

بهینه‌سازی تشکیل و پایداری کف پروتئین نخود کابلی به کمک فراصوت

Optimizing the Formation and Stability of Kabuli Chickpea Protein Foam with Ultrasound Assistance

مینا رفیعی^۱، نفیسه زمین‌دار^{۲*}

۱ - دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۲ - نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

نویسنده مسئول:

➤ پست الکترونیکی: n.zamindar@khuisf.ac.ir

➤ تلفن: 09131046359

➤ دورنگار: 31 35354038

➤ نشانی: اصفهان - خیابان جی شرقی - ارغوانیه - بلوار دانشگاه ۳۹۹۹۸-۸۱۵۵۱

ایمیل نویسندگان:

• مینا رفیعی: mrafiaee.2022@gmail.com

• نفیسه زمین‌دار: n.zamindar@khuisf.ac.ir

Mina Rafiaee¹, Nafiseh Zamindar^{2*},

¹ Master Student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

² Associate Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Corresponding author:

➤ E-mail: n.zamindar@khuisf.ac.ir

➤ Tel: +00989131046359

➤ Fax: +0098 31 35354038

Authors email:

• Mina Rafiaee: mrafiaee.2022@gmail.com

• Nafiseh Zamindar: n.zamindar@khuisf.ac.ir

بهینه‌سازی تشکیل و پایداری کف پروتئین نخود کابلی به کمک فراصوت

چکیده

33 اخیراً به دلیل تامین نیاز غذا از منابع پایدارتر استفاده از پروتئین‌های گیاهی برای جایگزینی پروتئین‌های به دست آمده از منابع حیوانی افزایش
 34 یافته است. نخود سومین حبوبات پررشد در سطح جهان با محتوای پروتئین نسبتاً بالا به عنوان منبع عالی پروتئین در نظر گرفته می‌شود. یکی
 35 از جنبه‌های مهم در تولید مواد پروتئینی گیاهی با کیفیت بالا برای استفاده در فرمولاسیون غذایی، شناسایی یک فرآیند استخراج مناسب و
 36 جدید است. در پژوهش حاضر از روش سطح پاسخ، طرح مرکب مرکزی و نرم افزار Design Expert، برای بررسی اثر متغیرهای زمان حمام
 37 فراصوت (6-18 دقیقه)، دمای حمام فراصوت (20-40 درجه سانتی گراد)، زمان سانتریفوژ (20-60 دقیقه) و pH یزوالکتریک (4-5) بر
 38 ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف در 30، 60 و 90 دقیقه نخود استفاده شد. تعداد اجراها مطابق پیشنهاد طرح، 39 اجرا با 7 تکرار در
 39 نقطه مرکزی و دو تکرار در نقاط محوری بود. نتایج نشان داد که مدل آماری درجه دوم با دقت بالایی به منظور پیش‌بینی متغیرهای وابسته،
 40 قابل استفاده بود ($p \leq 0.0001$)؛ تغییرات زمان فراصوت تاثیر معنی‌داری بر ظرفیت تشکیل کف و پایداری کف (60 دقیقه) داشت ($P \leq 0.05$)؛
 41 تغییرات دمای فراصوت تاثیر معنی‌داری بر ظرفیت تشکیل کف داشت ($P \leq 0.05$)؛ تغییرات زمان سانتریفوژ تاثیر معنی‌داری بر ظرفیت تشکیل
 42 کف، پایداری کف در 30، 60 و 90 دقیقه داشت ($P \leq 0.05$)؛ تغییرات pH یزوالکتریک تاثیر معنی‌داری بر پایداری کف در 60 و 90
 43 دقیقه داشت ($P \leq 0.05$). نتایج بدست آمده نشان داد، بهینه ظرفیت تشکیل کف و پایداری آن، در زمان فراصوت 11/967 دقیقه، دمای
 44 فراصوت 20 درجه سانتی گراد، زمان سانتریفوژ 20 دقیقه و pH یزوالکتریک 4/442، با آزمایش‌های انجام شده همخوانی مناسبی داشت ($P \leq 0.05$).

46 **کلمات کلیدی:** استخراج پروتئین به کمک فراصوت، ظرفیت تشکیل کف، پایداری کف، پروتئین نخود

1-مقدمه

49 با ظهور غذاهای گیاهی، استفاده همه جانبه از پروتئین گیاهی به تدریج وارد میدان دید افراد شده است (1). پروتئین‌های مشتق شده از گیاه
 50 برای اینکه جایگزین‌های مناسبی برای پروتئین‌های حیوانی باشند، باید خواص عملکردی مورد نیاز را از خود نشان دهند. علاوه بر این، باید
 51 پروفایل‌های تغذیه‌ای خوبی داشته باشند، حساسیت زائی نشان ندهند، فراوان باشند و مقرون به صرفه باشند (2).

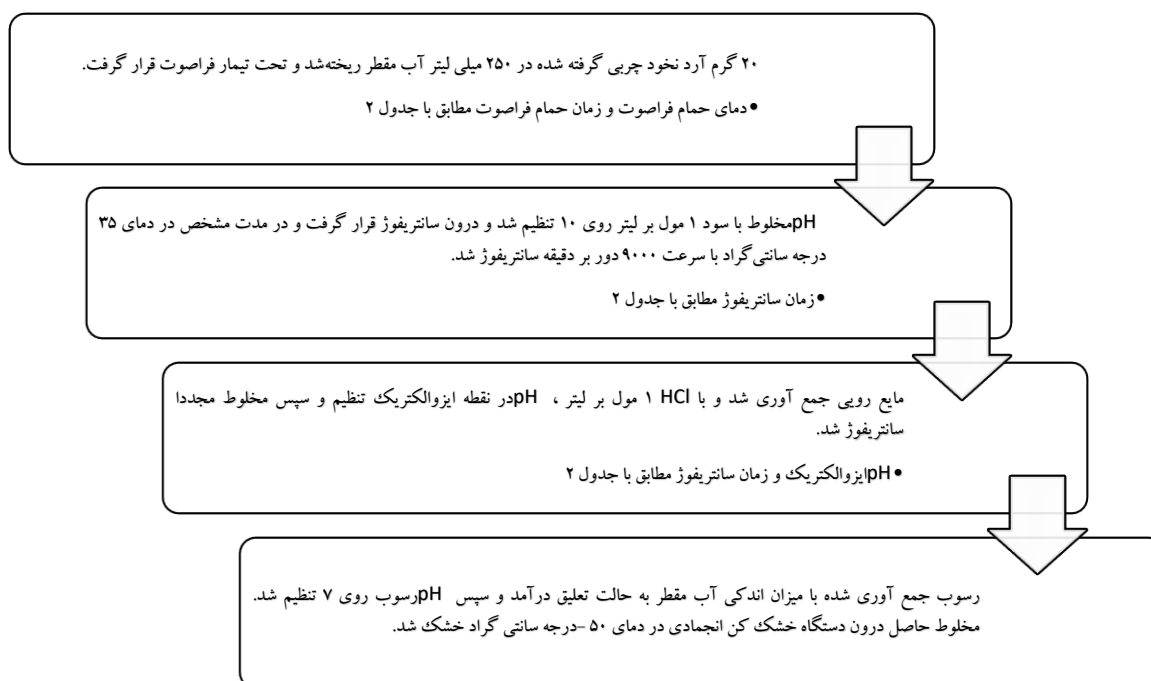
52 نخود سومین حبوبات پر رشد در سطح جهان است با محتوای پروتئین نسبتاً بالا و به عنوان منبع عالی پروتئین در نظر گرفته می‌شود (3).
 53 همچنین نخود به طور گسترده رشد می‌کند، مغذی است و برای سال‌ها است که استفاده می‌شود. و همین‌طور منبع عالی تولید پروتئین است و
 54 یکی از منابع غذایی سالم محسوب می‌شود (4).

55 یکی از جنبه‌های مهم در تولید مواد پروتئینی گیاهی با کیفیت بالا برای استفاده در برنامه‌های غذایی، شناسایی یک فرآیند استخراج مناسب
 56 است. چندین فناوری برای افزایش بازده استخراج، بهبود خلوص، حفظ عملکرد پروتئین و کاهش مدت زمان فرآیند استخراج قلیایی، از
 57 جمله روش‌های اولتراسوند، مایکروویو، آنزیمی و همگن‌سازی فشار بالا در حال توسعه هستند. این فناوری‌ها را می‌توان برای تسهیل درهم
 58 ریختن دیواره‌های سلولی گیاه، حذف پروتئین‌های داخل سلولی و جداسازی پروتئین‌ها از پلی‌ساکاریدها استفاده کرد (2). فناوری فراصوت
 59 یک فناوری نوآورانه زیست محیطی را به منبع پروتئین‌های پایدار مشتق شده از گیاه پیوند می‌دهد. فراصوت یک فناوری جدید، سبز و
 60 سازگار با محیط زیست است که به سرعت در حال توسعه است، که برای افزایش بهبود خواص فیزیکوشیمیایی پروتئین مناسب است (5).

- 61 روش‌های مختلفی برای جداسازی پروتئین‌های نخود ارزیابی شده‌است. کاربردی‌ترین روش برای به دست آوردن ایزوله با خلوص پروتئین
- 62 بالاتر استخراج قلیایی و به دنبال آن رسوب ایزوالکتریک است (6).
- 63 کف از گاز (معمولاً هوا)، مایع (معمولاً آب) و یک ماده فعال سطحی (پروتئین)، که ویسکوزیته بالا، سطح بزرگ، انرژی سطح زیاد و چگالی
- 64 کم را نشان می‌دهد تشکیل می‌شود. پتانسیل تشکیل کف پروتئین بر اساس ظرفیت تشکیل کف¹ که بیانگر مقدار اولیه از فوم تولید شده پس
- 65 از هم زدن است، ارزیابی می‌شود و پایداری کف² که نشان دهنده مقدار کف است که پس از یک زمان خاص حفظ می‌شود. تعدادی از
- 66 پروتئین‌ها این پتانسیل را دارند که به عنوان سورفکتانت عمل کنند که حد واسط کف را با کاهش کشش سطحی تثبیت کنند. FC و FS به
- 67 پایداری سطحی بستگی دارد و افزایش پروتئین‌های آبگریز و جرم مولکولی باعث افزایش پایداری سطحی می‌شود که منجر به افزایش
- 68 احتباس حباب‌های هوا در سیستم تعلیق و کاهش نرخ ادغام می‌شود. علاوه بر پروتئین، اجزای دیگری مانند کربوهیدرات‌های موجود در
- 69 آردها نیز FC را تعیین می‌کنند. خواص کف کردن نیز تحت تأثیر عوامل بیرونی مختلف مانند pH، قدرت یونی و دما قرار می‌گیرد. فیلم
- 70 سطحی باید محکم باشد و نباید اجازه انتشار هوای محبوس شده را بدهد (یعنی باید تقریباً غیر قابل نفوذ باشد) تا کف قوی و پایدار تشکیل
- 71 شود. حبابات مختلف دارای ظرفیت کف و پایداری متفاوتی هستند. محققان گزارش کردند حلالیت پروتئین و ظرفیت کف کردن در
- 72 ایزوله‌های پروتئینی لویا چشم بلبل بالتر از پروتئین عدس بود (7). رضایی و زمین‌دار (8)، ظرفیت تشکیل کف و پایداری آن را بر روی
- 73 پروتئین استخراج شده از نخود کابلی با استفاده از استخراج قلیایی و رسوب ایزوالکتریک مورد بررسی قرار دادند. با توجه به نتایج بدست
- 74 آمده pH قلیایی تأثیر معنی‌داری بر ظرفیت تشکیل کف و پایداری آن داشت ($p < 0.05$).
- 75 با توجه به اهمیت روزافزون پروتئین‌های گیاهی در صنایع غذایی مدرن، ما معتقدیم که این بررسی اطلاعات ارزشمندی را ارائه می‌کند تا
- 76 پروتئین‌های گیاهی با خواص عملکردی بالاتر توسعه یابند و در نتیجه انتقال به یک رژیم غذایی انسانی پایدارتر و اخلاقی‌تر را تسهیل می‌کند.
- 77 در این پژوهش قصد داریم با توجه به غنی بودن و در دسترس بودن نخود و همچنین استفاده از روش‌های جدید استخراج، با استفاده از روش
- 78 سطح پاسخ، پروتئین نخود را با استفاده از روش استخراج قلیایی با کمک روش فراصوت استخراج و خاصیت کف و پایداری آن را تحت
- 79 شرایط مختلف بهینه سازی کنیم.
- 80
- 81 **2- مواد و روش‌ها**
- 82 در این پژوهش، دانه نخود کابلی رقم آنا از سازمان جهاد کشاورزی ایران تهیه شد. نخود تهیه شده با آسیاب خانگی به صورت آرد در آمده
- 83 و از الک با مش 40 عبور داده شد و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (8). جهت حذف چربی‌ها، ترکیبات فنلیک و جلوگیری از
- 84 اکسیداسیون، آرد بدست آمده از نخود، چربی زدائی با روش سرد انجام شد (9، 10).
- 85 برای بدست آوردن پروتئین نخود جهت اندازه گیری کف و پایداری آن براساس روش شرح داده شده در جدول 2 و شکل 1 عمل کردیم (8،
- 86 11، 12):

¹ FC

² FS



شکل ۱- فلوچارت استخراج پروتئین نخود به منظور ارزیابی خواص عملکردی کف و پایداری آن

2-1- اندازه گیری کف و پایداری آن

جهت اندازه گیری ظرفیت تشکیل کف 25 میلی گرم پودر پروتئین با 25 میلی لیتر آب مقطر به مدت 1 دقیقه با هموژنایزر اولتراتورکس هموژن شد. ظرفیت کف کردن با اندازه گیری حجم کف تشکیل شده در لحظه صفر برحسب میلی لیتر و پایداری کف با اندازه گیری حجم کف در 30، 60 و 90 دقیقه پس از تشکیل کف تعیین شد (12).

2-2- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش از روش سطح پاسخ، طرح مرکب مرکزی و نرم افزار Design Expert، اثر متغیرهای زمان حمام فراصوت (6-18 دقیقه)، دمای حمام فراصوت (20-40 درجه سانتی گراد)، زمان سانتریفوژ (20-60 دقیقه) و pH ایزوالکتریک (4-5) بر ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف در 30، 60 و 90 دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. تعداد اجراها مطابق پیشنهاد طرح، 39 اجرا با 7 تکرار در نقطه مرکزی و دو تکرار در نقاط محوری بود. طبق پیش بینی نرم افزار پس از تعیین بهترین شرایط، محصول با شرایط پیش بینی شده تولید شد و مورد آزمون قرار گرفت. همچنین خواص فیزیکوشیمیایی بهینه تولید شده به وسیله آزمون T-Student در سطح معنی داری 0.05 مورد مقایسه قرار خواهد گرفت. درصد خطا مقادیر پیش بینی شده و مقادیر بدست آمده مطابق رابطه 1 بدست آمد.

$$\text{درصد خطا} = \left| \frac{\text{مقدار پیشنهادی} - \text{مقدار واقعی}}{\text{مقدار واقعی}} \right| * 100 \quad (1)$$

جدول 1- مقادیر واقعی و کددار متغیرهای مستقل برای طراحی طرح آزمایش

میانگین	حد بالا کد	حد پایین کد	بالاترین مقدار	پایین ترین مقدار	واحد	نام	نماد
---------	------------	-------------	----------------	------------------	------	-----	------

A	زمان فراصوت	دقیقه	6.00	18.00	-1 ↔ 6.00	+1 ↔ 18.00	12.00
B	دمای فراصوت	°C	20.00	40.00	-1 ↔ 20.00	+1 ↔ 40.00	30.00
C	زمان سانتریفوژ	دقیقه	20.00	60.00	-1 ↔ 20.00	+1 ↔ 60.00	40.00
D	pH ایزو الکتریک		4.00	5.00	-1 ↔ 4.00	+1 ↔ 5.00	4.50

103

104

3-نتایج و بحث

105

106 بهینه‌سازی پروتئین نخود به منظور بررسی خواص عملکردی کف با استفاده از روش سطح پاسخ، حاصل از ترکیب چهار متغیر مستقل، زمان
 107 حمام فراصوت (18-6 دقیقه)، دما حمام فراصوت (20-40 درجه سانتی گراد)، زمان سانتریفوژ (20-60 دقیقه) و pH ایزوالکتریک (4-5)
 108 مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بدست آمده از متغیرهای مستقل و وابسته در تیمارهای مختلف در جدول 2 آورده شده‌است.

109

جدول 2-مقادیر متغیرهای مستقل و وابسته در تیمارهای مختلف

Run شماره تیمار	A: Ultrasound Time (min) زمان فراصوت	B: Ultrasound Temperature (°C) دمای فراصوت	C: Centrifuge Time (min) زمان سانتریفوژ	D:Isoelectric pH ایزو الکتریک pH	Foaming Capacity (ml) ظرفیت تشکیل کف	Foam Stability(30 min) (ml) پایداری کف در 30 دقیقه	Foam Stability(60 min) (ml) پایداری کف در 60 دقیقه	Foam Stability(90 min) (ml) پایداری کف در 90 دقیقه
1	12	40	40	4.5	60	58	48	40
2	12	20	40	4.5	90	56	46	42
3	6	40	20	5	56	44	34	30
4	12	30	40	4.5	70	54	44	42
5	18	20	20	5	80	36	36	34
6	6	40	20	4	40	40	38	36
7	6	40	60	4	40	36	36	34
8	12	30	40	4.5	70	54	44	42
9	12	30	40	4	48	44	40	34
10	12	30	20	4.5	74	60	50	46
11	18	20	60	5	48	36	36	32
12	6	20	20	4	58	38	38	38
13	6	30	40	4.5	50	40	38	38
14	6	30	40	4.5	50	38	34	34
15	12	30	40	5	48	42	38	36
16	18	30	40	4.5	60	38	38	38
17	12	30	40	5	48	42	38	36
18	6	20	20	5	60	34	34	34
19	18	40	20	5	80	50	40	32
20	18	20	20	4	76	38	38	36
21	12	30	40	4.5	70	54	46	42
22	12	30	40	4.5	70	54	46	42
23	12	30	60	4.5	58	56	44	40
24	12	30	20	4.5	74	60	52	46
25	12	30	60	4.5	56	56	46	40

26	12	40	40	4.5	80	50	48	40
27	12	30	40	4.5	70	54	44	40
28	12	30	40	4	48	42	40	34
29	6	20	60	5	50	38	36	32
30	12	30	40	4.5	70	52	42	40
31	6	40	60	5	42	36	34	30
32	12	20	40	4.5	90	56	46	40
33	18	30	40	4.5	60	38	38	34
34	18	40	20	4	60	44	40	34
35	18	40	60	5	38	38	38	34
36	18	20	60	4	60	44	38	32
37	6	20	60	4	66	48	40	34
38	12	30	40	4.5	70	54	44	40
39	18	40	60	4	40	36	36	34

110

3-1- ظرفیت تشکیل کف پروتئین نخود (میلی لیتر)

111

وقتی محلول با سرعت بالا همگن می شود، مقدار قابل توجهی رابط آب و هوا تشکیل می شود، که کف نامیده می شود (11). جدول (3) نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی ظرفیت تشکیل کف پروتئین نخود در مورد مدل کامل درجه دوم با آثار متقابل نشان می دهد، که تاثیر مدل معنی دار است ($p \leq 0/0001$)؛ همچنین متغیرهای مستقل زمان فراصوت، دما فراصوت و زمان سانتریفوژ معنی دار بود ($p \leq 0/0001$). با توجه به نتایج بدست آمده اثر متقابل زمان فراصوت $\times$ زمان سانتریفوژ، pH ایزوالکتریک $\times$ دما فراصوت و زمان سانتریفوژ $\times$ pH ایزوالکتریک معنی دار بود ($p \leq 0/05$). با توجه به شکل (2) با افزایش زمان فراصوت، ظرفیت تشکیل کف افزایش می یابد؛ همچنین افزایش دمای فراصوت و زمان سانتریفوژ، ظرفیت تشکیل کف کاهش می یابد. با توجه به شکل (3) بیشترین ظرفیت تشکیل کف در زمان فراصوت 15-18 دقیقه، دمای فراصوت 20-25 درجه سانتی گراد، زمان سانتریفوژ 20-30 دقیقه و pH ایزوالکتریک 4/4 تا 4/6 بدست آمد. همسو با نتایج بدست آمده وانگ و همکاران (11) بیان کردند با افزایش زمان فراصوت، میزان ظرفیت تشکیل کف افزایش یافت؛ اثر کاویتاسیون فراصوت می تواند درجه تجمع ایزوله پروتئینی نخود را کاهش دهد و در نتیجه انعطاف پذیری پروتئین افزایش دهد و منجر به جذب آسان تر ایزوله پروتئینی نخود در حد واسط هوا و آب می شود. همچنین افزایش آبگریزی سطح و کاهش بار سطحی خالص برای بهبود توانایی کف کردن مفید است. نتایج بدست آمده با پژوهش رضایی و زمین دار (8) مطابقت نداشت. طبق آن پژوهش ظرفیت تشکیل کف پروتئین نخود در استخراج قلبایی بدون تیمار فراصوت با افزایش زمان سانتریفوژ افزایش یافت که این موضوع می تواند در کاهش زمان فرایند بدست آوردن پودر پروتئین به منظور خواص کف کنندگی موثر باشد.

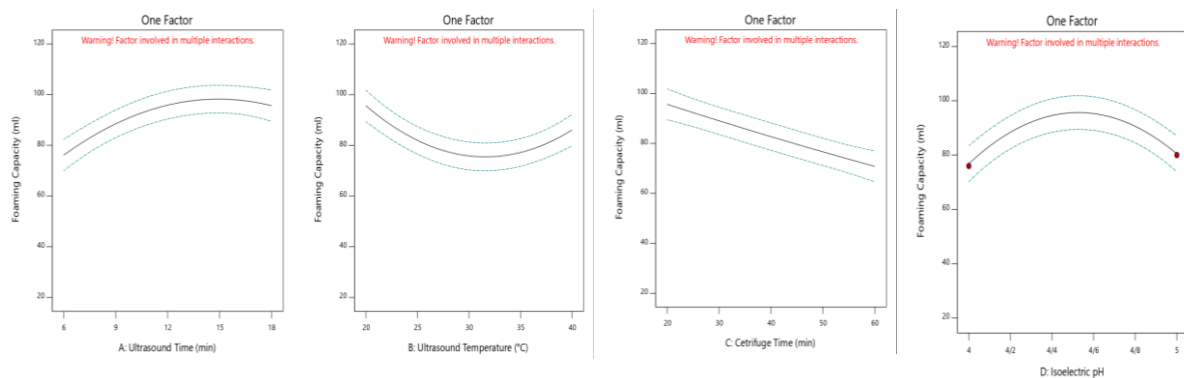
124

جدول 3. آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر ظرفیت تشکیل کف پروتئین نخود

125

Source منبع	Sum of Squares جمع مربعات	df درجه آزادی	Mean Square میانگین مربعات	F- value	p- value	
Model مدل	7026.16	14	501.87	30.98	< 0.0001	Significant معنی دار
A-Ultrasound Time زمان فراصوت	405.00	1	405.00	25.00	< 0.0001	

B-Ultrasound Temperature				1008.20	1	1008.20	62.23	<	not significant غیر معنی دار
دمای فراصوت								0.0001	
C-Centrifuge Time				1280.00	1	1280.00	79.01	<	
زمان سانتریفوژ								0.0001	
D-Isoelectric pH				9.80	1	9.80	0.6049	0.4443	
ایزوالکتریک pH									
AB				6.25	1	6.25	0.3858	0.5404	
AC				552.25	1	552.25	34.09	<	
								0.0001	
AD				2.25	1	2.25	0.1389	0.7127	
BC				42.25	1	42.25	2.61	0.1194	
BD				210.25	1	210.25	12.98	0.0014	
CD				306.25	1	306.25	18.90	0.0002	
A ²				506.09	1	506.09	31.24	<	
								0.0001	
B ²				1146.67	1	1146.67	70.78	<	
								0.0001	
C ²				1.38	1	1.38	0.0851	0.7730	
D ²				1465.12	1	1465.12	90.44	<	
								0.0001	
Residual				388.81	24	16.20			
باقی مانده									
Lack of Fit				186.81	10	18.68	1.29	0.3201	
عدم برازش									
Pure Error				202.00	14	14.43			
خطای خالص									
Cor Total				7414.97	38				
Std. Dev.	4.02	R ²	0.9476						
انحراف									
معیار									
Mean	60.97	Adjusted	0.9170						
میانگین		R ²							
C.V.	6.60	Predicted	0.8895						
%		R ²							
ضریب									
تغییرات									
Adeq				20.5663					
Precision									



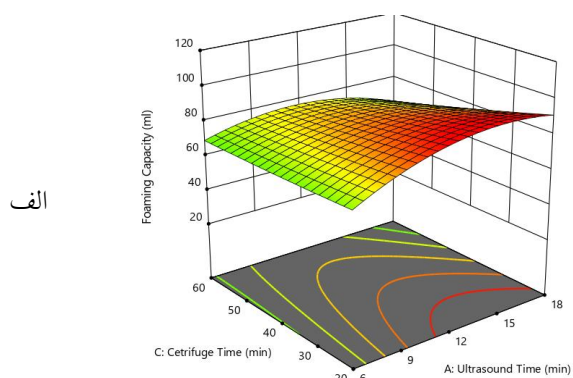
الف

ب

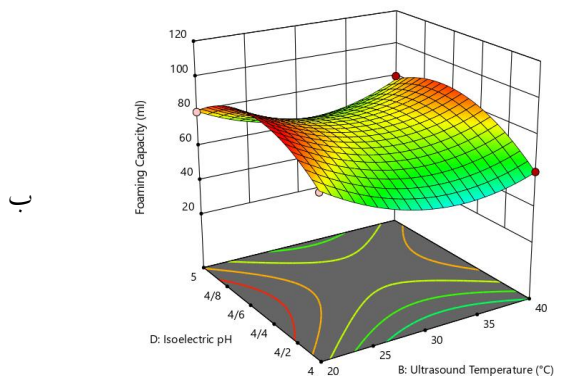
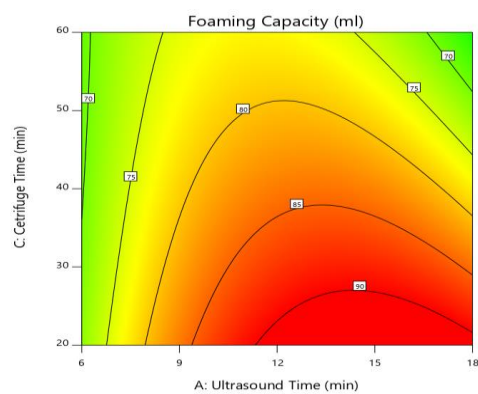
ج

د

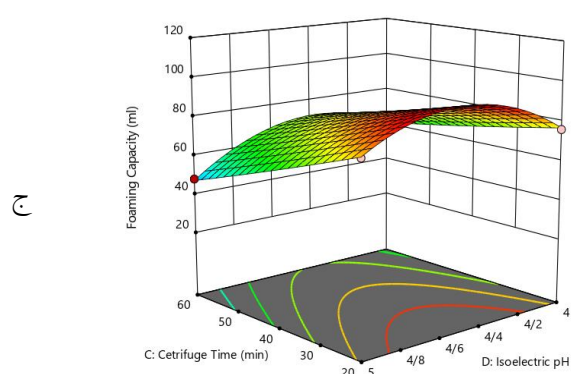
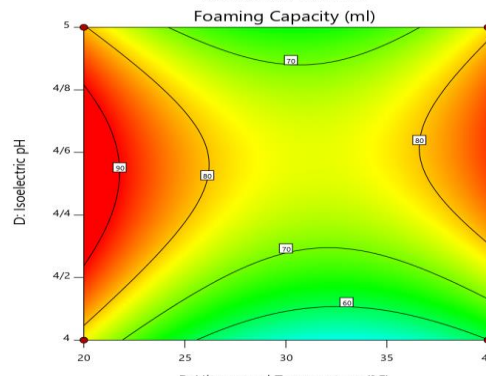
127 شکل 2- اثر زمان فراصوت (الف)، دمای فراصوت (ب)، زمان سانتریفوژ (ج) و pH ایزوالکتریک (د) بر ظرفیت تشکیل کف پروتئین نخود



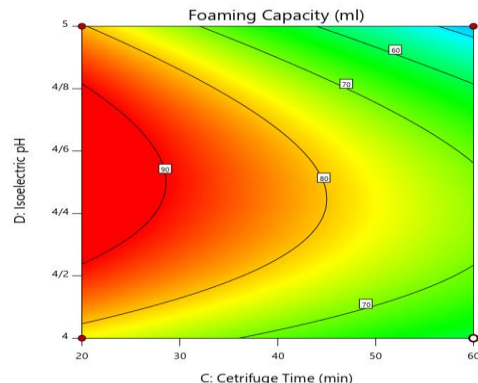
الف



ب



ج



128 شکل 3- سه بعدی و کانتور دو بعدی اثر متقابل زمان فراصوت و زمان سانتریفوژ (الف)، دمای فراصوت و pH ایزوالکتریک (ب) و

129 زمان سانتریفوژ و pH ایزوالکتریک (ج)، بر روی ظرفیت تشکیل کف پروتئین نخود

130

131 با توجه به موارد عنوان شده، ظرفیت تشکیل کف پروتئین نخود بر اساس داده های واقعی مطابق رابطه 2 بدست آمد؛

(2) 132

$$Y = -1182.28 + 9.26A - 13.07B + 2.15C + 603.32D - 0.04AC + 0.72BD - 0.43CD - 0.27A^2 + 0.15B^2 - 67.35D^2 \quad (R^2 = 0.9405)$$

134

135

136 که در این رابطه Y ظرفیت تشکیل کف پروتئین نخود (میلی لیتر)، A نماد زمان فراصوت (دقیقه)، B دمای فراصوت (درجه سانتی گراد)، C

137 نماد زمان سانتریفوژ (دقیقه) و D نماد pH ایزوالکتریک می باشد.

138 2-3- پایداری کف پروتئین نخود در 30 دقیقه (میلی لیتر)

139 جدول (4) نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پایداری کف (30 دقیقه) پروتئین نخود در مدل کامل درجه دوم با آثار متقابل نشان می دهد،

140 که تاثیر مدل معنی دار است ($p \leq 0.0001$)؛ همچنین متغیر مستقل زمان سانتریفوژ معنی دار بود ($p \leq 0.05$). با توجه به نتایج بدست آمده اثر

141 متقابل زمان فراصوت × دما فراصوت، زمان فراصوت × زمان سانتریفوژ، زمان سانتریفوژ × دما فراصوت، pH ایزوالکتریک × دما فراصوت و

142 pH ایزوالکتریک × زمان سانتریفوژ معنی دار بود ($p \leq 0.05$). نتایج نشان داد با افزایش زمان سانتریفوژ، پایداری کف پروتئین نخود در 30

143 دقیقه کاهش یافت. همسو با نتایج بدست آمده وانگ و همکاران (11) بیان کردند هیچ تغییر قابل توجهی در پایداری کف ایزوله پروتئینی

144 نخود تیمار شده با فراصوت نسبت به تیماری که از فراصوت استفاده نشد، مشاهده نشد. با توجه به شکل (4 و 5) بیشترین پایداری کف

145 پروتئین نخود در زمان فراصوت 9-15 دقیقه، دمای فراصوت 25-20 درجه سانتی گراد، زمان سانتریفوژ 30-20 دقیقه و pH ایزوالکتریک

146 4/4 تا 4/8 بدست آمد. همچنین رضایی و زمین دار (8) بیان کردند که پایداری کف پروتئین نخود استخراج شده به روش قلیایی 38-60

147 میلی لیتر بود، که با پژوهش حاضر تفاوت قابل توجهی ندارد و به این معنا می باشد که تیمار فراصوت تاثیری بر پایداری کف در 30 دقیقه

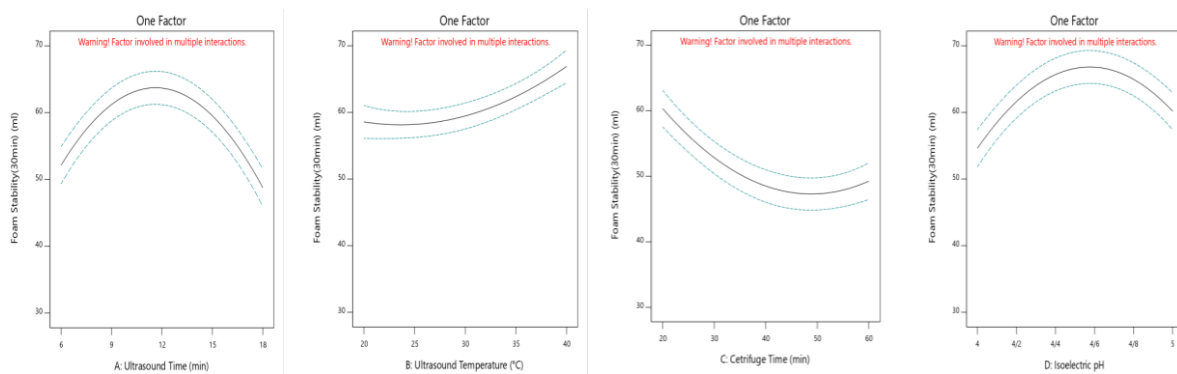
148 پس از تشکیل کف ندارد.

149

150 جدول 4. آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر پایداری کف پروتئین نخود در 30 دقیقه

Source منبع	Sum of Squares جمع مربعات	df درجه آزادی	Mean Square میانگین مربعات	F- value	p- value	
Model مدل	2540.22	14	181.44	55.22	< 0.0001	significant
A-Ultrasound Time زمان فراصوت	1.80	1	1.80	0.5478	0.4664	
B-Ultrasound Temperature دمای فراصوت	3.20	1	3.20	0.9739	0.3336	

C-Centrifuge Time						
زمان سانتریفوژ	20.00	1	20.00	6.09	0.0211	
D-Isoelectric pH						
pH ایزوالکتریک	9.80	1	9.80	2.98	0.0970	
AB	16.00	1	16.00	4.87	0.0372	
AC	16.00	1	16.00	4.87	0.0372	
AD	4.00	1	4.00	1.22	0.2808	
BC	169.00	1	169.00	51.43	< 0.0001	
BD	81.00	1	81.00	24.65	< 0.0001	
CD	25.00	1	25.00	7.61	0.0109	
A ²	888.52	1	888.52	270.40	< 0.0001	
B ²	54.59	1	54.59	16.61	0.0004	
C ²	200.28	1	200.28	60.95	< 0.0001	
D ²	432.25	1	432.25	131.55	< 0.0001	
Residual	78.86	24	3.29			
باقی مانده						
Lack of Fit	39.43	10	3.94	1.40	0.2744	not significant
عدم برازش						
Pure Error	39.43	14	2.82			
خطای خالص						
Cor Total	2619.08	38				
Std. Dev.	1.81	R ²	0.9699			
انحراف معیار						
Mean	45.85	Adjusted R ²	0.9523			
میانگین						
C.V. %	3.95	Predicted R ²	0.9360			
ضریب تغییرات						
		Adeq Precision	22.5204			



الف

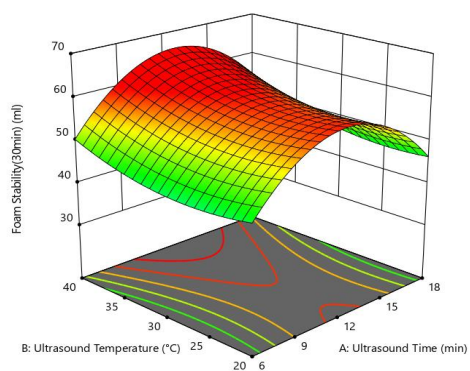
ب

ج

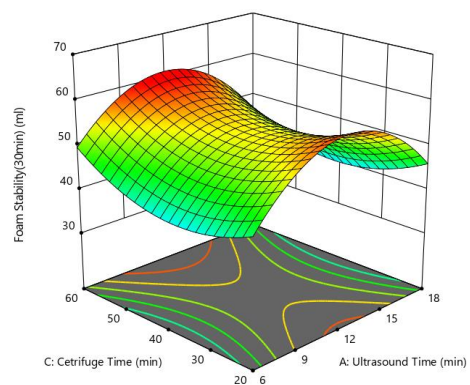
د

شکل 4 - اثر زمان فراصوت (الف)، دمای فراصوت (ب)، زمان سانتریفوژ (ج) و pH ایزوالکتریک (د) بر پایداری کف پروتئین نخود در 30 دقیقه

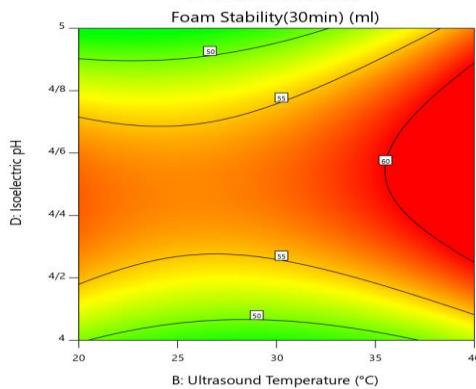
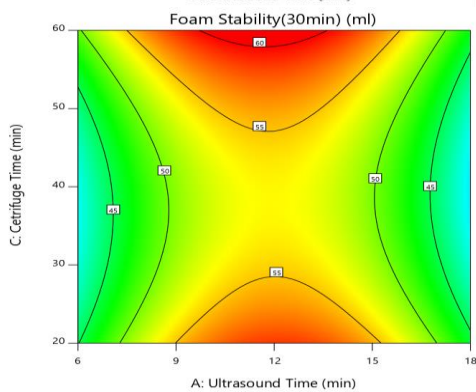
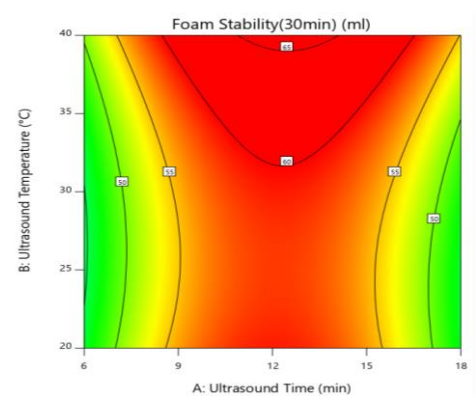
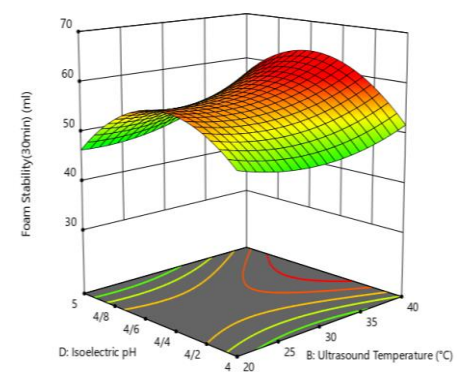
الف



ب



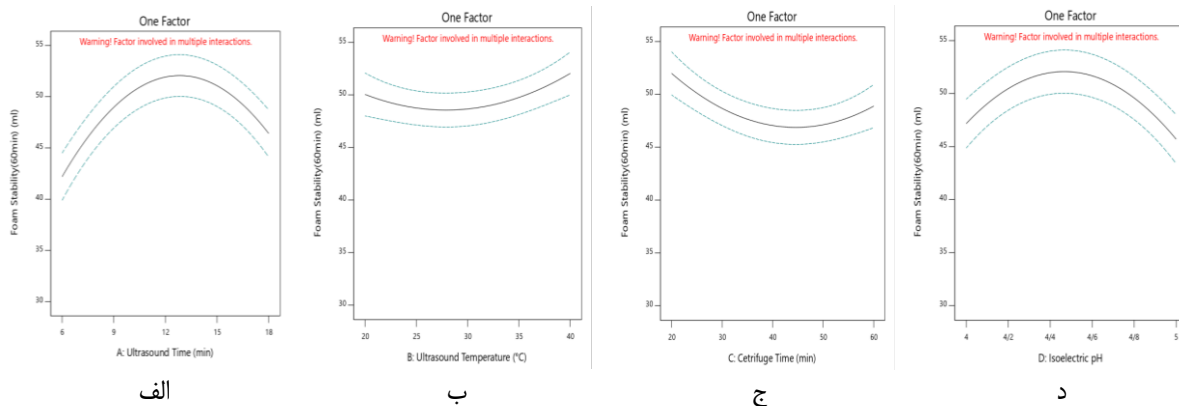
ج



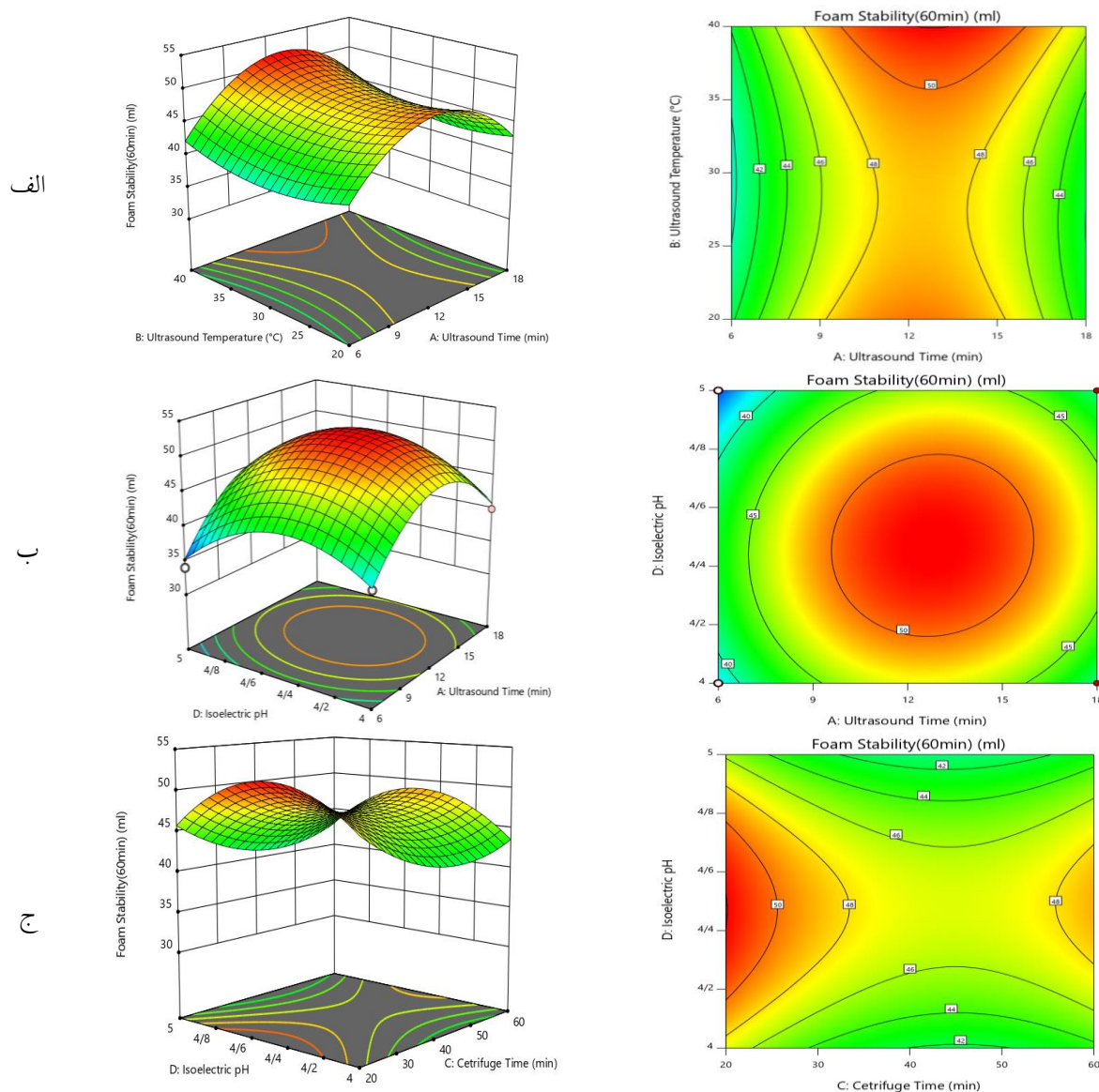
- 154 شکل 5- شکل سه بعدی و کانتور دو بعدی اثر متقابل زمان فراصوت و دمای فراصوت (الف)، زمان فراصوت و زمان سانتریفوژ (ب) و
155 دمای فراصوت و pH ایزوالکتریک (ج)، بر روی پایداری کف پروتئین نخود در 30 دقیقه
- 156 با توجه به موارد عنوان شده، پایداری کف پروتئین نخود در 30 دقیقه بر اساس داده های واقعی مطابق رابطه 3 بدست آمد؛
- 157 (3)
- 158 $Y = -655.59 + 8.69A - 3.50B - 0.15C + 322.10D + 0.01AB - 0.008AC - 0.01BC + 0.45BD - 0.12CD$
- 159 $-0.36A^2 + 0.03B^2 + 0.01C^2 - 36.88D^2$ ($R^2 = 0.9684$)
- 160 که در این رابطه Y پایداری کف پروتئین نخود در 30 دقیقه (میلی لیتر)، A نماد زمان فراصوت (دقیقه)، B دمای فراصوت (درجه سانتی گراد)
161 ، C نماد زمان سانتریفوژ (دقیقه) و D نماد pH ایزوالکتریک می باشد.
- 162 3-3- پایداری کف پروتئین نخود در 60 دقیقه (میلی لیتر)
- 163 پایداری کف به پایداری سطحی بستگی دارد. خواص کف کردن تحت تأثیر عوامل بیرونی مختلف مانند pH، قدرت یونی و دما قرار
164 می گیرد (7). جدول (5) نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پایداری کف (60 دقیقه) پروتئین نخود در مورد مدل کامل درجه دوم با آثار
165 متقابل نشان می دهد، که تاثیر مدل معنی دار است ($p \leq 0/0001$)؛ همچنین متغیرهای مستقل زمان فراصوت، زمان سانتریفوژ و
166 pH ایزوالکتریک معنی دار بود ($p \leq 0/05$). با توجه به شکل (6 و 7) با افزایش زمان فراصوت و pH ایزوالکتریک، پایداری کف ابتدا افزایش
167 و سپس کاهش یافت؛ همچنین با افزایش زمان سانتریفوژ ابتدا پایداری کف کاهش یافت و سپس کمی افزایش یافت. اثر متقابل متغیرهای
168 مستقل در پایداری کف در 60 دقیقه معنی دار نبود. همسو با نتایج بدست آمده وانگ و همکاران (11) بیان کردند هیچ تغییر قابل توجهی در
169 پایداری کف ایزوله پروتئینی نخود تیمار شده با فراصوت نسبت به تیماری که از فراصوت استفاده نشد، مشاهده نشد. همچنین رضایی و
170 زمین دار (8) بیان کردند که با افزایش زمان سانتریفوژ پایداری کف افزایش یافت. بیشترین پایداری کف در 60 دقیقه در زمان فراصوت
171 16-10 دقیقه، دمای فراصوت 35-40 درجه سانتی گراد، زمان سانتریفوژ 20-30 دقیقه و pH ایزوالکتریک 4/4 تا 4/6 بدست آمد.
- 172
- 173 جدول 5. آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر پایداری کف پروتئین نخود در 60 دقیقه

Source منبع	Sum of Squares جمع مربعات	df درجه آزادی	Mean Square میانگین مربعات	F-value	p-value	
Model مدل	829.08	14	59.22	26.52	< 0.0001	significant
A-Ultrasound Time زمان فراصوت	12.80	1	12.80	5.73	0.0248	
B-Ultrasound Temperature دمای فراصوت	0.8000	1	0.8000	0.3583	0.5551	
C-Cetridge Time	12.80	1	12.80	5.73	0.0248	

زمان سانتریفوژ						
D-Isoelectric pH						
ایزوالکتریک pH	20.00	1	20.00	8.96	0.0063	
AB	9.00	1	9.00	4.03	0.0561	
AC	4.00	1	4.00	1.79	0.1933	
AD	9.00	1	9.00	4.03	0.0561	
BC	9.00	1	9.00	4.03	0.0561	
BD	4.00	1	4.00	1.79	0.1933	
CD	1.00	1	1.00	0.4479	0.5097	
A ²	294.78	1	294.78	132.03	<	
					0.0001	
B ²	28.88	1	28.88	12.94	0.0014	
C ²	58.20	1	58.20	26.07	<	
					0.0001	
D ²	160.29	1	160.29	71.79	<	
					0.0001	
Residual						
باقی مانده	53.58	24	2.23			
Lack of Fit						
عدم برازش	30.16	10	3.02	1.80	0.1522	not significant
Pure Error						
خطای خالص	23.43	14	1.67			
Cor Total	882.67	38				
Std. Dev.						
انحراف معیار	1.49	R ²	0.9393			
Mean						
میانگین	40.67	Adjusted R ²	0.9039			
C.V. %						
ضریب تغییرات	3.67	Predicted R ²	0.8468			
		Adeq Precision	16.2386			



شکل 6 - اثر زمان فراصوت (الف)، دمای فراصوت (ب)، زمان سانتریفوژ (ج) و pH ایزوالکتریک (د) بر پایداری کف پروتئین نخود در 60 دقیقه



شکل 7 - شکل سه بعدی و کانتور دو بعدی اثر متقابل زمان فراصوت و دمای فراصوت (الف)، زمان سانتریفوژ و pH ایزوالکتریک (ب) و زمان سانتریفوژ و pH ایزوالکتریک (ج)، بر روی پایداری کف پروتئین نخود در 60 دقیقه

با توجه به موارد عنوان شده، پایداری کف پروتئین نخود در 60 دقیقه بر اساس داده های واقعی مطابق رابطه 4 بدست آمد؛

(4)

$$Y = -397.47 + 5.21A - 1.41B - 0.71C + 200.17D - 0.21A^2 + 0.02B^2 + 0.008C^2 - 22.46D^2 \quad (R^2 = 0.8985)$$

184 که در این رابطه Y پایداری کف پروتئین نخود در 60 دقیقه (میلی لیتر)، A نماد زمان فراصوت (دقیقه)، B دمای فراصوت (درجه سانتی گراد)
 185 ، C نماد زمان سانتریفوژ (دقیقه) و D نماد pH ایزوالکتریک می باشد.

186 3-4- پایداری کف پروتئین نخود در 90 دقیقه (میلی لیتر)

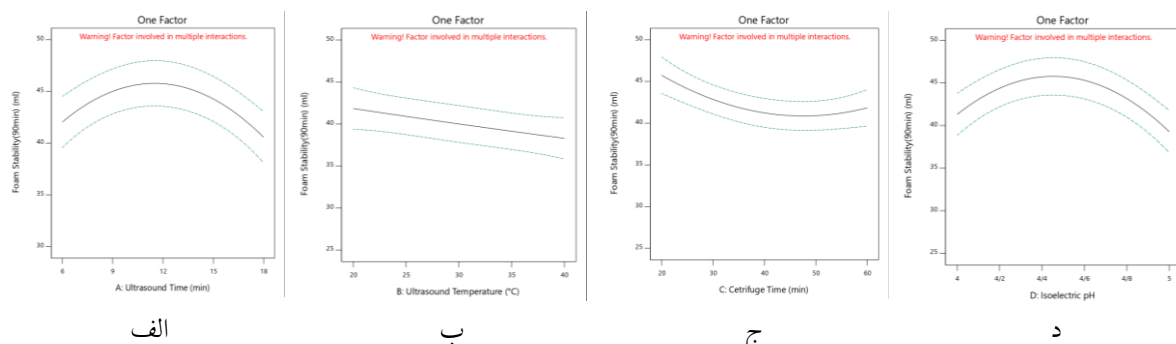
187 جدول 6 نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پایداری کف (90 دقیقه) پروتئین نخود در مورد مدل کامل درجه دوم با آثار متقابل نشان می
 188 دهد، که تاثیر مدل معنی دار است ($p \leq 0/0001$)؛ همچنین متغیرهای مستقل زمان سانتریفوژ و pH ایزوالکتریک معنی دار بود ($p \leq 0/05$). با
 189 توجه به شکل (8 و 9) با افزایش زمان سانتریفوژ، پایداری کف در 90 دقیقه کاهش یافت. اثر متقابل متغیرهای مستقل در پایداری کف در
 190 90 دقیقه معنی دار نبود. همسو با نتایج بدست آمده وانگ و همکاران (11) بیان کردند هیچ تغییر قابل توجهی در پایداری کف ایزوله
 191 پروتئینی نخود تیمار شده با فراصوت نسبت به تیماری که از فراصوت استفاده نشد، مشاهده نشد. ب همچنین رضایی و زمین دار (8) بیان
 192 کردند که با افزایش زمان سانتریفوژ پایداری کف افزایش یافت. بیشترین پایداری کف در 90 دقیقه در زمان فراصوت 15-9 دقیقه، دمای
 193 فراصوت 20-25 درجه سانتی گراد، زمان سانتریفوژ 20-30 دقیقه و pH ایزوالکتریک 4/2 تا 4/6 بدست آمد.

194 جدول 6. آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر پایداری کف پروتئین نخود در 90 دقیقه

Source منبع	Sum of Squares جمع مربعات	df درجه آزادی	Mean Square میانگین مربعات	F-value	p-value	
Model مدل	601.21	14	42.94	16.69	< 0.0001	Significant معنی دار
A-Ultrasound Time زمان فراصوت	0.0000	1	0.0000	0.0000	1.0000	
B-Ultrasound Temperature دمای فراصوت	5.00	1	5.00	1.94	0.1761	
C-Centrifuge Time زمان سانتریفوژ	28.80	1	28.80	11.19	0.0027	
D-Isoelectric pH pH ایزوالکتریک	12.80	1	12.80	4.97	0.0354	
AB	4.00	1	4.00	1.55	0.2245	
AC	1.0000	1	1.0000	0.3885	0.5389	
AD	9.00	1	9.00	3.50	0.0737	
BC	9.00	1	9.00	3.50	0.0737	
BD	1.0000	1	1.0000	0.3885	0.5389	
CD	4.00	1	4.00	1.55	0.2245	
A ²	100.24	1	100.24	38.95	< 0.0001	
B ²	0.0177	1	0.0177	0.0069	0.9347	
C ²	33.28	1	33.28	12.93	0.0015	
D ²	150.46	1	150.46	58.46	< 0.0001	
Residual باقی مانده	61.77	24	2.57			

Lack of Fit						not significant
عدم برازش		36.91	10	3.69	2.08	غیرمعنی دار
Pure Error						
خطای خالص		24.86	14	1.78		
Cor Total		662.97	38			
Std. Dev.						
انحراف معیار	1.60	R ²	0.9068			
Mean						
میانگین	36.97	Adjusted R ²	0.8525			
C.V. %						
ضریب تغییرات	4.34	Predicted R ²	0.7601			
		Adeq Precision	14.0947			

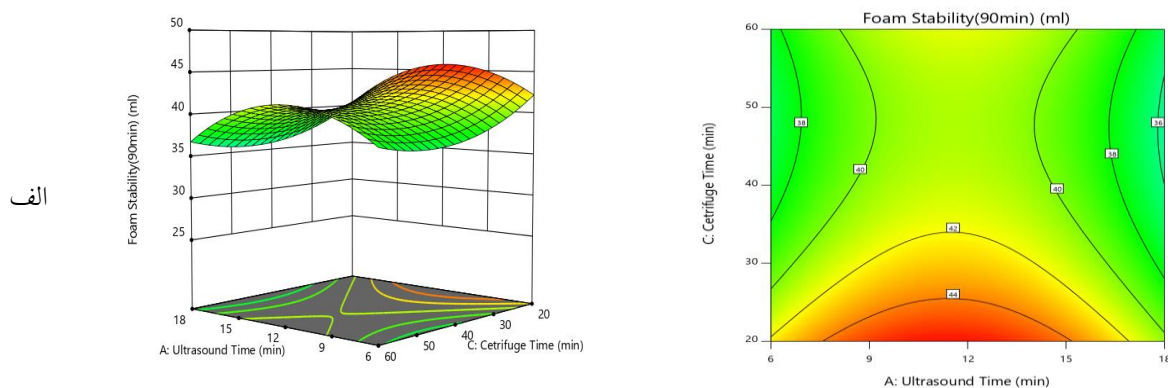
195

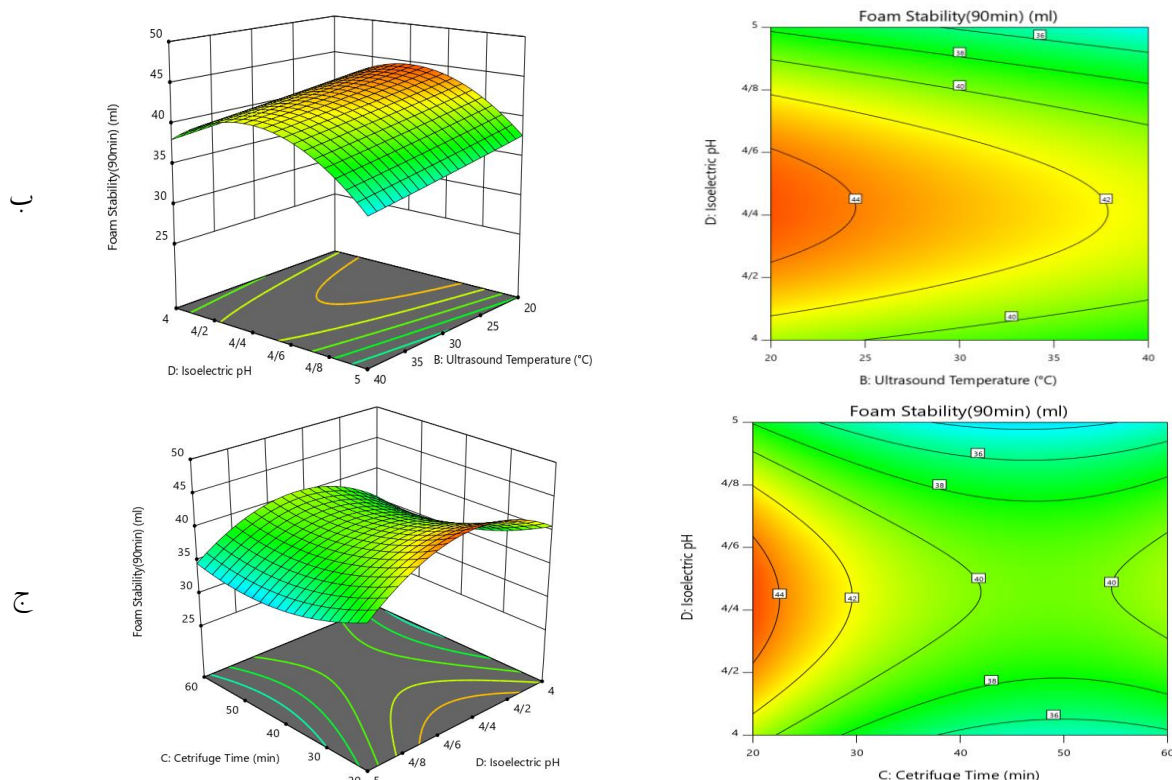


196 شکل 8 - اثر زمان فراصوت (الف)، دمای فراصوت (ب)، زمان سانتریفوژ (ج) و pH ایزوالکتریک (د) بر پایداری کف پروتئین نخود در 90 دقیقه

197

198





199 شکل 9- نمودار سه بعدی و کانتور دو بعدی اثر متقابل زمان فراصوت و دمای فراصوت (الف)، زمان فراصوت و pH ایزوالکتریک (ب) و
 200 زمان سانتریفوژ و pH ایزوالکتریک (ج)، بر روی پایداری کف پروتئین نخود در 60 دقیقه
 201 با توجه به موارد عنوان شده، پایداری کف پروتئین نخود در 90 دقیقه بر اساس داده های واقعی مطابق رابطه 5 بدست آمد؛
 202 (5)

$$Y = -396.53 + 2.95A - 0.57C + 193.70D - 0.12A^2 + 0.006C^2 - 21.70D^2 \quad (R^2 = 0.8570)$$

204 که در این رابطه Y پایداری کف پروتئین نخود در 90 دقیقه (میلی لیتر)، A نماد زمان فراصوت (دقیقه)، B دمای فراصوت (درجه
 205 سانتی گراد)، C نماد زمان سانتریفوژ (دقیقه) و D نماد pH ایزوالکتریک می باشد.

206 3-5- بهینه سازی ظرفیت تشکیل و پایداری کف پروتئین نخود

207 جدول (7) مقادیر پیشنهادی نرم افزار و مقادیر میانگین سه تکرار انجام شده، تیمار بهینه را نشان می دهد که مقایسات آنالیز واریانس با استفاده
 208 از آزمون T-student اختلاف معناداری در سطح 5 درصد نشان نداد ($p \geq 0/05$).

209 جدول 7- شرایط پیشنهادی نرم افزار برای بهینه سازی فرایند و میانگین 3 تکرار آزمون انجام شده

A: Ultra sound Time زمان فراصوت	B: Ultra sound Temper ature	C: Cetr ifuge Time زمان سانتریفوژ	D: Isoel ectric pH	Foam ing Capa city	Foam Stability(30min) پایداری کف در 30 دقیقه	Foam Stability(60min) پایداری کف در 60 دقیقه	Foam Stability(90min) پایداری کف در 90 دقیقه	Desira bility مطلوبیت
---	--------------------------------------	---	--------------------------	-----------------------------	---	---	---	-----------------------------

		دمای		ایزو		ظرفیت			
		فراصوت		الکتریک		تشکیل			
				pH		کف			
conditi ons	In range	In range	In range	In range	Maxi mize	Maximize	Maximize	Maximize	
	در محدوده	در محدوده	در	در محدوده	حداکثر	حداکثر	حداکثر	حداکثر	
	تعریف شده	تعریف شده	محدوده تعریف شده	تعریف شده					
Predict ed conditi ons	11.967	20.000	20.000	4.442	95.39 4	59.433	50.237	45.820	0.966
Experi ments perfor med	11.967	20.000	20.000	4.442	95±1. 00 ^{ns}	58±1.00 ^{ns}	50±1.00 ^{ns}	44±1.33 ^{ns}	
%Error	-	-	-	-	0.41	2.47	0.47	4.13	

210

4-نتیجه گیری

211

212 در پژوهش حاضر بهینه سازی استخراج پروتئین نخود کابلی با کمک فراصوت به منظور بررسی خواص عملکردی کف و پایداری آن با

213 روش سطح پاسخ (RSM)، طرح مرکب مرکزی (CCD) انجام شد؛ اثر متغیرهای زمان حمام فراصوت (18-6 دقیقه)، دمای حمام

214 فراصوت (40-20 درجه سانتی گراد)، زمان سانتریفوژ (20-60 دقیقه) و pH ایزوالکتریک (4-5) بر پاسخهای ظرفیت کف کنندگی و

215 پایداری کف در 30، 60 و 90 دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مدل آماری درجه دوم با دقت بالایی به منظور پیش بینی

216 متغیرهای وابسته، قابل استفاده بوده و همچنین نتایج بهینه سازی با آزمایش های انجام شده همخوانی مناسبی داشت ($p \leq 0.05$). تغییرات زمان

217 فراصوت تاثیر معنی داری بر ظرفیت تشکیل کف و پایداری کف (60 دقیقه) داشت ($p \leq 0.05$). اما بر روی پایداری کف در 30 و 90 دقیقه

218 تاثیر معنی داری نداشت ($p \leq 0.05$). تغییرات دمای فراصوت تاثیر معنی داری بر ظرفیت تشکیل کف داشت ($p \leq 0.05$). اما بر روی پایداری

219 کف در 30، 60 و 90 دقیقه تاثیر معنی داری نداشت ($p \leq 0.05$). تغییرات زمان سانتریفوژ تاثیر معنی داری بر میزان ظرفیت تشکیل کف،

220 پایداری کف در 30، 60 و 90 دقیقه داشت ($p \leq 0.05$). تغییرات pH ایزوالکتریک تاثیر معنی داری بر ظرفیت پایداری کف در 60 و 90

221 داشت ($p \leq 0.05$). اما بر روی میزان ظرفیت تشکیل کف، پایداری کف در 30 دقیقه تاثیر معنی داری نداشت ($p \leq 0.05$). نتایج این پژوهش

222 نشان داد پروتئین نخود کابلی به عنوان یک منبع پروتئین گیاهی، پتانسیل بالایی برای کف کنندگی دارد. همچنین استفاده از روش دواستدار

223 محیط زیست فراصوت می تواند در بهبود خاصیت کف کنندگی پروتئین اثر بخش باشد.

5-منابع

224

1. Zhang C, Wang Z, Li Y, Yang Y, Ju X, He R. The preparation and physiochemical characterization of rapeseed protein hydrolysate-chitosan composite films. Food Chem. 2019;272:694-701.

225

226

2.	Hadidi M, Aghababaei F, McClements D. Enhanced alkaline extraction techniques for isolating and modifying plant-based proteins. <i>Food Hydrocolloids</i> . 2023;145:109132.	227 228
3.	Glusac J, Isaschar-Ovdat S, Fishman A. Transglutaminase modifies the physical stability and digestibility of chickpea protein-stabilized oil-in-water emulsions. <i>Food Chemistry</i> . 2020;315:126301.	229 230 231
4.	Bar-El Dadon S, Abbo S, Reifen R. Leveraging traditional crops for better nutrition and health - The case of chickpea. <i>Trends in Food Science & Technology</i> . 2017;64.	232 233
5.	Wen, C., Zhang, J., Yao, H., Zhou, J., Duan, Y., Zhang, H., & Ma, H. (2019). Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication. <i>Ultrason Sonochem</i> , 53, 83-98.	234 235 236
6.	Espinosa-Ramírez J, Serna-Saldívar SO. Wet-milled chickpea coproduct as an alternative to obtain protein isolates. <i>LWT</i> . 2019;115:108468.	237 238
7.	Kumar M, Tomar M, Potkule J, Reetu, Punia S, Dhakane J, et al. Functional characterization of plant-based protein to determine its quality for food applications. <i>Food Hydrocolloids</i> . 2021.	239 240
8.	Rezaee Barzani H, Zamindar N. Optimizing the functional characteristics of the protein foam stability of kabuli chickpeas of Anna variety. <i>Journal of food science and technology(Iran)</i> . 2024;21(153):63-75. [In Persian].	241 242 243
9.	Boye JI, Aksay S, Roufik S, Ribéreau S, Mondor M, Farnworth E, et al. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. <i>Food Research International</i> . 2010;43(2):537-46.	244 245 246 247
10.	Kaur M, Singh N. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (<i>Cicer arietinum</i> L.) cultivars. <i>Food Chemistry</i> . 2007;102(1):366-74.	248 249
11.	Wang Y, Wang Y, Li K, Bai Y-H, Li B, Xu W. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical, interfacial and gel properties of chickpea protein isolate. <i>LWT</i> . 2020;129:109563.	250 251 252
12.	Aydemir LY, Yemenicioğlu A. Potential of Turkish Kabuli type chickpea and green and red lentil cultivars as source of soy and animal origin functional protein alternatives. <i>LWT - Food Science and Technology</i> . 2013;50(2):686-94.	253 254 255 256 257 258

Optimizing the Formation and Stability of Kabuli Chickpea Protein Foam with Ultrasound Assistance

Abstract

Recently, the use of plant proteins to replace the proteins obtained from animal sources has increased due to the supply of food from more sustainable sources. Chickpea is the third most grown legume in the world with relatively high protein content and is considered as an excellent source of protein. One of the important aspects in the production of high quality plant protein materials for use in food formulations is to identify a suitable and new extraction process. In this research, the response surface method, central composite design and Design Expert software were used to investigate the effect of the variables of ultrasound time (6-18minutes), ultrasound temperature (20-40degrees of Celsius), centrifugation time (60-20minutes) and isoelectric pH (4-5) on the foaming capacity and stability. The number of performances according to the design proposal was 39 performances with 7 repetitions at the central point and 2 repetitions at the axial points. The results showed that the quadratic statistical model could be used with high accuracy to predict the dependent variables($p \leq 0.0001$); Changes in ultrasound time had a significant effect on foaming capacity and foam stability (60 minutes)($p \leq 0.05$); Changes in ultrasound temperature had a significant effect on foam formation capacity($p \leq 0.05$); Centrifuge time changes had a significant effect on foam formation capacity, foam stability in 30, 60 and 90 minutes($p \leq 0.05$); Isoelectric pH changes had a significant effect on the foam stability in 60 and 90 minutes($p \leq 0.05$). The obtained results showed that the optimal capacity of foam formation and its stability at the ultrasound time of 11.967 minutes, the ultrasound temperature of 20°C, the centrifugation time

of 20minutes and the isoelectric pH of 4.442 were in good agreement with the experiments performed ($p \leq 0.05$). 279
280

Keywords: Protein Extraction with Ultrasound Assistance, Foam Formation Capacity, Foam Stability, 281
Chickpea Protein 282

283
284
285