران دو روش متفاوت را برای تشکیل ژل اسیدی (حرارت دهی و سپس ایجاد شرایط اسیدی تدریجی) حاصل از محلول پروتئین آب پنیر و پکتین به صورت حرارت دهی ترکیب بیوپلیمرها و یا محلول جداگانه هر یک از آن‌ها بررسی کردند. این محققان در نهایت با مقایسه مدول الاستیک و زمان تشکیل ژل اسیدی حاصل از این دو روش، شیوه حرارت دهی همزمان محلول ترکیبی را به دلیل اثر سینرژیستی بیش‌تر بیوپلیمرها در ژل ترکیبی، پیشنهاد دادند.

اثر هیدروکلوئیدهای مختلفی مانند صمغ دانه خرنوب [32]، صمغ دانه ریحان [33]، کاراگینان [34] و زانتان [10] بر ژل حاصل از بتالاکتوگلوبولین و یا پروتئین آب پنیر در pH خنثی مورد بررسی قرار گرفته است و تغییرات مدول الاستیک با افزودن صمغ نسبت به نمونه کنترل گزارش شده است. به نظر می‌رسد تاثیر هیدروکلوئیدها بسته به غلظت و نسبت مورد آزمون بر ویژگی‌های ژل پروتئینی به دلیل ناسازگاری ترمودینامیکی بیوپلیمرها و پدیده جدا شدن فازی در این pH است. این مکانیزم افزایش موضعی غلظت پروتئین در نقاطی از شبکه را منجر می‌شود [34، 35].



شکل (3) میزان سینرسیس ژل‌های ترکیبی پروتئین آب پنیر و صمغ فارسی تهیه شده با GDL (pH=5) و کلرید کلسیم (pH=7)

ژانگ و همکاران در بررسی تاثیر غلظت پکتین بر ژل خنثی پروتئین آب پنیر و تولید شده به روش سرد متوجه شدند که افزایش غلظت پکتین منجر به افزایش سینرسیس در نمونه‌ها می‌شود [29]. نتایج مشابهی نیز با افزودن صمغ بذر کتان به ژل پروتئین آب پنیر گزارش شده است [14]. به احتمال زیاد این اختلاف به دلیل روش آزمون مورد استفاده و به تبع آن، میزان تنش وارد شده بر ساختار ژل باشد.

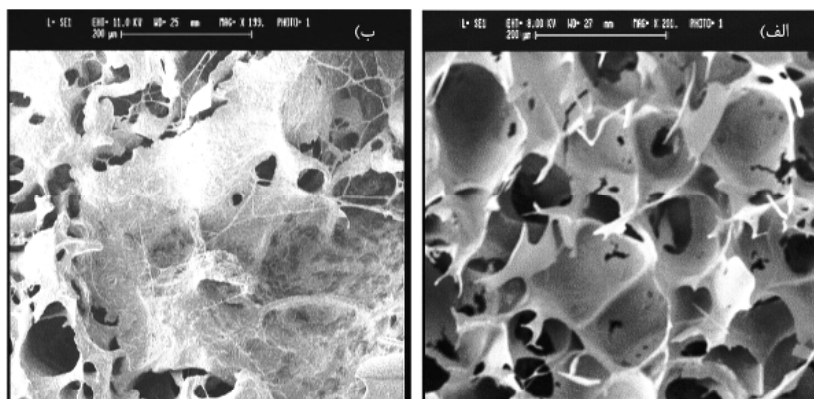
3-3- میکروسکوپ الکترونی روبشی

در این بخش از مطالعه جهت بررسی اثر صمغ فارسی بر ساختار شبکه ژل، تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نمونه‌ها تهیه شد. در خصوص ژل‌های اسیدی، ساختار نمونه‌ها قدرت تحمل تنش‌های حاصل از آماده سازی و روکش گذاری نمونه برای آزمون را دارا نبودند و به همین دلیل امکان تصویربرداری مهیا نشد. شکل (4)، میکروگراف‌های SEM حاصل از ژل سرد با استفاده از یون کلسیم در pH خنثی را نشان می‌دهد. مقایسه تصاویر به دست آمده با بزرگنمایی 200 نشان می‌دهد نمونه حاوی 7٪ وزنی کنسانتره پروتئین آب پنیر و 3٪ صمغ فارسی دارای شبکه پیوسته و منظمی است. درحالی‌که با افزایش غلظت صمغ فارسی تا 6٪، ریزساختمان پیوسته و منظم شبکه ژل تغییر کرده، تراکم دیواره شبکه در بخش‌هایی بیش‌تر از سایر نقاط بوده و تخلخل ژل نامنظم‌تر است.

افزایش تخلخل در ساختار ژل‌های پروتئینی ترکیبی با

روش سرد می‌شود [24، 41].

با افزایش غلظت صمغ فارسی، کاهش معنی‌داری در میزان رهایش آب نمونه‌ها برای هر دو روش تولیدی ژل مشاهده شد. این موضوع می‌تواند به دلیل توانایی صمغ فارسی در جذب آب تا ده برابر وزن خود باشد [42]. تغییرات رهایش آب در نمونه‌ها روندی مشابه با نتایج مشاهده شده در مورد تانژانت اتلاف آن‌ها نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد با افزودن صمغ در سیستم به دلیل افزایش جز الاستیک در شبکه ژلی نسبت به نمونه فاقد صمغ، قابلیت جذب آب نمونه‌ها افزایش یافته است. در ترکیب پروتئین و پلی ساکارید، میزان غلظت بیوپلیمرها، نسبت آن‌ها و pH سیستم بسیارحائز اهمیت است. در ژل‌های خنثی القا شده با کلسیم، هر دو بیوپلیمر دارای بار منفی هستند. بنابراین نیروهای دافعه طی ناسازگاری در غلظت‌های بالای بیوپلیمرها، به تشکیل شبکه‌های ژل متخلخل‌تر کمک می‌کند. در pH خنثی، کاتیون‌های دو ظرفیتی سبب پیوند بین تجمعات پروتئینی برای تشکیل شبکه ژلی هستند. بنابراین نقش چندانی در برهمکنش با مولکول‌های آب را ندارند و آب آزاد در منافذ شبکه ژل باقی می‌ماند [24، 43]. در حالی‌که در pH اسیدی، امکان ایجاد پیوند پروتئین- پروتئین- پلی ساکارید در هر نقطه‌ای از سطح مولکول‌ها امکان پذیر است که منجر به تشکیل تجمعات پروتئینی کروی شکل نسبتاً بزرگ می‌شود. بنابراین تشکیل ژل در اثر تجمعات تصادفی پروتئین در pH نزدیک به نقطه ایزوالکتریک (PI) پروتئین (pH= 4-6) رخ می‌دهد [6].



شکل (4) میکروگراف‌های SEM ژل ترکیبی حاوی 0.7٪ کنسانتره پروتئین آب پنیر خنثی و القا شده با Ca^{2+} (الف) در حضور 0/3٪ صمغ فارسی، (ب) 0/6٪ صمغ فارسی

پیوندهای قوی الکتروستاتیکی در ساختار ژل با pH اسیدی، امکان ایجاد شبکه ژلی با غلظت‌های کمتر WPC نسبت به ژل خنثی امکان‌پذیر است. همچنین کاربرد ترکیبی صمغ فارسی و کنسانتره پروتئین آب پنیر در تشکیل ژل سرد به دلیل نیروهای ایجاد شده بین پروتئین و پلی ساکارید در pH های مختلف منجر به تغییر و بهبود ویژگی‌های عملکردی ژل تولیدی می‌شود و امکان ایجاد طیف گسترده‌ای از ژل‌ها با ویژگی‌های مختلف رئولوژیکی و ساختاری را فراهم می‌سازد. به عبارت دیگر دانش مکانیسم تاثیر صمغ فارسی بر تشکیل ژل سرد پروتئین آب پنیر و اثر صمغ بر میزان تغییرات ژل‌های پروتئینی خنثی و اسیدی، دید مناسبی را برای فرمولاسیون مواد غذایی و ایجاد بافت‌های مناسب در آن‌ها فراهم می‌سازد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین المللی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری بخاطر تأمین بخشی از هزینه‌های مالی جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

سایر هیدروکلوئیدها در pH خنثی بسته به میزان غلظت بیوپلیمرها می‌تواند به دلیل نیروهای دافعه الکتروستاتیک بین آن‌ها و ایجاد ناسازگاری ترمودینامیکی باشد [24]. از طرفی مقدار یون کلسیم به‌عنوان عامل ایجاد پیوند و اتصالات بین گروه‌های دارای بار منفی در پروتئین آب پنیر می‌تواند در سرعت تشکیل ژل اثرگذار باشد. بنابراین سرعت تشکیل ژل و فرایند دو فاز شدن بیوپلیمرها در تشکیل ساختار نهایی شبکه ژل ترکیبی، اهمیت به‌سزایی دارند [44]. در تحقیقات گذشته نیز نتایج مشابهی برای جدایی فازی ژل‌های ترکیبی پروتئین آب پنیر و سایر هیدروکلوئیدها از جمله بذر کتان، صمغ دانه ریحان و نشاسته در $pH=7$ گزارش شده است [11، 14، 33].

4- نتیجه گیری

نتایج حاصل از این بررسی نشان دهنده امکان تشکیل ژل نرم جامد با پایه کنسانتره پروتئین آب پنیر به روش سرد می‌باشد و با افزودن نمک کلسیم در pH خنثی و یا استفاده از گلوکونودلتالاکتون به منظور ایجاد pH اسیدی، ژل‌هایی با ویژگی‌های متفاوت تولید می‌شود. به دلیل وجود

منابع

13(5), 151–159.

[2] Clark, A. (1992). Gels and gelling, In: Schwartzberg, H., Hartel, R. (Eds.), *Physical Chemistry of*

[1] Foegeding, E. A., Davis, J. P., Doucet, D., McGuffey, M. K. (2002). Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends Food Sci. Tech,*

- [12] Spahn, G., Baeza, R., Santiago, L., Pilosof, A. (2008). Whey protein concentrate/ I-Carrageenan systems: effect of processing parameters on the dynamic of gelation and gel properties. *Food Hydrocolloid.*, 22(8), 1504-1512.
- [13] Van Den Berg, L., Rosenberg, Y., Van Boekel, M., Rosenberg, M., Van De Velde, F. (2009). Microstructural features of composite whey protein/polysaccharide gels characterized at different length scales. *Food Hydrocolloid.*, 23(5), 1288-1298.
- [14] Kuhn, K., Cavallieri, A., Cunha, R. (2011). Cold-set whey protein-flaxseed gum gels induced by mono or divalent salt addition. *Food Hydrocolloid.*, 25(5), 1302-1310.
- [15] Fadavi, G., Mohammadifar, M. A., Zargarran, A., Mortazavian, A. M., Komeili, R. (2014). Composition and physicochemical properties of Zedo gum exudates from *Amygdalus scoparia*. *Carbohydr Polym.*, 10, 1074-1080.
- [16] Abbasi, S., Rahimi, S. (2015). Persian Gum, In: Mishra, S. (Ed.), *Encyclopedia of Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials*, Taylor & Francis Group LLC. USA, pp 5919-5929.
- [17] Jafari, S. M., Beheshti, P., Assadpour, E. (2012). Rheological behavior and stability of d-limonene emulsions made by a novel hydrocolloid compared with Arabic gum. *J. Food Eng.*, 109(1), 1-8.
- [18] Azarikia, F., Abbasi, S. (2016). Mechanism of soluble complex formation of milk proteins with native gums (tragacanth and Persian gum), *Food Hydrocolloid.*, 59, 35-44.
- [19] Ghasempour, Z., Alizadeh, M., Bari, M. R. (2012). Optimization of probiotic yoghurt production containing Zedo gum. *Int. J. Dairy Technol.*, 65(1), 118-125.
- [20] Khalesi, H., Emadzadeh, B., Kadkhodae, R., Fang, Y. (2016). Whey protein isolate-Persian gum in *Foods*, New York, Marcel Dekker, pp 263-305.
- [3] Pouzot, M., Nicolai, T., Durand, D., Benyahia, L. (2004). Structure factor and elasticity of a heat-set globular protein gel. *Macromolecules*, 37(2), 614-620.
- [4] Bryant, C. M., Mc Clements, D. J. (1998). Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. *Trends Food Sci. Tech.*, 9(4), 143-151.
- [5] Majhi, P. R., Ganta, R. R., Vanam, R. P., Seyrek, E., Giger, K., Dubin, P. L. (2006). Electrostatically driven protein aggregation: Beta-lactoglobulin at low ionic strength. *Langmuir*, 22(2), 9150-9159.
- [6] Mercade-Prieto, R., Gunasekaran, S. (2010). Gelation and Thickening with Globular Proteins at Low Temperatures, In: Ahmed, J., Ramaswamy, H. S., Kasapis, S., Boye, J. I. (Eds.), *Novel Food Processing*, Taylor & Francis Group, pp 147-186.
- [7] Perez, A. A., Carrara, C. R., Carrera, C., Santiago, L. G., Rodríguez Patino, J. M. (2010). Interfacial and foaming characteristics of milk whey protein and polysaccharide mixed systems. *AIChE J.*, 56(4), 1107-1117.
- [8] Bertrand, M. E., Turgeon, S. L. (2007). Improved gelling properties of whey protein isolate by addition of xanthan gum. *Food Hydrocolloid.*, 21(2), 159-166.
- [9] Li, J., Ould Eleya, M., Gunasekaran, S. (2006). Gelation of whey protein and xanthan mixture: effect of heating rate on rheological properties. *Food Hydrocolloid.*, 20(5), 678-686.
- [10] Bryant, C. M., Mc Clements, D. J. (2000). Influence of xanthan gum on physical characteristic of heat-denatured whey protein solutions and gels. *Foods Hydrocolloid.*, 14(4), 383-390.
- [11] Rafe, A., Razavi, S. M. A. (2013). Dynamic viscoelastic study on the gelation of basil seed gum. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 48(3), 556-563.

- Heated mixtures of native b-lactoglobulin and k-carrageenan. *Langmuir*, 17, 4380–4385.
- [31] Zhang, Sh., Hsieh, F., Vardhanabhuti, B. (2014). Acid-induced gelation properties of heated whey protein-pectin soluble complex (Part I): Effect of initial pH. *Food Hydrocolloid.*, 36, 76-84.
- [32] Rocha, C., Teixeira, J. A., Hilliou, L., Sampaio, P., Gonçalves, M. P. (2009). Rheological and structural characterization of gels from whey protein hydrolysates/locust bean gum mixed systems. *Food Hydrocolloid*, 23, 1734–1745.
- [33] Rafe, A., Razavi, S.M.A., Farhoosh, R. (2013). Rheology and microstructure of basil seed gum and b-lactoglobulin mixed gels. *Food Hydrocolloid.*, 30, 134-142.
- [34] Çakır, E., Foegeding, E. A. (2011). Combining protein micro-phase separation and protein-polysaccharide segregative phase separation to produce gel structures. *Food Hydrocolloid.*, 25, 1538-1546.
- [35] Spotti, M. J., Santiago, L. G., Rubiolo, A. C., Carrara, C. R. (2012). Mechanical and microstructural properties of milk whey protein/espina corona gum mixed gels. *LWT- Food Sci. Technol.*, 48(1), 69-74.
- [36] Tavares, C., Da Silva, J. A. L. (2003). Rheology of galactomannan–whey protein mixed systems. *Int. Dairy J.*, 13(8), 699-706.
- [37] Nejatian, M., Hatami, M., Mohammadifar, M. A. (2013). Effect of gum tragacanth exuded by three Iranian Astragalus on mixed milk protein system during acid gelation. *Int. J. Biol. Macromol.*, 53, 168-176.
- [38] De Jong, S., Klok, H. J., Van De Velde, F. (2009). The mechanism behind microstructure formation in mixed whey protein–polysaccharide cold-set gels. *Food Hydrocolloid.*, 23(3), 755-764.
- [39] Pang, Zh., Deeth, H., Bansal, N. (2015). Effect of polysaccharides with different ionic charge on the rheological, microstructural and textural properties of acid interaction at neutral pH. *Food Hydrocolloid*, 59, 35–44.
- [21] Ye, A., Taylor, S. (2009). Characterization of cold-set gels produced from heated emulsions stabilized by whey protein. *Int. Dairy J.*, 19, 721-727.
- [22] Hesarinejad, M. A., Razavi, S. M., Koocheki, A. (2015). The viscoelastic and thermal properties of Qodume shirazi seed gum (*Alyssum homolocarpum*), *IF-STR Journal*, 11(2), 116-128.
- [23] Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering* (2nd ed.), East Lansing, USA, Freeman Press. pp 312-348.
- [24] Boutin, Ch., Giroux, H. J., Paquin, P., Britten, M. (2007). Characterization and acid-induced gelation of butter oil emulsions produced from heated whey protein dispersions. *Int. Dairy J.*, 17, 696–703.
- [25] Le, X. T., Turgeon, S. L. (2015). Textural and water binding behaviors of b-lactoglobulin-xanthan gum electrostatic hydrogels in relation to their microstructure. *Food Hydrocolloid.*, 49, 216-223.
- [26] Heldman, D. R., Lund, D. B. (2007). *Handbook of food engineering* (2nd ed.), CRC press. pp 22-47.
- [27] Ikeda, Sh., Foegeding, E. A. (2005). Viscoelasticity of Suspensions and Gels. In: Wrolstad, R. E., Acree, T. E. (Eds.), *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons In., USA, pp 395-417.
- [28] Sittikijyothin, W., Sampaio, P., Gonçalves, M. P. (2007). Heat-induced gelation of b-lactoglobulin at varying pH: Effect of tara gum on the rheological and structural properties of the gels. *Food Hydrocolloid.*, 21, 1046–1055.
- [29] Rao, M. A. (1999). *Rheology of Fluids and Semi-solid Foods: Principles and Applications*, Aspen Publishers, Gaithersburg, USA, pp 1-24.
- [30] Croguennoc, P., Nicolai, T., Durand, D., Clark, A. (2001). Phase separation and association of globular protein aggregates in the presence of polysaccharides:

milk gels. *Food Res. Int.*, 72, 62–73.

[40] De Jong, S., Van De Velde, F. (2007). Charge density of polysaccharide controls microstructure and large deformation properties of mixed gels. *Food Hydrocolloid.*, 21, 1172–1187.

[41] Alting, A. C., Hamer, R. J., De Kruif, C. G., Paques, M., Visschers, R. W. (2003). Cold-set globular protein gels: Interactions, structure and rheology as a function of protein concentration. *J. Agr. Food Chem.*, 51, 3150–3156.

[42] Khalesi, H., Alizadeh, M., Rezazad Bari, M. (2012). Physicochemical and Functional Properties of Zedo Gum Exudating from *Amygdalus scoparia* Spach Trees in the Miyan Jangal area of the Fars Province, *IFSTR Journal*, 8(3), 317-326.

[43] Ziegler, G. R., Foegeding, E. A. (1990). The gelation of proteins. *Adv Food Nutr. Res.*, 34, 203-298.

[44] Marangoni, A. G., Barbut, S., McGauley, S. E., Marcone, M., Narine, S. S. (2000). On the structure of particulate gels-the case of salt-induced cold gelation of heat denatured whey protein isolate. *Food Hydrocolloid.*, 14(1), 61-74.

[45] Aguilera, J. M., Rojas, E. (1996). Rheological, Thermal and Microstructural Properties of Whey Protein-Cassava Starch Gels. *J. Food Sci.*, 61(5), 962-966.