

Effect of Pomegranate Peel Extract on the Foaming Properties of Egg White at Different pH

NEGHAH KARIMI¹, MOHSEN LABBAFI^{*1}, MARYAM SALAMI¹

1. Department of food science and technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University College of agriculture and natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: June 9, 2019- Revised: Nov. 12, 2019- Accepted: Nov. 12, 2019)

ABSTRACT

By adding different amounts of the PPE (0, 0.3, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 and 3 mL) to egg white, the foaming capacity at the optimum concentration of 1 mL of the extract, equivalent to 25.3 mg of poly phenol in samples with the pH of 9.7 and 4.5 was 1166, 1244, and 1579%, and the stability of the foam was 62.5, 75 and 77.6%, respectively. The results show that at acidic pH, the foaming capacity and stability of the egg white were the maximum due to the closeness of the pH of the egg white to the isoelectric pH of ovalbumin in the presence of PPE. Nevertheless, with the addition of phenolic extract to a concentration above optimum, the foaming capacity of the egg white becomes even lower than the foaming capacity of the control sample (no additives), but the increasing trend of foam stability continued, reaching a peak of 81.2%.

Keywords: Egg white, pomegranate peel extract, polyphenol-protein interactions, Foaming capacity

تأثیر عصاره استخراج شده از پوست انار بر ویژگی های کف سفیده تخم مرغ در پی-اچ های مختلف

نگاه کریمی^۱، محسن لبافی^{۲*}، مریم سلامی^۳

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی،

دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۱۹ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۸/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۲۰)

چکیده

با افزودن مقادیر مختلف عصاره (۰، ۰/۳، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی لیتر) به سفیده، قدرت کف کنندگی در غلظت بهینه ۱ میلی لیتر عصاره، معادل ۲۵/۳ میلی گرم پلی فنل در نمونه های با پی-اچ ۹، ۷ و ۴/۵ به ترتیب ۱۱۱۶، ۱۲۴۴ و ۱۵۷۹ درصد و پایداری کف تولیدی نیز ۶۲/۵، ۷۵ و ۷۷/۶ درصد بوده است. نتایج نشان می دهد در pH اسیدی، بدلیل نزدیک شدن پی اچ سفیده به pH ایزوالکتریک اوآلبومین در حضور عصاره، ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف سفیده به بالاترین مقدار رسیده است. با این وجود، با افزودن مقدار عصاره فنلی با بیش از غلظت بهینه، درصد ظرفیت کف کنندگی سفیده تخم مرغ حتی به کم تر از ظرفیت کف کنندگی نمونه کنترل (بدون افزودنی) کاهش یافته اما روند افزایشی پایداری کف ادامه داشته و به حداکثر مقدار ۸۱/۲ درصد نیز می رسد.

واژه های کلیدی: سفیده تخم مرغ؛ عصاره پوست انار، ظرفیت کف کنندگی؛ برهم کنش پروتئین-پلی فنل

مقدمه

فرآورده های گوناگون تخم مرغ مثل سفیده مایع، یخ زده، زرده و پودر تخم مرغ به عنوان مواد تشکیل دهنده در محصولات مختلف، از جمله کیک، انواع سس سالاد، نودل، محصولات قنادی، رول های تخم مرغ پخته شده، املت آماده و فرآورده های تخم مرغ مایع کم چرب استفاده می شوند (McKee, 2000). سفیده، مایع زلال و غلیظی است که فضای بین پوسته و زرده را پر می کند و تقریباً ۶۰ درصد وزن کل تخم مرغ را تشکیل و حاوی ۸۹ درصد آب، ۱۰ درصد پروتئین، کم تر از ۱ درصد کربوهیدرات، ۰/۰۵ درصد خاکستر و مقدار چربی آن تقریباً ناچیز و کمتر از ۰/۰۱ درصد می باشد. پنج پروتئین اصلی سفیده عبارتند از: اوآلبومین، کونالومین، اوموکوئید، اوموسین و لیزوزیم و دیگر پروتئین های فرعی سفیده شامل: اوگلوبولین G2، اوگلوبولین G3، آویدین، اواینهیبیتور، سیستاتین، اوگلیکوپروتئین، اوماکروگلوبولین و اوفلاووپروتئین می باشد. pH سفیده تازه نزدیک به ۴/۷ ولی در طی سه روز ماندگاری در شرایط معمولی به ۹ افزایش می یابد و سپس به مقدار ناچیزی تغییر می کند (Wu & Acero-Lopez, 2011).

یکی از مهم ترین ویژگی های عملکردی سفیده تخم مرغ در صنایع غذایی خاصیت کف کنندگی آن است (Alleoni, 2006). این قابلیت را می توان به ساختار شیمیایی و خواص فیزیکی پروتئین های سفیده نسبت داد. پروتئین های اوآلبومین،

اوموسین و اوگلوبولین قابلیت کف کنندگی زیادی دارند (Damodaran et al., 1998). این پروتئین ها، از نوع کروی هستند و از گروه های سولفیدریل آزاد (SH)، پیوند های دی سولفیدی و گروه های غیر قطبی در فضای درون مولکولی خود برخوردار می باشند.

قابلیت کف کنندگی پروتئین های سفیده ناشی از سرعت نفوذ آنان به سطح مشترک هوا-مایع (Interface) و تشکیل یک لایه بسیار نازک ویسکوالاستیک در اطراف حباب های هوا از طریق برهمکنش بین مولکولی، همراه با ایجاد پیوند های هیدروژنی، الکترواستاتیک و هیدروفوبیک می باشد (Lomakina & Mikova, 2006). روند تشکیل کف توسط پروتئین، که همراه با برخی تغییرات ساختاری مولکول های پروتئین است، شامل مراحل جذب پروتئین در فضای بینابینی هوا-مایع، واسرشته شدن و جهت یابی مجدد پروتئین های جذب شده در فضای بینابینی که عوامل آب گریز را به سمت حباب های هوا و بخش های هیدروفیل را به سمت آب هدایت می کند و در نهایت برهم کنش پروتئین های جذب شده با مولکول های پروتئین همجوار برای تشکیل یک لایه نازک مترکم در اطراف حباب های تشکیل دهنده کف، می باشد. (Phillips et al., 1987; Murray, 2007). بنابراین، به هنگام اعمال نیروهای برشی مکانیکی به سفیده، پروتئین ها در سطح مشترک هوا-مایع، دستخوش واسرشتهگی سطحی و باز شدگی (unfolding) می شوند. با باز شدگی مولکول

اکسیداسیون یون‌های سوپراکساید، رادیکال‌های پراکسید و هیدروکسیل می‌باشد. علاوه بر این پوست انار یکی از منابع غنی تانن‌های هیدرولیز شونده می‌باشد که به عنوان الازی تانن شناخته می‌شوند (Yunfeng et al. 2006). هدف از این پژوهش تعیین مقدار ترکیبات فنلی عصاره استخراجی از پوست انار و استفاده از آن به عنوان بهبود دهنده کف کنندگی، تقویت پایداری کف سفیده تخم مرغ همراه با بررسی برهم کنش‌های مولکولی منجر به تشدید کف کنندگی سفیده تخم مرغ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این طرح، انار از باغ‌های شهرستان شهر رضا در استان اصفهان جمع‌آوری شد. بعد از جدا سازی دانه‌ها، قسمت پوست میوه انار در دمای اتاق با جریان هوای پکنه به طور کامل خشک گردید. پوست خشک شده توسط آسیاب برقی به طور کامل پودر و با الک مش ۴۰ الک شد. سپس برای حفاظت در برابر تاثیر منفی نور و اکسیژن بر تخریب و اکسیداسیون ترکیبات پلی فنلی پودر پوست تهیه شده در ظروف مقاوم به نور و هوا در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

استخراج آبی عصاره فنلی پوست انار

مخلوط عصاره پوست انار، با مخلوط نمودن پودر پوست انار با آب به نسبت ۲۰ به ۱ تهیه شد. بر این اساس ۳/۵ گرم از پودر پوست انار توزین و در ۷۰ میلی لیتر آب مقطر به طور کامل مخلوط گردید. نمونه به کمک هم زن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط شد. سپس نمونه حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ظرفیت ۱۰ درصد، که معادل ۱۰۰ وات می‌باشد، در ماکروویو قرار داده شد. بعد از این مرحله، نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه فرآیند شدند. مایع رویی که حاوی بیشترین ترکیبات استخراجی می‌باشد پس از عبور از کاغذ صافی واتمن جمع‌آوری و میزان کل ترکیبات فنلی محلول و ظرفیت آنتی اکسیدانی آن اندازه‌گیری شد (Ballard et al. 2010).

اندازه‌گیری کل ترکیبات پلی فنل

برای اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات پلی فنل عصاره استخراج شده از پوست انار، روش فولین-سیوکالتو و از تانیک اسید به عنوان ترکیب استاندارد استفاده گردید. مقدار ۰/۲ میلی لیتر از عصاره استخراج شده در بالن حجمی ۱۰ میلی لیتر ریخته و سپس ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتو و ۱ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن افزوده و با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و پس از سپری شدن این مدت، عدد جذب نمونه‌ها در

های پروتئین و در معرض واکنش قرار گیری اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها در سطح مشترک هوا - مایع تجمع و با تشکیل لایه نازک بین فازی مستحکم اطراف حباب‌های هوا علاوه بر ایجاد کف، پایداری و تثبیت کف را به همراه خواهند داشت (Murray, 2007). از دیگر ویژگی پروتئین سفیده، توانایی انجام برهمکنش با ترکیبات زیست‌فعالی همچون پلی فنل‌ها می‌باشد. واکنش پروتئین-پلی فنل می‌تواند با توجه به ماهیت و اندازه مولکول پروتئین منجر به بروز تغییراتی در ساختار دوم و سوم پروتئین و متعاقب آن می‌تواند خواص عملکردی سفیده تخم مرغ از جمله خاصیت کف کنندگی آن را تحت تاثیر قرار دهد (de Freitas & Mateus, 2012).

بمنظور بررسی و مطالعه برهم کنش بین پلی فنل‌ها و پروتئین‌ها، طیف سنجی انتشار فلورسانس به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است. با این تکنیک می‌توان ساختار سوم پروتئین را بررسی کرد. پروتئین‌ها دارای انتشار ذاتی فلورسانس هستند، که عمدتاً به دلیل وجود آمینواسیدهای تریپتوفان، تیروزین و بقایای فنیل آلانین در ساختار آن‌ها می‌باشد. ویژگی طیفی انتشار فلورسانس پروتئین، زمانی که در معرض شرایط گوناگون حلال قرار می‌گیرند، دستخوش تغییر می‌شود. از این رو با بررسی تغییر انتشار فلورسانس می‌توان ماهیت پیوند‌ها و تغییرات ساختار سوم پروتئین را بررسی نمود (Liang et al., 2013; Nataša Poklar Ulrih, 2017).

گروهی از پژوهشگران، تاثیر عصاره سه گونه چای سبز بر خواص کف کنندگی و ژل دهندگی سفیده تخم مرغ را بررسی نمودند. نتایج آنان نشان داد، هر سه عصاره با توجه به نوع ترکیبات و مقدار آن تاثیر همانندی بر کف کنندگی آلبومین داشته‌اند. بیشترین میزان کف کنندگی آلبومین با مقدار ۱ درصد حجمی/وزنی (نمونه کنترل) در بهترین شرایط هم‌زنی، دما و pH کنترل شده برابر با ۲۲۶ درصد و پایداری کف ۳۴ درصد بوده است. در حالی که مخلو ۱ درصد حجمی/وزنی آلبومین به همراه ۰/۴ - ۰/۲۵ درصد حجمی/وزنی عصاره چای سبز، درصد کف کنندگی آن ۸۰۰-۱۱۴۰ درصد و پایداری کف آن ۹۷-۱۰۰ درصد بوده است. همچنین افزودن عصاره بیش از ۰/۵ درصد حجمی/وزنی منجر به کاهش کف کنندگی و پایداری کف گریده است (Wu et al., 2007).

یکی از منابع گیاهی دارای ترکیبات فنلی که حاوی آنتی اکسیدان‌هایی همچون تانن، فنل، فلاونوئید و ویتامین سی می‌باشد، میوه انار است. پوست میوه انار بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشته و عصاره آن به طور قابل توجهی دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به گوشت میوه از لحاظ ممانعت از

(Lomakina & Mikova, 2006).

وزن ۸۰ میلی لیتر / (وزن ۸۰ میلی لیتر کف وزن ۸۰ میلی لیتر سفیده) = (Overrun (%))
 $100 \times$ (کف)

بمنظور تعیین تاثیر مقادیر گوناگون عصاره بر درصد حجیم شوندگی سفیده، ابتدا وزن ۸۰ میلی لیتر سفیده بدون تیمار اندازه گیری، سپس وزن ۸۰ میلی لیتر کف تولید شده در حضور مقادیر مختلف عصاره تعیین و محاسبه گردید. در همه موارد سفیده تخم مرغ، بدون عصاره فنلی پوست انار به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد.

اندازه گیری پایداری و آب اندازی کف سفیده

پایداری نمونه های کف بدست آمده از تیمار های مختلف، بر اساس مقدار مایع خارج شده از کف در طول زمان مشخص با توجه به حجم محلول سفیده تخم مرغ اولیه اندازه گیری گردید. بمنظور محاسبه میزان پایداری، درصد آب اندازی کف ۳۰ دقیقه پس از تولید اندازه گیری گردید (Lomakina & Mikova, 2006; Wu, et al. 2007).

$100 \times$ (حجم سفیده اولیه / (حجم آب اندازی - حجم سفیده اولیه)) = (FS (%))

مشاهده ساختار میکروسکوپی کف سفیده

بمنظور مشاهده پراکنش و مقایسه اندازه حباب های هوایی در کف سفیده تخم مرغ، از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتال برای تصویربرداری استفاده شده است. در این روش مقداری از کف به آرامی روی لام قرار داده و با بزرگنمایی $10 \times$ و با استفاده از نرم افزار Image z تصویر برداری انجام شد. بمنظور آنالیز پراکنش و اندازه حباب های هوایی موجود در نمونه کف های سفیده، تعدادی از عکس های منتخب با کمک نرم افزار Image pro plus مورد بررسی قرار گرفتند.

اندازه گیری کشش سطحی

برای تعیین کشش سطحی نمونه های سفیده معمولی و سفیده های همراه با عصاره پوست انار، از دستگاه اندازه گیری کشش سطحی مدل CMC-4-2، ساخت شرکت نانومتري پژوه ایران مجهز به صفحه پلاتینی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس استفاده شد. برای اندازه گیری کشش سطحی هر نمونه، ابتدا صفحه پلاتینی با آب مقطر و سپس با استون و الکل شستشو داده شد و سپس برای زدایش باقی مانده احتمالی ترکیبات آلی بر روی سطح پلاتین با شعله آبی بدون دود فندک گازی پر فشار، آلودگی زدایی سطحی از پلاتین انجام گردید.

طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز FTIR

بمنظور تعیین و بررسی ساختار دوم مولکول های پروتئین سفیده از روش طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) استفاده

دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. نمونه شاهد شامل ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتو و ۱ میلی لیتر محلول کربنات سدیم اشباع بود که به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شده بود (Ramamoorthy & Bono, 2007).

ارزیابی فعالیت آنتی رادیکالی با استفاده از رادیکال های DPPH

برای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره استخراج شده از پوست انار، محلول DPPH با غلظت ۴ - 10×2 مولار در محلول اتانولی با خلوص ۸۰ درصد تهیه گردید (Brand-Williams et al. 1995). سپس ۰/۱ میلی لیتر از عصاره تهیه شده به ۲/۵ میلی لیتر محلول DPPH افزوده و با شیکر به خوبی مخلوط گردیدند. نمونه کنترل هم حاوی ۰/۱ میلی لیتر حلال (آب) به همراه ۲/۵ میلی لیتر محلول DPPH می باشد. لوله های آزمایش را به مدت یک ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار دادیم. سپس میزان جذب نوری محلول ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر از اتانول استفاده گردید. فعالیت حذف کنندگی رادیکال DPPH توسط عصاره آبی فنلی که شاخص مقدار فعالیت آنتی رادیکالی عصاره است، با فرمول زیر محاسبه شد:

$100 \times$ (جذب کنترل / (جذب نمونه - جذب کنترل)) = درصد مهار رادیکال های آزاد

تنظیم pH نمونه ها

برای تنظیم pH نمونه ها از هیدروکلریک اسید (HCl) ۵ نرمال استفاده گردید.

بررسی ویژگی های کف کنندگی سفیده تخم مرغ

تخم مرغ های مورد نیاز، با نشان تلاونگ از مغازه خریداری و سفیده آنها به دقت جدا گردید. سفیده باید کاملاً عاری از زرده باشد. کف سفیده با استفاده از میکسر آزمایشگاهی با نشان Berjaya و در حداکثر دور دستگاه تولید گردید. خواص کف کنندگی سفیده یا درصد حجیم شوندگی (Overrun) سفیده به عنوان مهمترین شاخص کف کنندگی اندازه گیری شد (Lomakina et al., 1987; Pasban et al., 2014; Wu et al. 2007; Mikova, 2006;). برای بررسی و مقایسه تاثیر مقادیر مختلف عصاره افزودنی بر درصد حجیم شوندگی و پایداری کف بدست آمده از سفیده، مقادیر ۰، ۰/۳، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی لیتر عصاره فنلی پوست انار که هر کدام به ترتیب برابر ۰، ۷/۵۹، ۱۲/۵۶، ۲۵/۳، ۳۷/۹۵، ۵۰/۶، ۶۳/۲۵ و ۷۵/۹ میلی گرم فنل کل معادل با میلی لیتر عصاره مصرفی می باشد به نمونه ها افزوده و به مدت ۲ دقیقه با میکسر آزمایشگاهی زده شد، سپس ویژگی های کف تولید شده بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید

نتایج و بحث

میزان فنل کل اندازه‌گیری شده در عصاره آبی استخراج شده از پوست انار بر اساس اکی والان تانیک اسید، معادل ۵۰۶ mg/g بودر خشک پوست انار می باشد. ظرفیت آنتی اکسیدانی و درصد فعالیت حذف و مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره فنلی پوست انار ۹۲/۶۴ درصد تعیین گردید. همچنین درصد ماده خشک سفیده تخم مرغ مصرفی بین ۱۲ تا ۱۳ درصد، پروتئین ۱۰ درصد و پی -اچ آن ۹ اندازه‌گیری شد. با توجه به تاثیر پی اچ در بر هم کنش پروتئین سفیده با ترکیبات فنلی موجود در عصاره پوست انار، ویژگی های کف حاصل از سفیده تخم مرغ در حضور مقادیر مختلف عصاره فنلی پوست انار در سه pH = ۹، pH = ۷ (pH خنثی) و pH = ۴/۵ (طبیعی سفیده تخم مرغ)، pH = ۷ (pH ایزوالکتریک اوآلبومین) مورد بررسی قرار گرفت. افزوده شدن عصاره پوست انار با محتوای ۷/۵۹ تا ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل به سفیده تخم مرغ با پی اچ متفاوت موجب بهبود و افزایش ظرفیت کف کنندگی سفیده گردید. با توجه به مشخص شدن غلظت بهینه مصرف عصاره، نتایج حداکثر ظرفیت کف کنندگی سفیده با افزودن ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل و در سه پی اچ مختلف در جدول ۱- جهت بررسی، ارائه شده است.

ظرفیت کف کنندگی نمونه کنترل (بدون عصاره فنلی) و با pH = ۹ برابر ۸۲۵ درصد می باشد که با افزودن عصاره فنلی تا غلظت بهینه ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل، میزان ظرفیت کف کنندگی به حداکثر مقدار ۱۱۶۶ درصد افزایش یافته است. پایداری کف نیز با افزودن عصاره فنلی تا غلظت بهینه ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل، ۱۹ درصد افزایش داشته است. با افزایش مقدار عصاره فنلی به بیش از غلظت بهینه و تا مقدار ۷۵/۹ میلی گرم فنل کل، میزان ظرفیت کف کنندگی حتی به کم تر از ظرفیت کف کنندگی نمونه کنترل کاهش یافته اما روند افزایشی پایداری کف ادامه داشته و به حداکثر مقدار ۸۱/۲ درصد نیز رسید.

شد. برای آماده سازی نمونه ها، ابتدا سفیده تخم مرغ بدون عصاره pH مشخص و سپس نمونه سفیده همراه با غلظت بهینه عصاره با همزن آزمایشگاهی تبدیل به کف گردید. سپس کف سفیده تولیدی در دمای ۱۷ درجه سلسیوس منجمد و پس از ۲۴ ساعت در خشک کن سرمایشی ساخت شرکت صنعتی دنا وکیوم مدل FD-5005-BT به پودر خشک شده سرمایشی تبدیل شد. بمنظور بررسی تغییرات ساختار دوم پروتئین سفیده در کف تولیدی حاوی پوست انار در پی اچ های مختلف با دستگاه طیف سنج فوریه مدل Tensor 27 ساخت شرکت Bruker آلمان و در محدوده طیف ۴۰۰-۶۰۰ cm⁻¹ نتایج استخراج گردید.

طیف سنج فلورسانس

برای بررسی تغییرات ساختار سوم پروتئین های سفیده از اسپکتروسکوپی فلورسانس استفاده شد. غلظت نهایی پروتئین هر یک از نمونه ها در حدود ۰/۰۵ mg/mL تنظیم شد (Fei Shen et al., 2014). سفیده بدون عصاره پوست انار (نمونه کنترل) و نمونه همراه با عصاره در pH مختلف بررسی گردید. کف تولید شده در شرایط بهینه میکسر، برای بررسی مورد استفاده قرار گرفت. از اینرو با نگهداری کف در دمای محیط به مدت ۶۰ دقیقه و تبدیل کف به حالت مایع، مقدار ۱ میلی لیتر از مایع را با آب مقطر تا رسیدن به غلظت ۰/۰۵ mg/mL رقیق گردید. سپس با استفاده از دستگاه طیف سنج فلورسانس مدل LS 45 ساخت شرکت P.E آمریکا، محلول رقیق شده با طول موج تحریک nm ۲۸۰ و طول موج نشر nm ۲۹۰-۴۱۰ مورد بررسی طیف سنجی قرار گرفت.

آنالیز آماری

آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و روش One-Way-ANOVA، آزمون Duncan انجام گردید.

جدول ۱. نتایج تاثیر عصاره فنلی پوست انار بر ویژگی های کف سفیده تخم مرغ در پی اچ مختلف

pH=4.5-4.8		pH=7		pH=9		فنل کل (میلی گرم)
FS%	OVERRUN%	FS%	OVERRUN%	FS%	OVERRUN%	
۶۸ ± ۰/۲ ^f	۱۲۵۳ ± ۳ ^e	۶۰ ± ۰ ^e	۱۱۱۵ ± ۳ ^e	۴۳/۵ ± ۰ ^e	۸۲۵ ± ۴/۵ ^g	.
۷۲ ± ۰/۸ ^e	۱۲۷۱/۵ ± ۴ ^d	۶۲/۸ ± ۰/۱ ^e	۱۱۴۱ ± ۲/۵ ^c	۵۵/۸ ± ۰/۵ ^d	۹۹۷ ± ۲/۶ ^e	۷/۵۹
۷۵ ± ۰/۵ ^{de}	۱۳۰۰ ± ۲ ^c	۶۷ ± ۰/۷ ^d	۱۱۸۲ ± ۳/۶ ^b	۵۶/۲ ± ۰/۱ ^d	۱۰۷۶/۶ ± ۳/۵ ^b	۱۲/۵۶
۷۷/۶ ± ۰/۱۵ ^d	۱۵۷۹ ± ۵ ^a	۷۵ ± ۰/۰۹ ^c	۱۳۴۴/۸ ± ۲ ^a	۶۲/۵ ± ۰/۵ ^c	۱۱۶۶ ± ۲/۵ ^a	۲۵/۳
۸۱/۶ ± ۰/۶ ^c	۱۴۲۷/۳ ± ۳/۵ ^b	۷۷/۵ ± ۰/۵ ^{bc}	۱۱۲۸/۴ ± ۴/۵ ^d	۶۵ ± ۰/۵ ^c	۱۰۳۲/۸ ± ۵ ^c	۳۷/۹۵
۸۲ ± ۰/۸ ^c	۱۱۱۰ ± ۲/۵ ^f	۸۰ ± ۰/۰۹ ^c	۱۰۴۳/۷۵ ± ۵ ^f	۶۵/۳ ± ۰/۸ ^c	۱۰۰۹ ± ۴ ^d	۵۰/۶
۸۷/۵ ± ۰/۱ ^b	۱۰۷۵ ± ۵/۵ ^g	۸۷ ± ۰/۳ ^a	۹۹۷ ± ۶ ^g	۷۵/۵ ± ۰/۶ ^b	۹۸۲/۵ ± ۲ ^f	۶۳/۲۵
۹۱ ± ۰/۵ ^a	۱۰۱۲ ± ۱ ^h	۸۹ ± ۰/۵ ^a	۹۹۵/۶ ± ۴ ^g	۸۱/۲ ± ۰/۸ ^a	۸۲۰/۸ ± ۳ ^h	۷۵/۹

در هر ستون میانگین های نوشته شده با حروف مختلف، به شکل معنی داری در سطح اطمینان ۹۵٪ متفاوت می باشند

نمونه کنترل با $pH = 9$ از ۸۲۵ به سطح ۱۲۵۳ درصد افزایش داشته است و نیز ظرفیت حجیم شوندگی نمونه های دارای غلظت بهینه عصاره، از ۱۱۶۶ به ۱۵۷۹ درصد افزایش داشته است. نتایج بررسی پایداری کف های تولید شده در این پژوهش نشان می دهد، کف تولید شده از نمونه کنترل با پی اچ ۹، دارای پایداری ۴۳/۵ درصد بوده اما با کاسته شدن پی اچ تا ۴/۸-۴/۵، پایداری کف دارای افزایشی حدود ۲۵ درصد نسبت به نمونه با پی اچ ۹ بوده است. از سوی دیگر، پایداری کف نمونه های دارای غلظت بهینه عصاره نیز از ۶۲/۵ به ۷۷/۶ درصد افزایش داشته است. بنابراین با اسیدی نمودن پی اچ سفیده و نزدیک شدن پی اچ محیط آن به پی اچ ایزوالکتریک اولبومین، شاهد افزایش چشمگیر ظرفیت کف کنندگی و درصد پایداری کف سفیده می باشیم.

بر اساس یافته های دیگر محققین با کاهش پی اچ و نزدیک شدن آن به پی اچ ایزوالکتریک اولبومین، مولکول های پروتئینی به دلیل کاهش دفع الکترواستاتیک، حلالیت خود را از دست می دهند. بنابر این در این نقطه، دافعه بین مولکولی پروتئین ها کاهش یافته و منجر به افزایش جذب پروتئین در فضای هوا و آب و در نتیجه کف کنندگی بالا و افزایش پایداری کف سفیده می شود (Foegeding et al. 2006; Manach et al. 2004).

مقایسه پایداری کف بدست آمده از نمونه های با درصد های مختلف عصاره فنلی پوست انار در پی اچ های متفاوت، با نمونه شاهد نشان داد بطور متوسط ۳۵ درصد افزایش پایداری در کف ها ایجاد شده است که بیشترین افزایش پایداری، در نمونه های با پی اچ ۹ بوده است و در نمونه های با پی اچ خنثی و اسیدی روند افزایش آهسته تر بوده ولی در مجموع سطح پایداری بیشتری را دارا بوده اند.

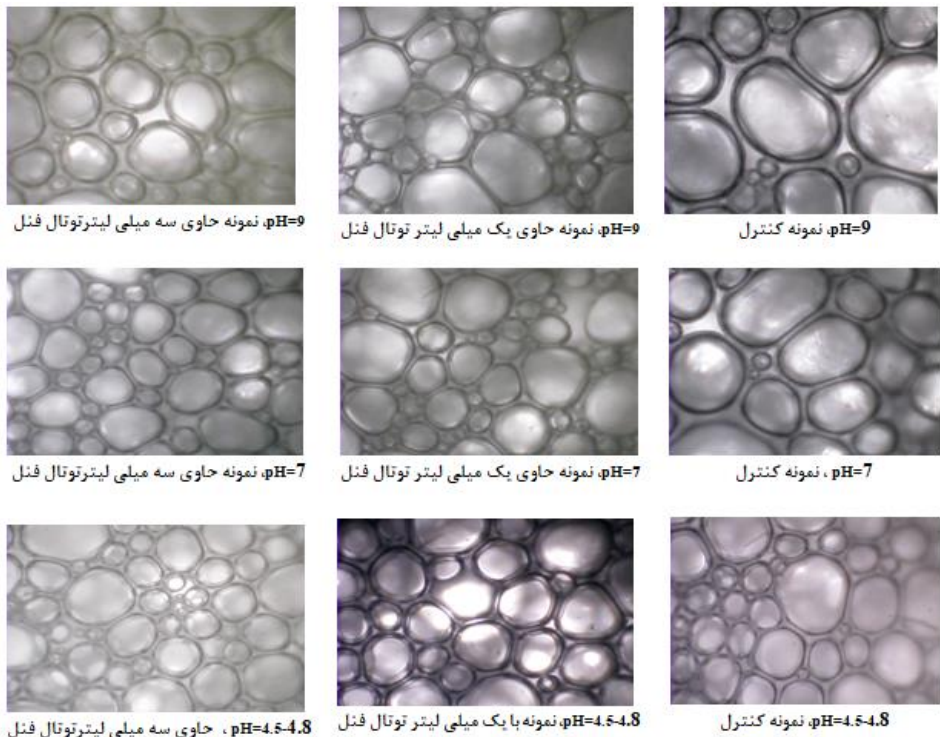
بررسی ریز ساختار کف سفیده حجیم شده

استفاده از نرم افزار Image Proplus امکان اندازه گیری قطر حباب های هوایی تشکیل دهنده کف نمونه های مختلف سفیده تخم مرغ را فراهم می آورد. بر اساس تصاویر شکل-۱ و نتایج ارائه شده در جدول ۲، مقایسه اندازه حباب های هوایی نمونه کنترل و نمونه های حاوی عصاره پوست انار، بخوبی بیانگر این واقعیت است که با افزوده شدن عصاره به سفیده و تولید کف، اندازه حباب ها کوچک تر شده اند. همچنین اندازه حباب ها در نمونه هایی از سفیده که پی اچ آنها اسیدی بوده به سمت کوچکتر شدن قطر حباب ها تغییر یافته است.

در نمونه کنترل با $pH = 7$ میزان ظرفیت کف کنندگی ۱۱۱۵ درصد می باشد که با افزودن عصاره فنلی تا رسیدن به غلظت بهینه ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل، ظرفیت کف کنندگی به مقدار ۱۳۴۴ درصد افزایش یافت. پایداری کف نیز در غلظت بهینه ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل، از ۶۰ به ۷۵ درصد افزایش داشته است. با افزایش عصاره فنلی تا مقدار ۷۵/۹ میلی گرم فنل کل، میزان ظرفیت کف کنندگی کاهش یافته بطوریکه با این غلظت حتی به کمتر از ظرفیت کف کنندگی نمونه کنترل رسید، ولی پایداری کف هم چنان روند افزایشی داشته و به ۸۹ درصد رسیده است. در دامنه پی اچ ۴/۸-۴/۵ ظرفیت کف کنندگی در نمونه کنترل برابر ۱۲۵۳ درصد تعیین گردید اما با افزوده شدن عصاره فنلی تا رسیدن به غلظت بهینه ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل، میزان ظرفیت کف کنندگی به بالاترین مقدار اندازه گیری شده در تمام نمونه ها، ۱۵۷۹ درصد و درصد پایداری نیز از ۶۸ به ۷۷/۶ درصد افزایش یافت. با افزایش مقدار عصاره فنلی به بیش از غلظت بهینه و تا مقدار ۷۵/۹ میلی گرم فنل کل، ظرفیت کف کنندگی کاهش یافته بطوریکه با این غلظت حتی به کمتر از ظرفیت کف کنندگی نمونه کنترل رسید، ولی پایداری کف همانند دیگر نمونه ها ضمن حفظ روند افزایشی، به بالاترین مقدار یعنی ۹۱ درصد رسید.

از آنجایی که پلی فنل ها دارای لیگاند های چندتایی و گروه های عاملی مختلف هستند، می توانند به طور همزمان به کمک گروه های مختلف فنلی با بسیاری از بخش های مولکولی پروتئین پیوند ایجاد نمایند (Le Bourvellec & Renard, 2011)، بر اساس یافته های de Freitas & Mateus (2012) می توان گفت پلی فنول ها در غلظت های کم یک لایه هیدروفوبیک بر سطح پروتئین ایجاد می کنند و از آنجایی که برای تشکیل کف و وارد شدن هوا به ساختار پروتئین سفیده تخم مرغ نیاز به سطوح هیدروفوب می باشد، همانطور که یافته های ما نشان می دهد با افزودن بیشتر عصاره های فنولی تا رسیدن به غلظت بهینه، ظرفیت کف کنندگی افزایش داشته است. تداوم تشکیل پیوند متقابل کمپلکس های پلی فنل با مولکول های پروتئین، منجر به ایجاد پیوند های هیدروفوبی بیشتر و در نتیجه موجب تجمع پروتئین ها می شوند که این پدیده می تواند سبب کاهش ظرفیت کف کنندگی در پروتئین سفیده گردد (de Freitas & Mateus, 2012).

با توجه به یافته ها و مقایسه نتایج در جدول-۱، اسیدی نمودن سفیده تا رسیدن به $pH = 4/5 - 4/8$ ، ظرفیت کف کنندگی



شکل-۱: عکس های میکروسکوپی نمونه کف سفیده تخم مرغ دارای عصاره فنلی پوست انار

جدول-۲: میانگین اندازه حباب های کف نمونه های کنترل و نمونه های دارای عصاره فنولی بر حسب میکرون

نمونه	PH=9	PH=7	PH=4.5-4.8
کنترل	۷۲/۶۴±۰/۰۴	۵۸/۰۹±۰/۰۱	۵۰±۰/۰
نمونه حاوی 1mL توتال فنول	۵۴/۰۲±۰/۰۷	۴۳/۶۵±۰/۰۵	۴۴/۶۵±۰/۰۷
نمونه حاوی 3mL توتال فنول	۴۰/۵۸±۰/۰۴	۲۷/۹۴±۰/۰۱	۲۴/۶۵±۰/۰۲

را داشته اند انتخاب و مورد بررسی قرار گرفته اند، نتایج این بررسی در جدول-۳ نشان می دهد که، مقدار کشش سطحی در نمونه های کنترل با پی اچ ۹، ۷ و ۴/۵ روند کاهشی جزئی داشته است. در حالیکه مقایسه مقادیر کشش سطحی نمونه های حاوی ۳ میلی لیتر عصاره با نمونه های دارای ۱ میلی لیتر عصاره حاکی از افزایش عدد کشش سطحی اندازه گیری شده در نمونه نخستین و در تمام پی اچ های مختلف می باشد.

جدول ۳: تاثیر عصاره فنلی پوست انار بر کشش سطحی سفیده تخم مرغ

pH	نمونه کنترل (mN/m)	نمونه با ۱ میلی لیتر عصاره (mN/m)	نمونه با ۳ میلی لیتر عصاره (mN/m)
۹	۵۴/۴۹ ± ۰/۰۱ ^{ab}	۵۲ ± ۰/۰۳ ^b	۵۸ ± ۰/۰۱ ^a
۷	۵۳/۷۵ ± ۰ ^{ab}	۵۱ ± ۰/۰۵ ^b	۵۶/۱۶ ± ۰/۰۴ ^a
۴/۵-۴/۸	۵۳ ± ۰/۰۱ ^{ab}	۵۰ ± ۰/۰۳ ^b	۵۵ ± ۰/۰۳ ^a

میانگین های نوشته شده با حروف مختلف در هر ردیف، به شکل معنی داری در سطح اطمینان ۹۵٪ متفاوت می باشند

از نتایج ثبت شده تغییرات عدد کشش سطحی در این پژوهش می توان استنباط کرد، کم شدن مقدار کم با pH اسیدی

از سوی دیگر بررسی تاثیر مقدار عصاره بر افزایش پایداری کف ها و ارتباط مستقیم پایداری کف با اندازه حباب های هوایی موجود در آنها، یافته ها نشان می دهد، هم زمان با استفاده بیشتر عصاره از یک میلی لیتر تا سه میلی لیتر اندازه حباب ها در کف ۵۴ میکرون به ۲۴ میکرون کاهش می یابد و بدنبال آن پایداری کف نمونه ها بهبود یافته است.

همچنین با لحاظ نمودن اثر شاخص های فرآیند، نتایج بدست آمده نشان می دهد با توجه به یکنواخت بودن شاخص فرآیند زمان و تعداد دور بر دقیقه میکسر در فرآیند تولید کف در نمونه های با پی اچ اسیدی و حداکثر غلظت عصاره، شاهد پیدایش حباب های یکنواخت، کوچکتر و با پایداری بیشتر کف نمونه ها در مقایسه با دیگر نمونه ها می باشیم.

تعیین کشش سطحی سفیده حاوی عصاره

بمنظور بررسی تاثیر عصاره فنولی پوست انار بر ویژه گی کشش سطحی نمونه های سفیده و تاثیر آن بر ظرفیت کف کنندگی پروتئین سفیده، علاوه بر نمونه کنترل، نمونه هایی که با مقدار عصاره فنلی که حداکثر ظرفیت کف کنندگی و حداکثر پایداری

یک محیط هیدروفوب درونی به یک محیط قطبی تر و در تماس بیشتر با محلول آبی انتقال دهد، تغییر شیفت حداکثر انتشار فلورسانس تریپتوفان به طول موج بلندتر را می توانیم مشاهده نماییم

(Kanakis *et al.*, 2011; Fei Shen *et al.*, 2014; Duy & Fitter, 2006). از این رو نتایج اسپکتروسکوپی فلورسانس نمونه های سفیده تحت تاثیر عصاره پوست انار با نتایج دیگر محققین می تواند همخوانی داشته باشد.

مقایسه حداکثر شدت تابش فلورسانس نمونه ها در شکل-۲ نشان می دهد که بر همکنش پلی فنل های عصاره پوست انار با پروتئین های سفیده، منجر به کاهش شدت تابش فلورسانس تریپتوفان شده است. بطوریکه حداکثر شدت تابش فلورسانس در نمونه حاوی ۱ میلی لیتر عصاره فنلی نسبت به نمونه کنترل به مقدار ۴ واحد و نمونه حاوی ۳ میلی لیتر عصاره نسبت به نمونه کنترل، ۲ واحد تغییر شیفت داشته است (حداکثر شدت تابش فلورسانس در نمونه کنترل در طول موج ۳۳۳ رخ داده است و در نمونه حاوی ۱ میلی لیتر فنل کل در طول موج ۳۳۷ و در نمونه حاوی ۳ میلی لیتر فنل کل در طول موج ۳۳۵ نانومتر رخ داده است). به استناد یافته های دیگران، می توان این انتظار را داشت که با کاسته شدن شدت تابش فلورسانس، بر همکنش پلی فنل های عصاره پوست انار با پروتئین های سفیده تخم مرغ در حین فرآیند هم زدن سفیده با میکسر صورت گرفته باشد (Ramamoorthy & Bono, 2007; Wu *et al.*, 2007; Wenjuan Qu *et al.*, 2018) و بدنبال آن بهبود خاصیت کف کنندگی پروتئین که ناشی از تغییر ساختار سوم پروتئین و تغییر شدت تابش طیف فلور سنس ذاتی در نمونه کف های تولیدی می باشد مشاهده شده است (Nataša Poklar Ulrih, 2017).

در این پژوهش افزودن پلی فنل های پوست انار و تاثیر گذاری آن بر بهبود ویژگی کف کنندگی و پایداری کف، دارای یک غلظت بهینه بوده است بطوری که با افزودن یک میلی لیتر محلول فنلی پوست انار، درصد Overrun و پایداری کف سفیده افزایش یافت، ولی با افزایش حجم عصاره به مقدار ۳ میلی لیتر، میزان Overrun کاهش، اما پایداری کف همچنان روند افزایشی داشته است. براساس نظر de Freitas & Mateus (2012) پلی فنل ها در غلظت های پایین به صورت تک مولکولی و جداگانه با پروتئین ها ارتباط برقرار می کنند، در حالیکه در غلظت های بالاتر از حد بهینه، ممکن است با پروتئین ها به صورت یک توده کننده وارد واکنش گردند.

نمونه و نزدیکی آن به pH ایزوالکتریک پروتئین اوآلبومین پروتئین اصلی سفیده تخم مرغ، همراه با افزایش درصد کف کنندگی و درصد پایداری کف پروتئین های سفیده بوده است. این یافته با گزارش دیگر محققین، (Akio Kato *et al.* (1981) نشان داد که واسرشتگی جزئی پروتئین ها میزان کشش سطحی آن ها را کاهش و آب گریزی سطح پروتئین ها تا جایی که واسرشتگی باعث انعقاد و کواگوله شدن پروتئین ها نشود، را افزایش و به دنبال آن خاصیت کف کنندگی را نیز بهبود می دهد. همچنین، در هر یک از نمونه های با پی-اچ تنظیم شده که مقدار بهینه عصاره نیز به آن افزوده شده بودند، با کاهش میزان کشش سطحی اندازه گیری شده، درصد کف کنندگی نمونه ها افزایش داشته است. با تداوم افزودن عصاره و عبور از غلظت بهینه، شاهد افزایش میزان کشش سطحی و به دنبال آن کم شدن توان کف کنندگی سفیده تخم مرغ می باشیم.

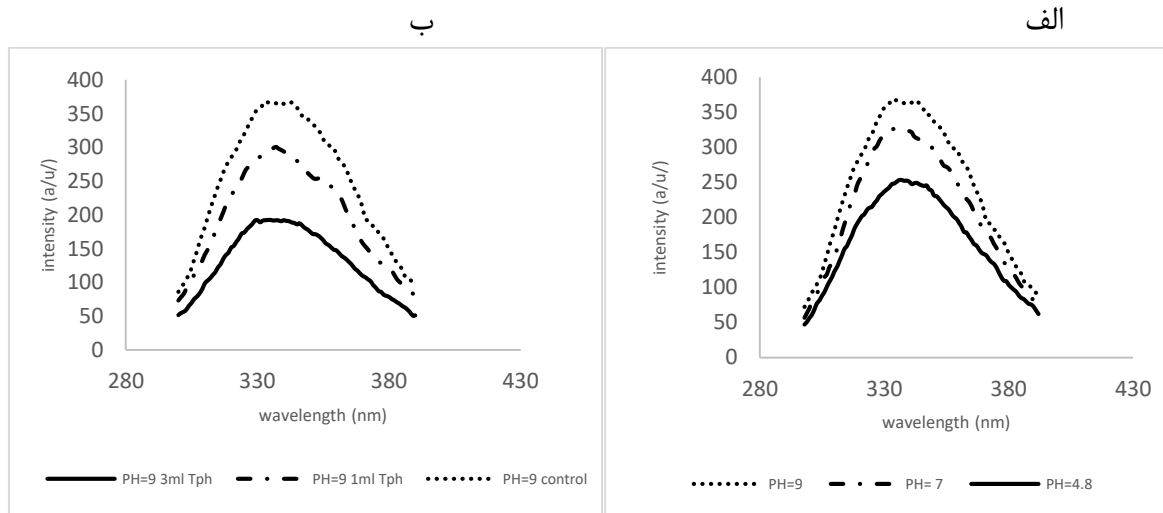
اسپکتروسکوپی فلورسانس

همانطور که در شکل-۲ الف مشاهده می شود با کاهش pH سفیده و نزدیک شدن آن به pH ایزوالکتریک اوآلبومین، میزان شدت تابش فلورسانس ذاتی پروتئین سفیده تخم مرغ کاهش یافته است. بر اساس گزارش پژوهشگران، کاهش شدت تابش فلورسانس نشان می دهد که با تغییر pH، ساختار سوم پروتئین به گونه ای تغییر یافته که تریپتوفان قسمت های داخلی و آبگریز مولکول پروتئین های با ساختار کروی سفیده به بخش های قطبی تر سطح پروتئین تغییر جهت می یابند که نتیجه آن تماس بیشتر با محلول آبی و قطبی تر می باشد. بنابراین می توان پیش بینی نمود که پروتئین دستخوش واسرشتگی شده و ساختار کروی آن بازتر شده است و به دنبال آن آبگریزی سطحی آن افزایش یافته و خاصیت کف کنندگی و پایداری کف پروتئین های سفیده تخم مرغ نیز با کاهش pH و نزدیک شدن آن به نقطه ایزوالکتریک اوآلبومین نیز بهبود یافته است (Long Sheng *et al.*, 2018).

در نمونه های سفیده با pH=۷ نسبت به نمونه سفیده pH=۹ (نمونه کنترل) ۲ واحد تغییر مکان (شیفت) به طول موج بالاتر مشاهده گردید (حداکثر شدت تابش فلورسانس ذاتی در pH=۹ از ۳۳۳ نانو متر به ۳۳۵ نانومتر در نمونه با pH=۷ تغییر داشته است) و نمونه سفیده با pH=۴/۵-۴/۸ نسبت به نمونه کنترل نیز ۴ واحد تغییر شیفت داشته است (حداکثر شدت تابش فلورسانس ذاتی در pH=۹ از ۳۳۳ به ۳۳۷ نانومتر در نمونه با pH=۴/۴-۵/۸ تغییر یافته است). بر طبق نظر دیگر پژوهشگران، چنانچه تغییر در ساختار سوم پروتئین در معرض قرار دادن عامل های جانبی تریپتوفان به حلال را افزایش دهد و تریپتوفان را از

ها در اطراف حباب های هوایی موجب افزایش استحکام ساختاری کف پروتئینی می شوند، پایدار تر شدن کف با بالا رفتن مصرف پلی فنل ها بسیار مرتبط و منطقی می باشد. (Wu et al., 2007).

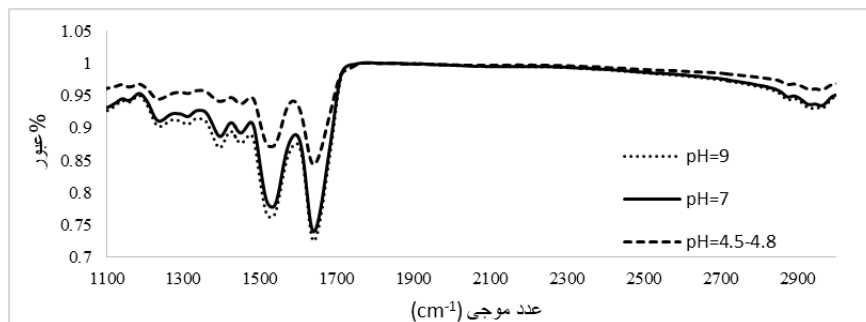
همچنین مقادیر بیش تر از سطح بهینه پلی فنل ها سبب مسدود نمودن سایت های پروتئینی می شوند و کاهش خاصیت کف کنندگی را به دنبال دارند، ولی از آنجایی که حضور پلی فنول



شکل ۲- طیف سنجی فلوروسانس برای بررسی تغییر ساختار سوم پروتئین های سفیده :
الف : نمونه با پی-اچ های مختلف ب: نمونه حاوی مقادیر مختلف عصاره پوست انار

پروتئین رعایت شده می توان نتیجه گیری را بر مبنای ارتفاع باند و شدت پیک ها گزارش نمود (Mine Uygun-Sarıbay et al., 2017). همانطور که در شکل ۳- مشاهده می شود با کاهش pH و نزدیک شدن آن به pH نقطه ایزوالکتریک سفیده تخم مرغ، میزان جذب باند آمید I به تدریج نسبت به نمونه کنترل کاهش یافته و از آنجا که میزان جذب با مقدار، متناسب می باشد می توان بیان کرد که مقدار باند آمید I کاهش یافته است.

بررسی اثر pH بر ساختار دوم پروتئین های سفیده (FTIR)
کمپلکس پروتئینی سفیده، احتمالاً در آزمون FTIR موجب ایجاد همپوشانی دو قله مجاور هم در منحنی بدست آمده میگردد. از این رو در طیف های FTIR به دلیل هم پوشانی پروتئین های موجود در نمونه ها، تغییر شیفت قابل ملاحظه ای مشاهده نشده است. اما از آنجایی که در همه نمونه ها میزان غلظت یکنواخت



شکل ۳- تاثیر تغییر pH بر طیف FTIR نمونه سفیده تخم مرغ

گریز نهان در ساختار درونی پروتئین به سمت سطح تماس بیشتر تغییر موضع داده و در نتیجه اتصال مولکول های هوا با پروتئین سفیده تخم مرغ افزایش و ظرفیت کف کنندگی سفیده بهبود می یابد. میزان طیف جذب باند آمید II و طیف جذب باند آمید III نیز با کاهش pH نمونه ها، کاهش داشته است که نشان می دهد ساختار کوالانته پروتئین، با کاهش pH، میزان گروه های -NH₂

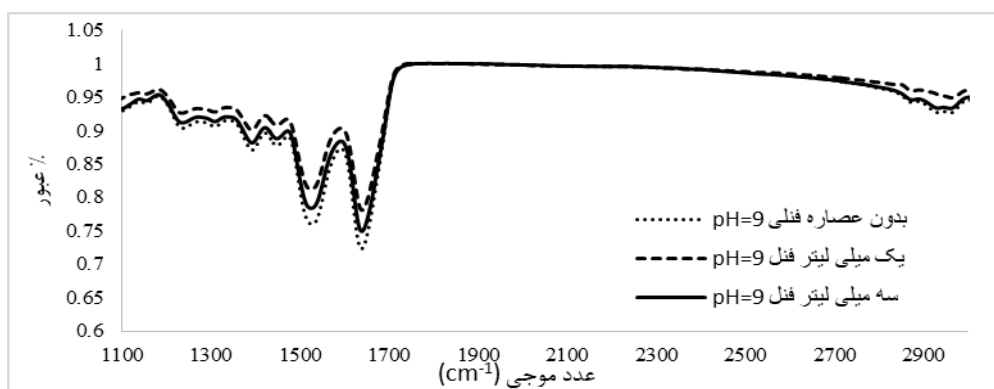
بر اساس یافته های دیگر پژوهشگران از آنجا که قله باند آمید I عمدتاً به دلیل کشش ساختار اصلی C=O است، کاهش آن به معنی از دست رفتن پیوند C=O به علت شکافتگی ساختار و واسرشته شدن ساختار اصلی پروتئین و کاهش ساختار کوالانته می باشد (Ping et al., 2010; Wenjuan Qu et al., 2018; Nataša Poklar Ulrich, 2017). در اثر واسرشتهگی، گروه های آب

+ و در نمونه های حاوی ۳ میلی لیتر عصاره تغییر شیفی معادل ۷/۶۲ + واحد را دنبال داشته است. بنابر گزارش دیگر پژوهشگران، انتقال شیفت به طول موج بالاتر می تواند ناشی از افزایش گروه های OH و به دنبال آن بیشتر شدن ایجاد پیوند های هیدروژنی بین پروتئین سفیده تخم مرغ و پلی فنل ها باشد (Wenjuan Qu, et al, 2018).

آن نیز کاهش یافته و ساختار پروتئین آب گریزتر شده است (Wenjuan et al., 2018).

بررسی اثر عصاره فنلی پوست انار بر ساختار دوم پروتئین های سفیده تخم مرغ در pH=9

منحنی های شکل-۴ و بررسی نتایج تغییر شیفت باندهای هیدروژنی نمونه ها در جدول ۴، نشان می دهد که افزودن ۱ میلی لیتر عصاره پوست انار به سفیده موجب تغییر شیفتی برابر ۵/۱۹



شکل-۴: اثر عصاره فنلی پوست انار بر طیف FTIR پروتئین سفیده تخم مرغ در pH=9

نتیجه گیری

برهم کنش پروتئین سفیده تخم مرغ با ترکیبات فنل عصاره پوست انار امکان تولید نمونه کف هایی با حداکثر افزایش درصد کف کنندگی سفیده در سطح ۱۱۶۶، ۱۳۴۴، و ۱۵۷۹ درصد با پایداری ۶۲، ۷۵ و ۷۷ درصد را فراهم آورده است. اندازه گیری کشش سطحی سفیده همراه با ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل نشان داد تاثیر کاهش کاهندگی عصاره پوست انار بر خاصیت کشش سطحی در حدود ۰/۶۶ mN/m تا ۰/۸۴ mN/m در نمونه های با حداکثر درصد حجیم شوندگی بوده است. همچنین بهترین نمونه کف پایدار تولید شده از سفیده، مربوط به نمونه های پروتئین سفیده تخم مرغ با پی اچ ۴/۸-۴/۵ با پایداری کف ۷۷ درصد و ساختار میکروسکوپی متشکل از میکرو حباب های با قطر متوسط ۲۴ الی ۵۴ میکرون و در حضور غلظت ۲۵/۳ میلی گرم فنل کل موجود در عصاره می باشد.

سپاسگزاری

از استاد محترم جناب آقای دکتر سعید بلالایی، مدیر گروه شیمی دارویی دانشگاه خواجه نصیر، که اینجانب را در تفسیر و توضیح طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز یاری نمودند و همچنین از مسئول محترم آزمایشگاه شیمی رازی گروه علوم و صنایع غذایی، سرکار خانم مهندس صلاحی که در انجام آزمایش ها مرا یاری نمودند، نهایت تقدیر و تشکر را دارم.

de Freitas & Mateus (2012) بر اساس یافته های خود

اظهار نمودند؛ فرآیند کمپلکس شدن پروتئین-پلی فنل، ابتدا توسط آثار آبرگریزی کنترل می شود و به دنبال آن حضور گروه های فنلیک گوناگون احتمالاً باعث تقویت ارتباط از طریق پیوند هیدروژنی می شود، که این پیوند ها بین سایت های گیرنده هیدروژن در پروتئین ها (گروه کربونیل) و گروه های هیدروکسیل (هدا کننده هیدروژن پیوندی) در پلی فنل اتفاق می افتد. همچنین، این یافته ها با نتایج حاصل از طیف سنجی فلورسانس ویافته های Jana Ognjenovic et al. (2014) که اظهار داشتند، با حضور پلی فنل های پوست انار، آمینواسید های تریپتوفان که در محیط هیدروفوب درونی پروتئین های سفیده تخم مرغ قرار دارند، با دسترسی بیشتر به حلال در محیطی قطبی تر قرار می گیرند و احتمالاً باعث افزایش گرایش تریپتوفان برای تشکیل پیوند هیدروژنی با پلی فنل های پوست انار می شود نیز کاملاً مطابقت دارد.

جدول ۴. تغییر شیفت باند های هیدروژنی در طول موج ۳۲۰۰-۳۲۰۰ cm⁻¹

نمونه	عدد موجی (cm⁻¹)	تغییر شیفت پیک (cm⁻¹)
کنترل	۳۲۸۴/۵۲	-
نمونه حاوی (۱ میلی لیتر عصاره فنل)	۳۲۸۹/۷۱	+ ۵/۱۹
نمونه حاوی (۳ میلی لیتر عصاره فنل)	۳۲۹۲/۱۴	+ ۷/۶۲

REFERENCES

- Akio Kato, Noriko Tsutsui, Naotoshi Matsudomi, Kunihiko Kobayashi & Shuryo Nakai (1981) Effects of Partial Denaturation on Surface Properties of Ovalbumin and Lysozyme, *Agricultural and Biological Chemistry*, 45:12, 2755-2760
- Alleoni, A. (2006). Albumen protein and functional properties of gelation and foaming. *Scientia Agricola*, 63(3), 291-298.
- Ballard, T. S., Mallikarjunan, P., Zhou, K. Q., and O'Keefe, S. (2010). Microwave assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry*, 120(4), 1185-1192.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT*, 28, 25-30.
- Damodaran, S., Anand, K., & Razumovsky, L. (1998). Competitive adsorption of egg white proteins at the air-water interface: direct evidence for electrostatic complex formation between lysozyme and other egg proteins at the interface. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 872-876.
- de Freitas, V. Mateus, N. (2012). Protein/polyphenol interactions: past and present contributions. Mechanisms of astringency perception. *Curr Organ Chem* 16:724-46.
- Duy, C., Fitter, j., (2006). How Aggregation and Conformational Scrambling of Unfolded States Govern Fluorescence Emission Spectra. *Biophysical Journal* Volume 90.
- Fei Shen, Fuge Niu, Junhua Li, Yujie Su, Yuntao Liu, Yanjun Yang (2014). Interactions between tea polyphenol and two kinds of typical egg white proteins—ovalbumin and lysozyme: Effect on the gastrointestinal digestion of both proteins in vitro. *Food Research International* 59 (2014) 100-107.
- Foegeding, E., Luck, P., & Davis, J. (2006). Factors determining the physical properties of protein foams. *Food Hydrocolloids*, 20(2-3), 284-292
- Kanakis, C. D., Hasni, I., Bourassa, P., Tarantilis, P. A., & Polissiou, M. G. (2011). Milk b-lactoglobulin complexes with tea polyphenols. *Food Chemistry*, 127, 1046-1055.
- Larrauri J.A., Sanchez-Moreno C., and Saura-Calixto F. 1998. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 2694-2697.
- Le Bourvellec, C., Renard, C. M. G. C. (2011). Interactions between polyphenols and macromolecules: quantification methods and mechanisms. *Crit Rev Food Sci Nutr* 52:213-48.
- Liang, M., Liu, R., Qi, W., Su, R. X., Yu, Y. J., Wang, L. B. and He, Z. M. (2013). Interaction between lysozyme and procyanidin: multilevel structural nature and effect of carbohydrates. *Food Chem* 138:1596-603.
- Lomakina, K., & Mikova, K. (2006). A study of the factors affecting the foaming properties of egg white – a review. *Czech Journal of food Science*, 24(3), 110-118
- Long Sheng, Mengjie Huang, Jing Wang, Qi Xu, H.H.M. Hammad, Meihu Ma (2018). A study of storage impact on ovalbumin structure of chicken egg. *Journal of Food Engineering* 219 (2018) 1-7.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. and Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727-747
- McKee, S. (2000). *Advances in egg research and development*. Auburn University, Technical inform, 1-4, USA.
- Mine Uygun-Sarıbay, Ece Ergun, Yakup Kalaycı & Turhan Köseoğlu (2017). The secondary structure of proteins in liquid, frozen, and dried egg-white samples: Effect of gamma irradiation treatment, *International Journal of Food Properties*, 20:sup2, 1195-1203.
- Murray, B. (2007). Stabilization of bubbles and foams. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 12(4-5), 232-241.
- Nataša Poklar Ulrih (2017) Analytical techniques for the study of polyphenol-protein interactions, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57:10, 2144-2161
- Ognjenovic J., Stojadinovic M., Miloš Milc'ic', Apostolovic D., Vesic, J., Stambolic, I., Atanaskovic, M., Markovic', Simonovic, M., Velickovic, T., C., (2014). Interactions of epigallo-catechin 3-gallate and ovalbumin, the major allergen of egg white. *Food Chemistry* 164 (2014) 36-43.
- Pasban A, Mohebbi M, Pourazarang H, and Varidi M, 2014. Effects of endemic hydrocolloids and xanthan gum on foaming properties of white button mushroom puree studied by cluster analysis: A comparative study. *Journal of Taibah University for Science*, 8:31-38.
- Phillips LG, Haque Z and Kinsella JE, 1987. A method for the measurement foam formation and stability. *Journal of Food Science*, 52: 1074-1077.
- Ping Y. Furlan , Scott, S., Margaret H (2010). FTIR-ATR Study of pH Effects on Egg Albumin Secondary Structure. *Spectroscopy Letters*, 40: 475-482, 2007.
- Ramamoorthy, P. K., and Bono, A. (2007). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. *Journal of Engineering Science and Technology*, 2(1), 70-80
- Ramamoorthy, P. K., Bono, A. (2007). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. *Journal of Engineering Science and Technology*, 2(1), 70-80.
- Wenjuan Qu, Xinxin Zhang, Xiao Han, Zhiping Wang, Ronghai He*, Haile Ma(2018). Structure and functional characteristics of rapeseed protein isolated dextran.

- Wu, J., and Acero-Lopez, A. (2011). Ovotransferrin: Structure, bioactives, and preparation. *Food Research International*. 46: 480-487
- Wu, W., Clifford, M., and Howel, K., N., 2007. The effect of instant green tea on the foaming and rheological properties of egg albumen proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*

- 87:1810–1819 (2007).
- Yunfeng L., Changjiang G., Jijun Y., Jingyu W., Jing X., and Shuang C. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96: 254-260.