



تخلیص آنزیمی صمغ دانه بالنگو (*Lallemantia royleana*) و بررسی ویژگی‌های عملکردی و آنتی‌اکسیدانی آن

مریم سردرودیان^۱، اکرم آریان‌فر^{۱*}، علی محمدی ثانی کاخکی^۱، سارا ناجی طبسی^۲

^۱گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاداسلامی، قوچان، ایران
^۲گروه نانو فناوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۲

چکیده

سابقه و هدف: پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها ترکیبات معمول در بسیاری از فرمول‌های مواد غذایی هستند. این ترکیبات منجر به ایجاد بافت، رها شدن طعم و بهبود پایداری فازی در سامانه‌های کلونیدی غذایی می‌شوند. همچنین این ترکیبات با ویژگی‌های ژله‌ای شدن، تغلیظ‌کنندگی و ویژگی پایداری سطحی، نقش کلیدی در ساختار و پایدارسازی سامانه‌های غذایی ایفا می‌کنند. با ترکیب بیوپلیمرهای پروتئین و پلی‌ساکارید، پلیمری جدید به وجود می‌آید که ویژگی‌های عملکردی متفاوتی نسبت به هر یک از اجزاء اولیه دارد. هدف از این پژوهش، بررسی خصوصیات عملکردی و آنتی‌اکسیدانی صمغ دانه بالنگو فاقد پروتئین می‌باشد.

مواد و روش‌ها: دانه‌های بالنگو (*Lallemantia royleana*) از بازار محلی بجنورد تهیه گردیدند. نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو توسط آبکافت آنزیمی (با استفاده از آنزیم پروتئیناز K) تهیه شد. جهت غیرفعال کردن آنزیم، اتانول با نسبت ۳ به ۱ به سیستم اضافه و به مدت ۶ ساعت نگهداری شد. سپس پلی‌ساکارید جدا شده و دوباره در آب حل و محلول حاصل در $\times 15000$ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت به عنوان نمونه فاقد پروتئین نامیده شد. نمونه‌های حاصل در آن تحت دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. خواص عملکردی صمغ با توجه به شاخص‌هایی نظیر میزان کشش سطحی (با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری کشش سطحی و به روش صفحه ویلهلمی با تیغه پلاتین-ایریدیوم)، خصوصیات امولسیون‌کنندگی (اندازه ذرات در امولسیون، آزمون میکروسکوپی، پایداری امولسیون در زمان نگهداری و پایداری امولسیون با آزمون سانتریفیوژ) و خصوصیات کف‌کنندگی (ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف) ارزیابی شد. علاوه بر این، خواص آنتی‌اکسیدانی صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و آزمون قدرت احیاء‌کنندگی اتم آهن (FRAP) بررسی شد و با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) مقایسه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۲) انجام شد. نتایج از طریق تجزیه واریانس و آزمون چند دامنه دانکن در سطح آماری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت و جهت رسم نمودارها، از نرم افزار Excel 2013 استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد، کاهش میزان پروتئین صمغ توسط آبکافت آنزیمی منجر به کاهش معنی‌دار در فعالیت سطحی و تضعیف خصوصیات امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی صمغ دانه بالنگو شد ($p < 0.05$) که اهمیت حضور بخش پروتئینی را در فعالیت سطحی صمغ دانه بالنگو نشان داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی صمغ و نمونه فاقد پروتئین در هر دو روش اندازه‌گیری کمتر از BHT

*مسئول مکاتبه: a_aria_1443@yahoo.com

استاندارد بود. نمونه فاقد پروتئین، کمترین میزان پروتئین داشت که این موضوع کاهش شدیدی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت به صمغ اولیه ایجاد کرد.

نتیجه‌گیری: ویژگی‌های عملگری محصول ثابت نمود که می‌توان از صمغ دانه بالنگو بخوبی برای ایجاد ثبات در کف و به عنوان امولسیفایر استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: دانه بالنگو، آنزیم پروتئیناز، کشش سطحی، خصوصیات عملکردی، آنتی‌اکسیدان.

مقدمه

صمغ‌های پلی‌ساکاریدی یکی از مواد خام فراوان موجود در طبیعت هستند که به علت سازگاری با محیط زیست، قابل تجزیه و بی‌خطر بودن از لحاظ زیستی، در بسیاری از پژوهش‌ها مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۲۷). واژه صمغ جهت توصیف گروهی از پلی‌ساکاریدهای طبیعی استفاده می‌شود که به دلیل توانایی در تولید ژل، ایجاد محلول‌های ویسکوز و پایدارکننده سیستم‌های امولسیون‌های کاربردهای گسترده‌ای در صنعت دارند. صمغ‌های محلول در آب حاصل از گیاهان یا هیدروکلئیدهای گیاهی، پلیمرهایی بلند زنجیر با وزن مولکولی بالا هستند که واحدهای سازنده آنها بیش از یک نوع مونوساکارید می‌باشد و به عنوان فیبرهای رژیمی، عوامل اصلاح‌کننده بافت، عوامل تولید ژل، قوام‌دهنده، پایدارکننده، امولسیفایر، عوامل پوشش‌دهنده و فیلم‌های بسته‌بندی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸).

بالنگو گیاهی با نام علمی *Lallemantia royleana* متعلق به خانواده نعناعیان است که در مناطق مختلف جهان به خصوص کشورهای شرق میانه رشد می‌کند (۲۱). دانه‌های بالنگو بلافاصله پس از قرار گرفتن در داخل آب، آن را جذب کرده و مایع چسبناک، کدر و بی‌مزه‌ای (موسیلاژ) ایجاد می‌کنند. به علت تولید مقادیر بالای موسیلاژ، این دانه می‌تواند به عنوان یک منبع جدید هیدروکلئید در فرمولاسیون مواد غذایی به کار رود (۲۱). دانه‌های این گیاه معطر به دلیل دارا

بودن موسیلاژ، بصورت سنتی در درمان نارسایی‌هایی همچون خونریزی‌های لثه، سرخه‌های ناشی از سرماخوردگی، ناراحتی‌های کلیوی و به عنوان خنک‌کننده، مسکن درد و آرام‌بخش استفاده می‌شوند (۱)، (۳۰).

صمغ دانه بالنگو به شرایط محیطی مانند دما و حضور یون‌ها حساس است. در مقایسه با سایر هیدروکلئیدها، صمغ حاصل از دانه بالنگو ویسکوزیته ذاتی بالاتری دارد (۲۹). صمغ بالنگو رفتار سودوپلاستیک دارد و در سرعت‌های برشی پائین ویسکوزیته بالایی ایجاد می‌کند (۲۸). ضریب قوام و شاخص رفتار جریان محلول ۱ درصد وزنی/وزنی آن به ترتیب، $8/84 \text{ pa.s}^n$ و $0/36$ و ویسکوزیته ظاهری آن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و درجه برش S^{-1} $46/16$ برابر با $0/76 \text{ Pa.s}$ گزارش شده است (۱۵). صمغ استخراج شده از دانه بالنگو به‌طور عمده از پلی‌ساکاریدها (حدود ۷۷/۱ درصد)، آب (۸/۲ درصد) پروتئین (۱/۶ درصد) و خاکستر (۱۳/۱ درصد) تشکیل شده است (۶).

صمغ دانه بالنگو را می‌توان به عنوان یک ترکیب پایدارکننده در سیستم‌های امولسیون بکار برد. به‌علاوه، چرخه‌های انجماد/ذوب نیز تا حدی سبب افزایش ظرفیت امولسیون صمغ دانه بالنگو و بهبود ویژگی‌های بافتی ژل حاصل از این صمغ می‌گردد (۶). ظرفیت عالی پیوند با آب و عدم سینرسیس پس از دوره‌های انجماد/ذوب و اثر مثبت آن بر

مخلوط شد تا پلی ساکاریدها رسوب کنند. رسوبها جدا شدند و مجدد در آب مقطر حل گردید و سپس توسط آون با جریان هوا در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد خشک شد و صمغ حاصل خرد و به منظور یکنواخت شدن نمونه، پودر حاصل الک، سپس بسته‌بندی و در جای خشک و خنک نگهداری شدند. **نمونه فاقد پروتئین صمغ دانه بالنگو:** نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو توسط آبکافت آنزیمی تهیه شد. جهت هضم پروتئین، محلول پلی ساکارید (۰/۱ درصد وزنی/وزنی) با آنزیم پروتیناز K برای ۳ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر روی همزن قرار گرفت. پس از تکمیل عمل هضم، جهت غیرفعال کردن آنزیم، اتانول با نسبت ۳ به ۱ به مخلوط واکنش اضافه و به مدت ۶ ساعت نگهداری شد. پلی ساکارید جدا شده و دوباره در آب حل و محلول حاصل در $g \times 15000$ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سوپرناتانت به عنوان نمونه فاقد پروتئین جمع‌آوری و نمونه صمغ بالنگو فاقد پروتئین نامیده شد. نمونه حاصل در آون تحت دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد خشک شد و پس از صاف شدن، بسته‌بندی و در جای خشک و خنک (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد (۱۹).

بررسی ویژگی‌های عملکردی

اندازه‌گیری فعالیت سطحی: اندازه‌گیری کشش سطحی با استفاده دستگاه کشش سطحی^۲ و به روش صفحه ویلهلمی^۳ با تیغه پلاتین-ایریدیوم^۴ انجام شد. در این روش نیروی لازم برای شکستن فیلم سیال با استفاده از نیروسنج اندازه‌گیری می‌شود. محلول‌های صمغ در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ (وزنی/وزنی) در آب دیونیزه تهیه گردیدند و به مدت ۲۴ ساعت روی همزن مغناطیسی^۵ جهت تکمیل عمل آبگیری

ویژگی‌های بافتی ژل صمغ دانه بالنگو می‌تواند برای غذاهای منجمد و به منظور کاستن تاثیر مخرب شرایط انجماد و جلوگیری از رشد بلور یخ مورد استفاده قرار گیرد (۶).

با توجه به نقش هیدروکلوئیدها و فیبرهای غذایی در فرمولاسیون محصولات غذایی و دارویی، بررسی ویژگی‌های منابع جدید صمغ‌های گیاهی با خواص مناسب جهت استفاده در صنعت اهمیت ویژه‌ای دارد. هدف از این پژوهش، بررسی خصوصیات عملکردی و آنتی‌اکسیدانی صمغ دانه بالنگو فاقد پروتئین می‌باشد تا امکان استفاده از آن‌ها در محصولات غذایی مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: دانه‌های بالنگوی شیرازی (گونه لامنتیا رویلینا^۱) از بازار محلی بجنورد تهیه گردید و تا زمان انجام آزمایش‌ها، در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در مکانی خشک نگهداری شدند. برای تهیه امولسیون‌ها، از روغن آفتابگردان (لادن، ایران) استفاده گردید.

استخراج صمغ دانه بالنگو: صمغ دانه بالنگو با استفاده از روش ارائه شده توسط محمد امینی (۲۰۰۷) تهیه شد (۱۵). 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 استخراج کننده مجهز به صفحه چرخنده (پارس خزر، ایران) صورت گرفت. به منظور حذف ناخالصی‌های موجود، محلول صمغ از صافی توری عبور داده شد. جهت تخلیص صمغ دانه بالنگو، صمغ جدا شده با ۳ برابر حجم اتانول ۹۶ درصد

1. *Lallemantia royleana*

2. Tensiometer
3. Wilhelmy plate technique
4. Platinum-iridium plate
5. Magnetic stirrer

نگهداری شدند. نمونه‌ها به ظرف شیشه‌ای منتقل شدند و برای رسیدن به آرامش و تعادل، به مدت ۳ ساعت قبل از آزمون نگهداری شدند. آزمون تعیین کشش سطحی محلول‌های صمغ بالنگو و اجزای آن در دمای 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد و حداقل در ۳ تکرار انجام شد (۱۹).

اندازه‌گیری خصوصیات امولسیون

روش تهیه امولسیون: امولسیون‌های صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن در غلظت $0/3$ درصد (وزنی/وزنی) تهیه شدند. جهت تهیه فاز آبی، پودر صمغ‌ها در غلظت مشخص تعیین شده بر اساس آزمون‌ها و مطالعات پیشین، با استفاده از همزن مغناطیسی در آب حل شدند و سپس جهت آبیگری کامل، در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) بمدت یک شبانه روز روی همزن غلطکی^۶ نگهداری شدند. روغن آفتابگردان (۳۰ درصد وزنی/وزنی روغن در آب) به صورت قطره‌ای به محلول هیدروکلوئید تحت عمل همزدن (۲۰۰۰ دور در دقیقه) اضافه شد تا یک امولسیون اولیه تشکیل شود. امولسیون اولیه تشکیل شده در ۲۰۰۰ دور در دقیقه با همزن‌نایزر برای ۶ دقیقه در تناوب‌های همزن‌ناسیون-استراحت هموزن شد (۲۰).

آزمون میکروسکوپی امولسیون‌ها: میکروساختار امولسیون‌ها توسط میکروسکوپ نوری دیجیتال در بزرگنمایی ۲۰ برابر مطالعه شد. امولسیون‌های تهیه شده توسط محلول سدیم دودسیل سولفات (۰/۱ درصد وزنی/حجمی) در نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شده و سپس بر روی لام قرار گرفتند. تصاویر نمونه‌ها به کمک دوربین دیجیتال متصل به رایانه تهیه شد (۵).

اندازه ذرات امولسیون: اندازه ذرات امولسیون‌های تولید شده با استفاده از صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد

پروتئین آن بلافاصله پس از تولید با استفاده از روش پراش اشعه ایکس^۷ و تصاویر میکروسکوپ نوری (بر مبنای روش پردازش تصویر) ارزیابی شد. رقیق‌سازی نمونه‌ها توسط SDS (۰/۱ درصد وزنی/حجمی) انجام شد. تصاویر امولسیون‌ها توسط روش ذکر شده در بخش آزمون میکروسکوپی امولسیون‌ها تهیه شدند. ابتدا تصاویر در نرم‌افزار فتوشاپ (نسخه ۲ SC ۹) پردازش شدند (۱۸). اندازه ذرات در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ با استفاده از نرم‌افزار ایمج‌جی^۸ (نسخه ۱.۴۸a، آمریکا) اندازه‌گیری شد.

پایداری امولسیون

پایداری امولسیون در زمان نگهداری: ارزیابی پایداری نمونه از طریق مشاهده چشمی انجام گرفت. در این روش نمونه‌ها بلافاصله پس از تولید به داخل ظروف آزمایشی شیشه‌ای منتقل شده، و به مدت ۵ هفته در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. تغییرات طی مدت ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پایداری امولسیون بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد (۷).

(رابطه ۱)

$$100 \times (\text{حجم امولسیون اولیه} / \text{حجم امولسیون نهایی})$$

$$= \text{پایداری امولسیون}$$

پایداری امولسیون با آزمون سانتیفریوژ: امولسیون‌های تهیه شده در $g \times 2000$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شدند تا لایه روغنی بالا جدا شود. حجم بخش جدا شده اندازه‌گیری شد و پایداری امولسیون طبق رابطه ۱ محاسبه گردید (۱۷).

خصوصیات کف‌کنندگی

ظرفیت کف‌کنندگی: به منظور بررسی میزان ظرفیت کف‌کنندگی، محلول‌های صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین در غلظت ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ (وزنی/وزنی) تهیه شدند. ۰/۳ درصد (وزنی/وزنی)

7. X-Ray Diffraction

8. Image J

6. Rollar Mixer

برای مقایسه فعالیت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف از فاکتوری به نام IC₅₀ نیز استفاده شد. طبق تعریف IC₅₀ غلظتی از عصاره است که ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش را مهار می‌کند (۳).

قدرت احیاءکنندگی آهن: ۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های متفاوت صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH برابر ۶/۶ و ۲ میلی‌لیتر K₃ Fe(CN)₆ (۱ درصد وزنی/حجمی) مخلوط شد و در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شد و پس از آن به سرعت خنک شده و با ۲ میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک ۱۰ درصد مخلوط کرده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲ × ۳۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس در نهایت ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی را با ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۰/۴ میلی‌لیتر FeCl₃ (۱ درصد وزنی/حجمی) مخلوط نموده و پس از ۱۰ دقیقه، جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر ثبت گردید (۱۴).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۲) انجام شد. نتایج از طریق تجزیه واریانس (ANOVA) و آزمون چند دامنه دانکن در سطح آماری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel (۲۰۱۳) استفاده شد.

نتایج و بحث

کشش سطحی: کشش سطحی صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین در غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ وزنی/وزنی) در شکل ۱ نشان داده شده است. صمغ دانه بالنگو به طور معنی‌داری کشش سطحی را در ۰/۱ درصد نسبت به کشش سطحی اولیه در تداخل هوا/ آب کاهش داد (۶۴/۵ mN/m) (شکل ۱).

آلبومین به ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکلئید که کاملاً آبدهی شده (پس از ۲۴ ساعت نگهداری نمونه بر روی همزن مغناطیسی)، اضافه گردید و توسط هموژنایزر با دور ۱۵۰۰۰ g به مدت ۲ دقیقه همزده شدند. میزان ظرفیت کف‌کنندگی بر اساس رابطه ۲ تعیین شد. i_{fv} حجم کف اولیه بلافاصله پس از تولید و t_{sv} حجم کل سوسپانسیون است (۸).
(رابطه ۲)

$$100 \times \left(\frac{i_{fv}}{t_{sv}} \right) = \text{ظرفیت کف‌کنندگی } (\%)$$

پایداری کف: کاهش حجم کف پس از ۳۰ دقیقه به عنوان شاخص پایداری کف در نظر گرفته شد و بر اساس رابطه ۳ محاسبه گردید. f_{fv} حجم کف پس از ۳۰ دقیقه و i_{fv} حجم کف اولیه می‌باشد (۸).

$$100 \times \left(\frac{f_{fv}}{i_{fv}} \right) = \text{پایداری کف } (\%)$$

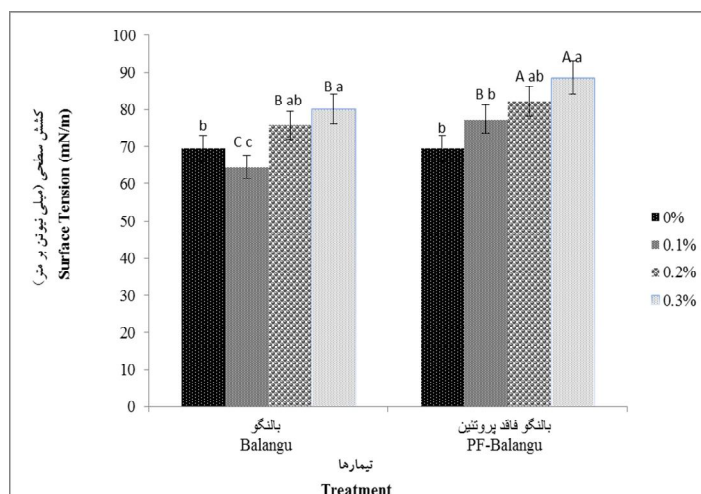
تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

میزان به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH: فعالیت آنتی‌اکسیدانی صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین در غلظت‌های مختلف (۱، ۰/۸، ۰/۶، ۰/۴، ۰/۲ و ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به روش فعالیت به دام‌اندازی رادیکال DPPH تعیین گردید (۱۱). ۱ میلی‌لیتر از نمونه صمغ با ۲ میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۰/۲ میلی‌مولار DPPH، مخلوط شدند. سپس برای ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی نگهداری شدند. میزان جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر ثبت شد. میزان فعالیت مهارکنندگی بر اساس رابطه ۴ محاسبه گردید. نمونه شاهد به جای صمغ حاوی آب بود و برای حذف خطای ناشی از جذب ماده‌ی زمینه، جذب اتانول تعیین شد.

(رابطه ۴)

$$100 \times [\text{جذب شاهد} / (\text{جذب اتانول} - \text{جذب نمونه})]$$

$$[1] = \text{فعالیت مهار رادیکال DPPH}$$



شکل ۱- فعالیت سطحی صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن در غلظت‌های مختلف (۲۰ درجه سانتی گراد). حروف مختلف روی هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها (حروف بزرگ) و غلظت‌های مختلف صمغ (حروف کوچک) می‌باشد (آزمون دانکن، $P < 0.05$).

Figure 1. Surface activity of Balangu and PF-Balangu determined at different concentration (20 °C). Different letters of each bar indicate significant differences between samples (capital letter) and different gum concentration (small letter) at $p < 0.05$.

صفحه ویلهلمی پیشنهاد شده است زیرا از خطاهای سیستماتیک ناشی از اثر نیروی چسبناک ایجاد شده در زمان اندازه‌گیری جلوگیری می‌کند (۱۳). در نتیجه، با توجه به غلظت بالای صمغ دانه بالنگو، روش صفحه ویلهلمی در این پژوهش انتخاب شد تا غلظت بالای صمغ دانه بالنگو در بررسی کشش سطحی آن خطا ایجاد نکند. کشش سطحی شنبلیله، پکتین، گوار، زانتان، صمغ عربی، کاراگینان و متیل سلولز در ۰/۵ درصد وزنی/وزنی به ترتیب، ۵۰/۳، ۵۳/۶، ۶۰/۸، ۴۶/۹ و ۵۲/۹ mN/m گزارش شده است (۷). فعالیت کاهش کشش سطحی را معمولاً به مولکول‌های پروتئینی موجود در صمغ‌ها نسبت می‌دهند، البته این موضوع که صمغ خالص‌سازی شده و یا پروتئین به صورت ناخالصی در آن وجود دارد قابل ملاحظه است (۸). بیشتر مطالعات انجام گرفته در مورد فعالیت سطحی هیدروکلوئیدها نشان داده است که بخش پروتئینی هیدروکلوئید نقش مهمی در فعالیت سطحی آنها دارد (۲). بنابراین، جهت پیگیری اهمیت حضور پروتئین در فعالیت سطحی صمغ دانه بالنگو، نمونه

همانطور که در شکل ۱، مشاهده می‌شود مقادیر کشش سطحی با افزایش غلظت صمغ دانه بالنگو، افزایش یافت. ناجی و همکاران (۲۰۱۶)، کشش سطحی صمغ دانه ریحان و اجزای (وزن مولکولی بالا، وزن مولکولی پایین و نمونه فاقد پروتئین) حاصل از آن را در غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد وزنی/وزنی) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد، مقادیر کشش سطحی در تمامی نمونه‌ها به غیر از جزء با وزن مولکولی پایین، با افزایش غلظت افزایش یافت. جزء با وزن مولکولی پایین، فعالیت سطحی قوی‌تری در مقایسه با سایر نمونه‌ها داشت، بطوریکه کشش سطحی آن با افزایش غلظت (۰/۱ به ۰/۳ درصد وزنی/وزنی) از ۶۴ mN/m به ۵۷ mN/m کاهش یافت (۱۹).

بیان شده است که افزایش کشش سطحی در غلظت‌های بالا مربوط به افزایش ویسکوزیته و تشکیل ژل است که اندازه‌گیری کشش سطحی و بین سطحی را دشوار می‌کند. جهت اندازه‌گیری کشش سطحی محلول‌های دارای ویسکوزیته بالا، روش

طریق جداسازی فیزیکی تا ۰/۶ درصد کاهش دادند. آنها مشاهده نمودند که میزان فعالیت کشش سطحی پس از جداسازی پروتئین کاهش یافت و نتیجه گرفتند که پروتئین نقش مهمی در فعالیت سطحی صمغ ریحان دارد همچنان میزان آبگریزی و کنفورماسیون پلی ساکارید توسط عمل تیمار با فنول جهت حذف پروتئین تحت تاثیر قرار می گیرد که این بر خصوصیات جذب سطحی موثر است (۲۳).

فاقد پروتئین آن توسط آبکافت آنزیمی تهیه شد و مشاهده گردید که کشش سطحی آن نسبت به صمغ دانه بالنگو افزایش یافت که تایید کننده اهمیت حضور پروتئین در کاهش کشش سطحی توسط صمغ دانه بالنگو است. کاهش فعالیت سطحی پس از حذف پروتئین در تمامی غلظت ها معنی دار بود ($p < 0.05$). اوسانو و همکاران (۲۰۱۰)، نیز کاهش فعالیت کشش سطحی صمغ ریحان را پس از کاهش بخش پروتئینی بیان داشتند. آنها میزان پروتئین صمغ ریحان را از

جدول ۱- اندازه ذرات امولسیون صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن در غلظت ۰/۳ درصد وزنی/وزنی طی ۵ هفته نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد)

Table 1. The particle size of emulsions of Balangu and PF-Balangu at 0.3% w/w during 5 weeks storage at 25 °C

امولسیون Emulsion		شاخص های اندازه ذره Particle size parameters (میکرومتر) (μm)	زمان نگهداری storage time (روز) (Day)
صمغ دانه بالنگو فاقد پروتئین PF- Balangu	صمغ دانه بالنگو Balangu	MD (μm) SD (-)	پس از تولید* After the production*
11.23±0.24 ^A 0.41	5.12±0.17 ^B 0.23	MD (μm) SD (-)	پس از تولید** **After the production
3.6±0.12 ^{A d} 0.45	3.05±0.28 ^{B b} 0.32	MD (μm) SD (-)	هفته اول** **Week 1
4.52±0.13 ^{A c} 0.81	3.39±0.36 ^{B ab} 0.52	MD (μm) SD (-)	هفته دوم** **Week 2
4.63±0.12 ^{A c} 0.93	3.61±0.12 ^{B ab} 0.68	MD (μm) SD (-)	هفته سوم** **Week 3
5.85±0.11 ^{A b} 1.92	3.84±0.34 ^{B a} 0.77	MD (μm) SD (-)	هفته چهارم** **Week 4
6.41±0.12 ^{A a} 2.65	3.89±0.42 ^{B a} 0.91	MD (μm) SD (-)	

Particle size analyzer*

*دستگاه تجزیه و تحلیل اندازه ذره

Image processing technique (MD± SD) **

**روش پردازش تصویر (میانگین قطر ذرات ± SD تکرارها)

حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها (حروف بزرگ) و طی نگهداری (حروف کوچک) می باشد (آزمون دانکن، $P < 0.05$).

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

که در جدول ۱ مشاهده می شود، امولسیون صمغ بالنگو دارای اندازه ذرات $5/12 \mu\text{m}$ بود. بزرگترین قطرات روغن توسط نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو ($11/23 \mu\text{m}$) با کمترین محتوی پروتئین (۰/۴۱ درصد) حاصل شد. با حذف پروتئین، تمایل نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو برای جذب سطحی بر روی

خصوصیات امولسیون کنندگی

توزیع اندازه ذرات امولسیون: قطر متوسط ($MD^{(1)}$) و انحراف استاندارد ($SD^{(1)}$)، عرض توزیع اندازه ذرات امولسیون) در جدول ۱ گزارش شده است. همانگونه

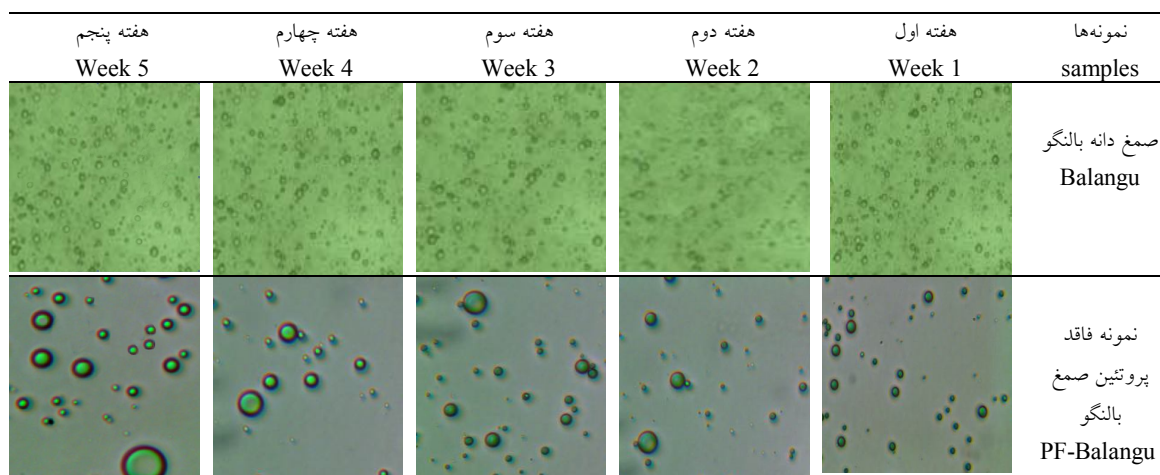
10. Mean Diameter

11. Standard deviation

وجود پروتئین نقش اصلی را در ایجاد لایه محافظ بر سطح قطرات ایجاد می‌کند. با توجه به سرعت رشد آرام‌تر در صمغ بالنگو نسبت به نمونه فاقد پروتئین آن، صمغ بالنگو قطرات امولسیون پایدارتری در حضور پروتئین بیشتر تشکیل داده است. زنجیرهای پروتئین آبگریز می‌توانند بر سطح قطرات قرار گیرند و بلوک کربوهیدراتی چسبیده به این زنجیرها نیز یک مانع سخت در مقابل تجمع و بهم پیوستگی قطرات روغن ایجاد می‌کند (۲). این یافته با نتایج ناجی و رضوی (۲۰۱۶) و اوسانو و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد، به طوری که آنها گزارش نمودند کاهش پروتئین صمغ ریحان منجر به افزایش اندازه قطرات و سرعت رشد آنها در طول ذخیره‌سازی می‌شود (۲۰، ۲۲).

تصاویر میکروسکوپی امولسیون: شکل ۲ تصاویر میکروسکوپی نوری امولسیون در طول ۵ هفته نگهداری امولسیون‌ها را نمایش می‌دهد. تصاویر میکروسکوپی قطرات امولسیون همچنین تایید می‌کنند که صمغ بالنگو باعث تولید امولسیون یکنواخت‌تر و قطرات کوچک‌تر در مقایسه با نمونه فاقد پروتئین آن طی نگهداری می‌شود. در مقابل، امولسیون نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو دارای قطرات با توزیع پراکنده و اندازه بزرگتر بودند.

سطوح بینابینی روغن و آب کاهش می‌یابد و قطرات بزرگتری در زمان هموژنیزاسیون حاصل می‌شود (جدول ۱). MD امولسیون‌ها پس از تولید و طی زمان نگهداری برای ۴ هفته توسط روش پردازش تصویر نیز کنترل شد (جدول ۱). نتایج قطر متوسط و عرض توزیع بلافاصله پس از آماده‌سازی امولسیون با استفاده از روش پردازش تصویر روندی مشابه نتایج تحلیل اندازه ذرات پراش لیزر داشت. اگرچه، میانگین اندازه قطرات حاصل از روش پردازش تصویر کوچکتر بود. میانگین قطر قطرات ۳/۰۵ و ۳/۶ μm ، بترتیب برای امولسیون‌های صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن حاصل شد. اندازه قطر امولسیون صمغ بالنگو طی ۳ هفته نگهداری به آرامی افزایش یافت و این افزایش در هفته چهارم معنی‌دار بود. بیشترین سرعت افزایش قطر ذرات امولسیون نمونه فاقد پروتئین مشاهده شد که افزایش معنی‌داری در هفته اول حاصل گردید ($P < 0.05$). قطرات امولسیون در زمان برخورد به یکدیگر، تمایل شدید به ادغام با قطرات مجاور دارند که منجر به تغییرات اندازه قطرات طی نگهداری می‌شود (۱۴). اکثر هیدروکلوئیدها از طریق اصلاح ویسکوزیته یا ژل‌دهی فاز پیوسته مایع از بهم پیوستگی قطرات جلوگیری می‌کنند (۲، ۱۷). اما،



شکل ۲- میکروساختار امولسیون‌های صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن طی ۵ هفته نگهداری

Figure 2. Microstructure of emulsions containing Balangu and PF-Balangu during storage for 5 weeks

ساختاری، بار الکتریکی، فعالیت سطحی، درجه آب دوستی و قدرت تشکیل صمغ، تمامی نمونه‌ها لزوماً به یک میزان در جلوگیری از خامه‌ای شدن موثر نیستند (۱۱). پایداری امولسیون صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن به ترتیب، ۷۲/۵ و ۶۱/۴ درصد بود.

پایداری امولسیون‌ها: نتایج پایداری امولسیون‌ها پس از سانتریفیوژ و همچنین نگهداری برای ۵ هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج سانتریفیوژ، صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن توانایی جلوگیری از خامه‌ای شدن امولسیون را دارند. اگرچه با توجه به ویژگی‌های

جدول ۲- پایداری امولسیون‌های صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن در غلظت ۰/۳ درصد وزنی/وزنی طی ۵ هفته نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

Table 2- Stability of emulsions stabilized with Balangu and PF-Balangu at 0.3% w/w during 5 weeks storage period at 25 °C*.

زمان نگهداری (هفته ۵)	زمان نگهداری (هفته ۴)	زمان نگهداری (هفته ۳)	زمان نگهداری (هفته ۲)	زمان نگهداری (هفته ۱)	پایداری سانتریفیوژی	امولسیون
Storage stability (Week 5)	Storage stability (Week 4)	Storage stability (Week 3)	Storage stability (Week 2)	Storage stability (Week 1)	Centrifuge Stability (%)	Emulsion
99.1±0.05 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	72.5±0.25 ^a	صمغ دانه بالنگو Balangu
77.50±0.25 ^b	79.35±0.37 ^b	80.41±0.25 ^b	88.21±0.47 ^b	98.51±0.41 ^b	61.4±0.22 ^b	صمغ دانه بالنگو فاقد پروتئین PF- Balangu

*حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (آزمون دانکن، P<0.05).

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

آنها است. پایداری امولسیون در برابر جدایی گرانشی می‌تواند با کاهش اندازه قطرات افزایش یابد (۷). در این پژوهش، اندازه قطرات روغن امولسیون صمغ بالنگو باعث پایداری بیشتری نسبت به نمونه فاقد پروتئین آن شد. در مقابل، قطرات روغن درشت و توزیع اندازه پراکنده امولسیون نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو به جدا شدن سریع گرانشی آن کمک کرد. نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو کمترین میزان پروتئین را دارا بود و این منجر به بزرگ شدن قطرات و پایداری کمتر امولسیون گردید. این یافته با نتایج دیکنسون و همکاران (۱۹۸۸)، مطابقت دارد که ارتباطی قوی بین میزان پروتئین و خصوصیات امولسیون‌کنندگی صمغ عربی گزارش کردند (۴). به طور مشابه، راندال و همکاران (۱۹۸۸)، توضیح دادند که ترکیب پروتئینی مسئول خصوصیات

روش سانتریفیوژ یک روش سریع برای بررسی پایداری امولسیون است، اما گاهی اوقات ممکن است رفتار واقعی امولسیون در طول نگهداری را منعکس نکند. بنابراین، ثبات امولسیون طی ۵ هفته نگهداری نیز مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). نتایج پایداری امولسیون‌ها طی نگهداری، مشابه نتایج حاصل از روش سانتریفیوژ و در توافق با نتایج توزیع اندازه ذرات گردید. در هفته اول، فقط جدا شدن فازی در نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو وجود دارد. اوسانو و همکاران (۲۰۱۴)، نیز گزارش نمودند که امولسیون تهیه شده توسط صمغ دانه ریحان در غلظت ۰/۳ درصد بمدت ۱ ماه می‌تواند پایدار باقی بماند (۲۲). نرخ تغییرات پایداری طی نگهداری توسط توزیع اندازه ذرات تحت تاثیر قرار می‌گیرد. براساس قانون استوک، سرعت حرکت قطره متناسب با مربع شعاع

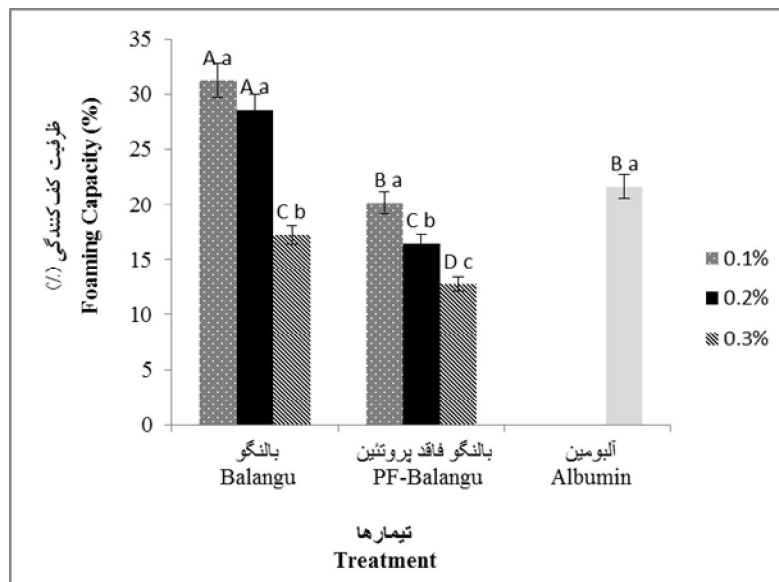
درصد وزنی/وزنی) نشان می‌دهد. ظرفیت کف‌کنندگی آلبومین در غلظت ۰/۳ درصد، ۲۱/۶۵ درصد بود. بیشترین و کمترین ظرفیت کف‌کنندگی آلبومین به ترتیب، مربوط به صمغ بالنگو در ۰/۱ درصد وزنی/وزنی (۳۱/۲۲ درصد) و نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو در ۰/۳ درصد وزنی/وزنی (۱۲/۷۴ درصد) بود. ظرفیت کف‌کنندگی آلبومین در حضور صمغ بالنگو در غلظت ۰/۱ درصد به طور معنی‌داری افزایش یافت (۳۱/۲۲ درصد) که براساس غلظت مورد استفاده قابل ملاحظه بود.

امولسیون‌کنندگی است (۳۱). اسمان و همکاران (۲۰۱۱)، نیز بیان داشتند که خصوصیات امولسیون‌کنندگی و پایدارسازی اجزای حاصل از صمغ آکاسیا بستگی به توزیع بخش‌های پروتئینی دارد (۲۴).

خصوصیات کف‌کنندگی

ظرفیت کف‌کنندگی

شکل ۳ تاثیر صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن را در غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد وزنی/وزنی) بر ظرفیت کف‌کنندگی آلبومین (۰/۳)



شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن بر ظرفیت کف‌کنندگی محلول آلبومین (۰/۳ درصد وزنی/وزنی) (حروف مختلف روی هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها (حروف بزرگ) و غلظت‌های مختلف صمغ (حروف کوچک) می‌باشد (آزمون دانکن، $P < 0.05$).

Figure 3. Effect of different concentrations of Balangu and PF-Balangu on foaming capacity of 0.3% albumin solutions. Different letters of each bar indicate significant differences between samples (capital letter) and gum concentrations (small letter) at $p < 0.05$.

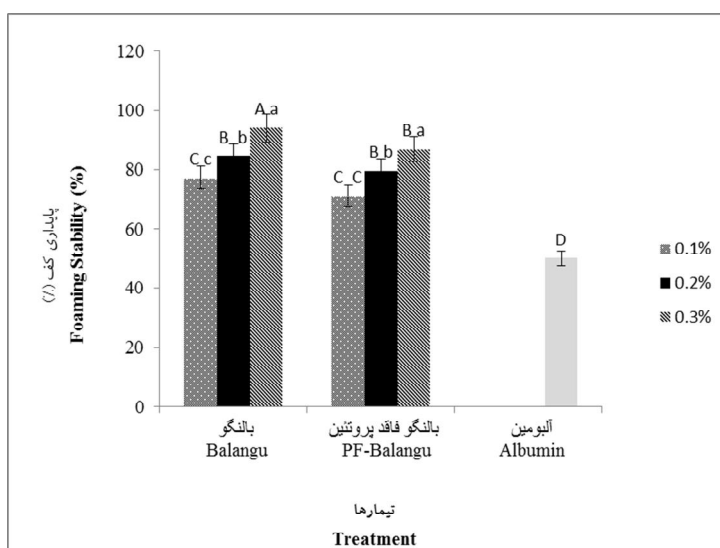
(وزنی/وزنی) بر ظرفیت کف‌کنندگی آلبومین تاثیر معنی‌داری نداشت. اما افزایش غلظت آن (۰/۲ و ۰/۳ درصد)، میزان ظرفیت کف‌کنندگی را کاهش داد (شکل ۳). نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو دارای گروه‌های هیدروفیلی بیشتر و بخش آبگریز کوچکی است که باعث ایجاد قابلیت کف ضعیفی می‌گردد. از

حضور گروه‌های دارای فعالیت سطحی در ساختار صمغ‌ها باعث کاهش کشش سطحی و ایجاد قابلیت تشکیل فیلم در سطح حباب‌های گاز می‌شود (۳۴). همانطور که انتظار می‌رفت با آبکافت پروتئین، قابلیت ایجاد کف به طور قابل توجهی کاهش یافت. نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو در غلظت ۰/۱ درصد

ریحان در غلظت ۰/۱ درصد (وزنی/وزنی) به طور معنی داری افزایش یافت (۲۸ درصد) که بر اساس غلظت مورد استفاده قابل ملاحظه بود (۲۰).

پایداری کف: شکل ۴ تاثیر غلظت‌های مختلف صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن بر پایداری کف محلول آلبومین را نشان می‌دهد. براساس نتایج پایداری کف (شکل ۴) می‌توان دریافت که پایداری کف آلبومین به طور معنی داری توسط صمغ بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن افزایش یافت. پایداری کف آلبومین ۴۹/۵ درصد بود. مخلوط صمغ بالنگو-آلبومین پایداری کف بالاتری داشت (۷۷/۲-۹۴ درصد) که با افزایش غلظت افزایش یافت. بیشترین پایداری کف در میان نمونه‌ها متعلق به صمغ بالنگو در غلظت ۰/۳ درصد (وزنی/وزنی) بود (۹۴ درصد).

طرف دیگر با افزایش غلظت هیدروکلوئیدها، قابلیت ایجاد کف در نمونه‌ها کاهش یافت. افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته اجازه نمی‌دهد حباب‌های هوا توسط همزدن مکانیکی در سیستم به خوبی تولید شوند (۲۵، ۲۶). بنابراین قابلیت ایجاد کف با افزایش غلظت بخصوص در ۰/۳ درصد بشدت کاهش یافت. با توجه به اختلاف زیاد دانسیته بین حباب‌های گاز و محیط، سیستم‌های کف به سرعت به دو لایه تقسیم می‌شود. حباب‌های گاز به سمت بالا حرکت می‌کنند که ممکن است تحت تغییر شکل، ساختار چند وجهی تشکیل دهند (۸). زی و هتی‌آرچچی (۱۹۹۸)، گزارش نمودند که قابلیت کف‌زایی پروتئین ایزوله سویا با استفاده از صمغ زانتان بهبود می‌یابد (۳۷). همچنین ناجی و رضوی (۲۰۱۶)، بیان نمودند که ظرفیت کف‌کنندگی آلبومین در حضور صمغ دانه



شکل ۴- تاثیر غلظت‌های مختلف صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن بر پایداری کف محلول آلبومین (۰/۳ درصد وزنی/وزنی). حروف مختلف روی هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار بین نمونه‌ها (حروف بزرگ) و غلظت‌های مختلف صمغ (حروف کوچک) می‌باشد (آزمون دانکن، $P < 0.05$).

Figure 4. Effect of different concentrations of Balangu and PF-Balangu on foaming stability of 0.3% albumin solutions. Different letters of each bar indicate significant differences between samples (capital letter) and gum concentrations (small letter) at $p < 0.05$.

ممانعت از ته‌نشین شدن ذرات جامد حل شده، کاهش سرعت خامه‌ای شدن قطرات روغن و کف، جلوگیری

عملکرد هیدروکلوئیدها به عنوان امولسیفایر و یا پایدار کننده امولسیون‌های مربوط به نقش آن‌ها در

فعالیت مهار رادیکال DPPH^۵: شکل ۵ نتایج قابلیت فعالیت

مهار رادیکال آزاد DPPH صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن را در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد. همانطور در شکل ۶ مشاهده می‌شود، نمونه فاقد پروتئین، کمترین میزان پروتئین را داشت (۰/۴۱ درصد) که این موضوع موجب کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت به صمغ اولیه گردید. در تمامی غلظت‌ها، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH استاندارد BHT، بالاتر از پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از صمغ بالنگو می‌باشد، اما پلی‌ساکاریدها نیز قدرت مهار خوبی نشان دادند. میزان IC₅₀ صمغ دانه بالنگو، نمونه فاقد پروتئین و BHT به ترتیب برابر است با ۰/۴۸، ۰/۷۵ و ۰/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

صادقی و همکاران (۲۰۱۵)، میزان IC₅₀ عصاره‌های متانولی، آبی و کلروفرمی صمغ بنه^۶ را به ترتیب ۰/۱۲، ۰/۱۸ و ۰/۳۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند (۳۲). کمالی و همکاران (۲۰۱۴)، میزان IC₅₀ عصاره‌های مختلف هگزانی، دی‌کلرومتانی، اتیل استاتی و متانولی اندام هوایی زرین گیاه^۷ را به ترتیب ۶۲/۷، ۴۲/۰۸، ۱/۶۰، ۰/۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اعلام کردند (۱۰). سمواتی و منوچهریزاد (۲۰۱۳)، به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌ساکارید حاصل از برگ پینرک گونه سیلواسترا پرداختند که توانایی جذب رادیکال DPPH در غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام به ۲۵ درصد و در غلظت ۳۰۰ پی‌پی‌ام به ۸۲ درصد رسیده بود (۳۳) و در تحقیق حاضر نیز افزایش غلظت، منجر به افزایش قدرت مهار رادیکال آزاد شد. ارتباط مستقیمی بین توانایی مهار رادیکال آزاد و ترکیب مونوساکاریدی تشکیل دهنده‌ی پلی‌ساکارید وجود دارد. مونوساکاریدها عوامل

از تجمع و به هم پیوستگی ذرات حل شده، جلوگیری از سینرسیس سیستم‌های ژلی حاوی روغن و ممانعت از تجمع قطرات روغن می‌باشد. اینگونه انتظار می‌رود که صمغ‌ها به کندی و در سطح محدودی به مقدار ناچیز جذب سطحی می‌شوند (۳۵). والش^۱ و همکاران همکاران (۲۰۰۸)، تاثیر هیدروکلوئیدهای مختلف (زانتان، گوار، عربی، کارایا، لوبیای افاقیا و مخلوط لوبیای افاقیا و گوار) را بر میزان کف‌زایی محلول سدیم کازئینات حرارت داده نشده و حرارت داده شده (۸۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ دقیقه) در pHهای ۲، ۴ و ۶ مورد بررسی و مقایسه قرار دادند. آنها گزارش نمودند که در pH ۶ سدیم کازئینات حرارت دیده میزان کف بیشتری را تولید و مقدار فروپاشی کف کمتری نسبت به نمونه حرارت ندیده دارد. در بین هیدروکلوئیدها، صمغ گوار و لوبیای افاقیا منجر به افزایش میزان کف‌زایی سدیم کازئینات گردیدند (۳۶). لاوال^۲ و ادیوال^۳ (۲۰۰۶)، خواص کف‌زایی پروتئین‌های تغلیظ شده از لوبیای جک^۴ را مورد مطالعه قرار دادند. آنها مشاهده کردند که با افزایش غلظت پروتئین ظرفیت کف‌زایی و پایداری کف افزایش یافت. با افزایش غلظت پروتئین، تشکیل برهم‌کنش پروتئین-پروتئین قوی‌تر و اسکوزیته را افزایش داده و تشکیل فیلم‌های پروتئینی چسبنده در لایه تماسی را تسهیل می‌بخشید. تشکیل لایه چسبنده سبب افزایش مقاومت به پیوستگی و افزایش اندازه حباب‌ها شد و در نتیجه پایداری کف را افزایش می‌داد. وجود پروتئین‌های بیشتر که با افزایش غلظت پروتئین در فاز مایع افزایش پیدا می‌کنند و سبب افزایش ظرفیت کف‌زایی می‌گردد (۱۲).

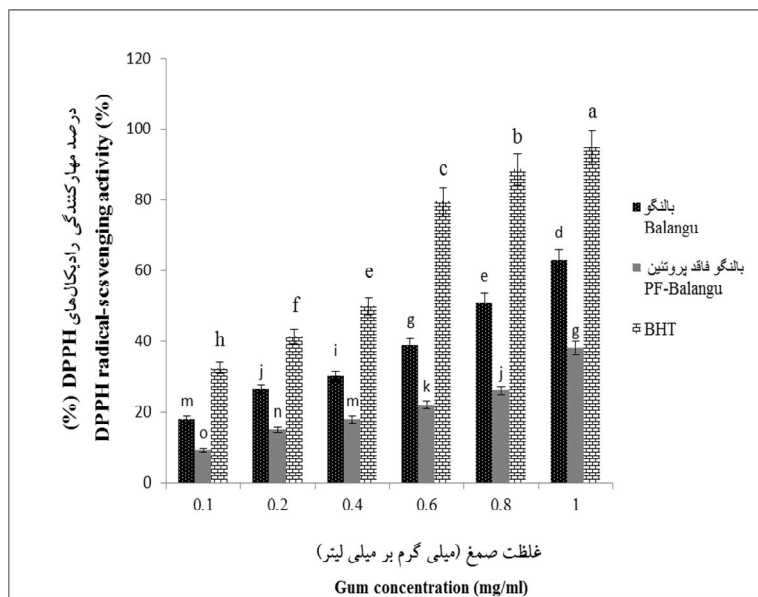
تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

1. Walsh
2. Lawal
3. Adebawale
4. Jack Bean

5. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
6. *Pistacia atlantica gum*
7. *Dracocephalum kotschyi*

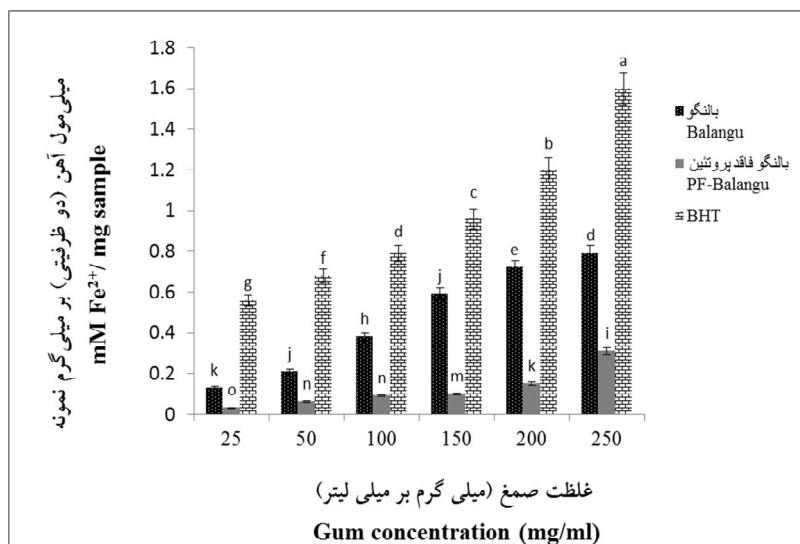
یک ترکیب پایدار باشند (۳۴).

احیاءکننده‌ی پر قدرتی هستند و می‌توانند تامین کننده هیدروژن لازم برای ترکیب با رادیکال آزاد و تشکیل



شکل ۵- درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH در غلظت‌های مختلف صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن
*حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (آزمون دانکن، $P < 0.05$).

Figure 5. DPPH free- radical scavenging activity in different concentrations of Balangu and PF-Balangu gums
*Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at $P \leq 0.05$ by Duncan test.



شکل ۶- قدرت احیا آهن سه ظرفیتی در غلظت‌های مختلف صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن
*حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (آزمون دانکن، $P < 0.05$).

Figure 6. Ferric reduction ability in different concentrations of Balangu and PF-Balangu gums.
*Means in a column followed by the different superscripts are significantly different at $P \leq 0.05$ by Duncan test.

و این نشان‌دهنده خصوصیت آنتی‌اکسیدانی صمغ است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، خصوصیات عملکردی و

قدرت احیاء‌کنندگی: شکل ۶ نتایج قدرت احیاء‌کنندگی صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن را در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد. از این آزمون به منظور پی بردن به توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در احیای یون آهن سه ظرفیتی^۱ به آهن دو ظرفیتی^۲ استفاده می‌شود. یون‌ها در شرایط آزمایش تشکیل کمپلکس می‌دهند. که بسته به ظرفیت احیاء‌کنندگی عصاره‌های مورد بررسی، شدت رنگ حاصله از زرد به درجات مختلفی از رنگ‌های آبی و سبز متمایل می‌شود و توسط طیف سنج نوری در طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود (۹). همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، قدرت احیاء‌کنندگی استاندارد BHT در تمامی غلظت‌ها به شکل معنی‌داری بالاتر از صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین آن بود ($p < 0.05$). فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌ساکاریدها مرتبط با خصوصیات ساختاری آنها از جمله وزن مولکولی، نوع پیوندهای گلیکوزیدی، وجود گروه‌های کربونیل و کربوکسیل، نوع منوساکاریدهای تشکیل‌دهنده و وجود پروتئین‌ها و پپتیدها می‌باشد (۳۸). در تمامی غلظت‌ها، قدرت احیاء‌کنندگی صمغ بالنگو بهتر از نمونه فاقد پروتئین آن ثبت گردید ($p < 0.05$).

مالساومتلوانگی^۳ و همکاران (۲۰۱۴)، قدرت احیاء‌کنندگی پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از صمغ درخت گیلاس را کمتر از استاندارد BHT گزارش نمودند (۱۴) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. با این حال نتیجه این آزمون نشان می‌دهد که صمغ بالنگو خاصیت آنتی‌اکسیدان داشته که باعث احیا یون آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی شده است و می‌تواند به واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال خاتمه دهد

1. Fe³⁺
2. Fe²⁺
3. Malsawmtluangi

نمونه فاقد پروتئین آن کمتر از استاندارد BHT مورد استفاده در آزمون‌ها بود. مقدار IC_{50} صمغ دانه بالنگو و نمونه فاقد پروتئین به ترتیب برابر است با ۰/۴۸ و ۰/۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که در مقایسه با BHT ۰/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد، مقدار کمتری دارا می‌باشند. اما این میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط پلی‌ساکاریدهای صمغ بالنگو رضایت‌بخش است که این امر می‌تواند دلیلی برای استفاده آن به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان طبیعی باشد.

سپاسگزاری

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

منابع

1. Amid, B.T., Mirhosseini, H. 2012. Influence of different purification and drying methods on rheological properties and viscoelastic behaviour of durian seed gum. Carbohydrate Polymers, 90: 452-461.
2. Brummer, Y., Cui, W., Wang, Q. 2003. Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. Food hydrocolloids, 17: 229-236.
3. Brand-Williams, W, Cuvelier M. E, Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 28: 25-30.
4. Dickinson, E., Murray, B. S., Stainsby, G. and Anderson, D. M. 1988. Surface activity and emulsifying behaviour of some Acacia gums. Food Hydrocolloids, 2: 477- 490.
5. Erc, elebi, E., Kara, S. and Ibanoglu, E. 2011. Stability of bitter orange juice-olive oilsalad dressings stabilized with polysaccharides. Journal of Food Science and Engineering, 1, 297.
6. Farhadi, F. 2017. Structural elucidation of a water-soluble polysaccharide isolated from Balangu shirazi

آنتی‌اکسیدانی نمونه فاقد پروتئین صمغ بالنگو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، کاهش میزان پروتئین صمغ توسط آبکافت آنزیمی منجر به کاهش معنی‌دار در فعالیت سطحی و تضعیف خصوصیات امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی صمغ دانه بالنگو شد که اهمیت حضور بخش پروتئینی را در فعالیت سطحی صمغ دانه بالنگو نشان داد. ویژگی‌های عملگری محصول ثابت نمود که می‌توان از صمغ دانه بالنگو بخوبی برای ایجاد ثبات در کف و به عنوان امولسیفایر استفاده نمود. توانایی در مهار رادیکال‌های آزاد که بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی صمغ می‌باشد با دو روش احیای یون آهن سه ظرفیتی و مهار رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت که در هر دو روش، خاصیت آنتی‌اکسیدانی صمغ دانه بالنگو و

(*Lallemantia royleana*) seeds. Food Hydrocolloids, 72: 263-270.

7. Huang, X., Kakuda, Y. and Cui, W. 2001. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. Food Hydrocolloids, 15: 533-542.
8. Jahanbin, K., Moini, S., Gohari, A. R., Emam-Djomeh, Z. and Masid, P. 2012. Isolation, purification and characterization of a new gum from *Acanthophyllum bracteatum* roots. Food Hydrocolloids, 27: 14-21.
9. Janaszewska, A. and Bartosz, G. 2002. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 62 (3): 231-36.
10. Kamali, M., Khosroyar, S., Jalilvand, M.R. 2014. Evaluation of phenolic, flavonoids, anthocyanin Contents and antioxidant Capacities of different extracts of aerial parts of *Dracocephalum kotschyi*. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. 6(3): 627- 635. (In Persian).
11. Kong, F., Zhang, M., Liao, S., Yu, S., Chi, J. and Wei, Z. 2010. Antioxidant activity of polysaccharide-enriched

- fractions extracted from pulp tissue of Litchi Chinensis sonn. *Molecules*, 15: 2152-2165.
12. Lawal, O. S., Adebowale, K. O. 2006. The acylated protein derivatives of *Canavalia ensiformis* (jack bean): A study of functional characteristics, *LWT*, 39: 918-929.
 13. Lee, B.-B., Chan, E.-S., Ravindra, P. and Khan, T. A. 2012. Surface tension of viscous biopolymer solutions measured using the du Nouy ring method and the drop weight methods. *Polymer bulletin*, 69: 471-489.
 14. Malsawmtluangi, C., Thanzami, K., Lahlhenmawia, H., Selvan, V., Palanisamy, S., Kandasamy, R. and Pachuau, L. 2014. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of *Prunus cerasoides* D. Don gum exudates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69: 192–199.
 15. 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.
 16. McClements, D. J. 2004. Food emulsions: principles, practices, and techniques. CRC press.
 17. Naji, S., Razavi, S. and Karazhiyan, H. 2012. Effect of thermal treatments on functional properties of cress seed (*Lepidium sativum*) and xanthan gums: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 28: 75-81.
 18. Naji-Tabasi, S. and Mohebbi, M. 2015. Evaluation of cress seed gum and xanthangum effect on macrostructure properties of gluten-free bread by imageprocessing. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 9: 110–119.
 19. Naji-Tabasi, S., Razavi, S.M.A., Mohebbi, M. and Malaekheh-Nikouei, B. 2016. New studies on basil (*Ocimum bacilicum* L.) seed gum: Part I - Fractionation, physicochemical and surface activity characterization. *Food Hydrocolloids*. 52: 350-358.
 20. Naji-Tabasi, S. and Razavi, S.M.A. 2016. New studies on basil (*Ocimum bacilicum* L.) seed gum: Part II—Emulsifying and foaming characterization. *Carbohydrate Polymers* 149: 140–150.
 21. Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, S. and Gorbani, A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from etnobotany to pharmacology. *Iranian Phamaceutical Research*, 2, 63-79
 22. Osano, J. P., Hosseini-Parvar, S. H., Matia-Merino, L. and Golding, M. 2014. Emulsifying properties of a novel polysaccharide extracted from basil seed (*Ocimum bacilicum* L.): Effect of polysaccharide and protein content. *Food Hydrocolloids*, 37: 40-48.
 23. Osano, J., Matia-Merino, L., Hosseini-Parvar, S., Golding, M. and Goh, K. 2010. Adsorption properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) seed gum. *USM R & D*, 18:113–117.
 24. Osman, A., Osman, M., Hassan, E., Al-Assaf, S., Andres-Brull, M. and Phillips, G. 2011. Characterisation, Fractionation and Emulsification Properties of Acacia Polyacantha Gums.
 25. Prabhanjan, H., Gharia, M. and Srivastava, H. 1990. Guar gum derivatives. II. Foaming properties of hydroxyalkyl derivatives. *Carbohydrate polymers*, 12: 1-7.
 26. Parsafir, Gh. A and Islampour, Gh. 2000. Thermodynamics of solutions and chemical kinetics, Iowa Levine, Eighth Edition, Vol. I.
 27. Rana, V., Rai, P., Tiwary, A. K., Singh, R. S., Kennedy, J. F. and Knill, C. J. 2011. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. *Journal of Carbohydrate Polymers*, 83: 1031–1047.
 28. Razavi, M. and Karazhiyan, H. 2009. Flow properties and thixotropy of selected hydrocolloids: experimental and modelling studies. *Food hydrocolloids*, 23: 908-912.
 29. Razavi, S., Taheri, H. and Quinchia, L. A. 2011. Steady shear flow properties of wild sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum as a function of concentration and

- temperature. Food Hydrocolloids, 25: 451-458.
30. Razavi, S. M. A., Mohammadi Moghaddam, T., Emadzadeh, B., Salehi F. 2012. Dilute solution properties of wild sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum. Food Hydrocolloids, 29, 205-210.
31. Randall, R., Phillips, G. and Williams, P. 1988. The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic. Food Hydrocolloids, 2: 131-140.
32. Sadeghi, G., Valizadeh, C., Azizian Shermeh, A. 2015. Determination of total phenol, total flavonoid and antioxidant activity of *Pistacia atlantica* gum from Saravan area (Sistan and Baluchestan province). Eco- phytochemical journal of medicinal plants. 3(2): 18-27. (In persian).
33. Samavati, V. and Manoochehrizade, A. 2013. Polysaccharide extraction from *Malva sylvestris* and its anti-oxidant activity. International Journal of Biological Macromolecules, 60: 427-436.
34. Sun, Y., Wang, H., Guo, G., Pu, Y. and Yan, B. 2014. The isolation and antioxidant activity of polysaccharides from the marine microalgae *Isochrysis galbana*. Carbohydrate polymers, 113: 22-31
35. Tabatabaee Amid, B., Mirhosseini, H., Poorazarang, H. and Mortazavi, S.A. 2013. Implications of partial conjugation of whey protein isolate to durian seed gum through maillard reactions: foaming properties, water holding capacity and interfacial activity. Molecules, 18: 15110-15125.
36. Walsh, D.J., Russell, K., FitzGerald, R.J. 2008. Stabilisation of sodium caseinate hydrolysate foams. Food research international, 41: 43-52.
37. Xie, Y., Hettiarachchy, N. 1998. Effect of xanthan gum on enhancing the foaming properties of soy protein isolate. Journal of the American Oil Chemists' Society, 75, 729-732.
38. Yang, B., Prasad, K. N., Xie, H., Lin, S., Jiang, Y. 2011. Structural characteristics of oligosaccharides from soy sauce lees and their potential prebiotic effect on lactic acid bacteria. Food Chemistry, 126, 590-594.



EJFPP, Vol. 12 (1): 67-80
<http://ejfpp.gau.ac.ir>



Enzymatic purification of Balangu seed (*Lallemantia royleana*) gum and evaluation of its functional and antioxidant properties

M. Sardarodiyani¹, A. Arianfar^{1*}, A. Mohamadi Sani¹, S. Naji-Tabasi²

¹Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

²Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology Mashhad, Iran

Received: 2018/11/11; Accepted: 2019/03/03

Abstract

Background and objectives: Proteins and polysaccharides are common compounds in many food formulations. They are responsible for some food characteristic, such as texture and controlled release of flavor. They can modify phase stability in colloidal food systems. These biopolymers play an important role in structuration and stabilization of food through their gelling, thickening and surface activity properties. The products of this reaction are new materials that have different functional properties in comparison with reactants. The aim of this study was to investigate the structural, functional and antioxidant properties of protein-free balangu seed (*Lallemantia royleana*) gum.

Materials and methods: Balangu seeds were purchased from a local market in Bojnord. Protein-free Balangu was achieved by protease hydrolysis (by proteinase enzyme K). To inactivate the enzyme, ethanol added at ratio of 3 to 1 on the system and kept for 6 h. Then, polysaccharide was separated and resolubilized in water and the resultant solution was centrifuged at $15,000 \times g$ for 15 min and the supernatant was named as protein-free fraction. The samples were dried in an air forced oven at $38^\circ C$. To evaluate the functional properties of the gum, different parameters such as surface tension (using a Wilhelmy plate technique with a

*Corresponding Author: a_aria_1443@yahoo.com

platinum-iridium plate), emulsifying properties (particle size distribution in emulsion, light microscopy, emulsion stability in storage period and emulsion stability test centrifuges) and foaming properties (foaming capacity and foaming stability). Moreover, the antioxidant activity balangu gum and protein-free balangu were measured by two methods, DPPH free radical scavenging and FRAP assay. Butylated Hydroxy Toluene (BHT) was used as positive control for comparison. A completely randomized design was used for statistical analysis. The data was statically analyzed by Analysis of Variance (ANOVA) and Duncan Multiple Range Test. The P level of <0.05 was considered statistically significant.

Results: The results showed that a decrease in protein content of balangu seed gum by protease enzyme led to significant reduction in surface activity and weakened emulsion and foam stabilization properties of balangu seed gum, which presents the importance of protein in emulsifying and foaming properties of balangu seed. Antioxidant activity of the gum and protein-free fraction in the both methods were less than standard BHT. Protein-free fraction had the lowest protein content which caused a sharp reduction in its antioxidant activity compared to the primary gum.

Conclusion: The functional properties revealed that the balangu seed can be well used as an emulsifier and foam stabilizer.

Keywords: Balangu seed, Proteinase enzyme, Surface tension, Functional characteristics, Antioxidant.