

Optimization of Quinoa Protein Emulsion Activity Index and Stability

Niloufar Hamedanian¹, 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, Email: n.zamindar@khuif.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Full Paper

Article history:

Received: 2024-9-19

Revised: 2024-10-26

Accepted: 2024-11-5

Keywords:

Emulsion stability

Quinoa Protein

Response surface method

Emulsion Activity Index

ABSTRACT

Background and objectives: traditional protein sources such as meat and dairy are facing environmental and resource efficiency challenges. Therefore, paying attention to alternative protein sources that can meet nutritional needs and at the same time be environmentally friendly has been found particularly important. Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*), a pseudocereal native to the Andean region, has attracted much attention due to its high nutritional value and numerous health benefits. The aim of this research was developing and optimizing a method for extracting quinoa protein regarding its functional properties in terms of emulsion activity and stability.

Materials and Methods: Quinoa flour was prepared from quinoa seeds and defatted with n-hexane, a suspension of flour and distilled water was prepared and pH was adjusted with sodium hydroxide solution according to the table suggested by the software used for the response surface method. The suspension was centrifuged and then the supernatant solution reached isoelectric pH with hydrochloric acid solution and the second centrifugation was performed, then the sediments were washed, neutralized and dried in a freeze dryer and the emulsion activity index and emulsion stability were measured. Protein extraction for evaluation of functional properties of quinoa was done using response surface method (RSM). The independent variables included isoelectric pH (4-5 minutes), centrifuge temperature (3-5 degrees Celsius) and alkaline pH (9-12). For data analysis design expert software and Box Benchen design with 6 replications at central point at probability of 5% was used. The t-student test was used to compare predicted and experimented conditions of optimal point.

Results: The results of analysis of variance to investigate the dependent variable of emulsion activity index showed that the quadratic model was significant ($p < 0.0001$). The interaction of temperature $\times$ isoelectric pH, alkaline pH $\times$ isoelectric pH, and alkaline pH $\times$ temperature were significant ($p < 0.0001$). Statistical analysis showed the dependent variable of emulsion stability shows that the quadratic model was significant ($p < 0.0001$). The interaction effect of temperature $\times$ isoelectric pH, alkaline pH $\times$

isoelectric pH, and alkaline pH $\times$ temperature were significant ($p < 0.05$). The results showed that the quadratic model could be used to predict the dependent variables. Isoelectric pH changes had a significant effect on emulsion activity index and its stability ($p < 0.05$). Temperature changes had a significant effect on emulsion activity index and its stability ($p < 0.05$). Changes in the alkaline pH had a significant effect on the emulsion activity index and its stability ($p < 0.05$). For numerical optimization, the values of the independent variables were within the defined range and the dependent variables were set to the maximum state.

Conclusion: The proposed treatment included alkaline pH of 9.00, isoelectric pH of 5 and temperature of 4.064 degrees Celsius. The experimented tests were performed in three repetitions. T-student test showed no significant difference between predicted and experimented conditions ($p > 0.05$). The results showed that quinoa protein could be used as an emulsifier in the food industry.

Cite this article: Hamedanian, N., Zamindar, N. 2024. Optimization of Quinoa Protein Emulsion Activity Index and Stability. *Food Processing and Preservation Journal*, 16(3), 101-114.



© The Author(s). DOI: 10.22069/fppj.2024.22803.1836
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بهینه‌سازی شاخص فعالیت و پایداری امولسیون پروتئین کینوا^۱

نیلوفر همدانیان^۱، نفیسه زمین‌دار^{۲*}

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران
^۲ دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران، رایانامه: n.zamindar@khuif.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی	سابقه و هدف: منابع پروتئینی سنتی مانند گوشت و لبنیات با چالش‌های زیست‌محیطی و کارایی منابع مواجه هستند. از این رو، توجه به منابع پروتئینی جایگزین که بتوانند نیازهای تغذیه‌ای را برآورده کنند و در عین حال دوست‌دار محیط‌زیست باشند، اهمیت ویژه‌ای یافته است. کینوا (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)، یک شبه غلات بومی منطقه آندیان، به دلیل ارزش غذایی بالا و فواید سلامتی متعدد، توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. هدف از این تحقیق توسعه و بهینه‌سازی روشی برای استخراج پروتئین کینوا با توجه به خواص عملکردی آن از نظر فعالیت امولسیون و پایداری بود.
واژه‌های کلیدی: پایداری امولسیون پروتئین کینوا روش سطح پاسخ شاخص فعالیت امولسیون	مواد و روش‌ها: آرد کینوا از دانه‌های کینوا تهیه و چربی‌زدایی آن با n-هگزان انجام شد، سوسپانسیونی از آرد و آب مقطر تهیه و pH با محلول هیدروکسید سدیم مطابق جدول پیشنهادی نرم‌افزار مورد استفاده برای روش سطح پاسخ تنظیم شد. سوسپانسیون سانتریفیوژ شد و سپس محلول رویی با محلول اسیدکلریدریک به pH ایزوالکتریک رسید و سانتریفیوژ دوم انجام شد سپس شستشوی رسوبات، خنثی کردن آن‌ها و خشک کردن رسوبات در خشک‌کن انجمادی و اندازه‌گیری شاخص فعالیت امولسیون و پایداری امولسیون انجام شد. استخراج پروتئین برای ارزیابی خواص عملکردی کینوا با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) انجام شد. متغیرهای مستقل شامل pH ایزوالکتریک (۴-۵ دقیقه)، دمای سانتریفیوژ (۳-۵ درجه سانتی‌گراد) و pH قلیایی (۹-۱۲) بودند. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت و طرح Box Benchen با ۶ تکرار در نقطه مرکزی در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. آزمون t- student برای مقایسه شرایط پیش‌بینی شده و آزمایش شده نقطه بهینه استفاده شد.
	یافته‌ها: نتایج آنالیز واریانس برای بررسی متغیر وابسته شاخص فعالیت امولسیونی نشان داد که مدل درجه دوم معنی‌دار است ($p < 0.001$). اثر متقابل دما $\times$ pH ایزوالکتریک، pH قلیایی $\times$ pH ایزوالکتریک و pH قلیایی $\times$ دما معنی‌دار بود ($p < 0.001$). تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که مدل درجه دوم برای متغیر وابسته پایداری امولسیون معنی‌دار است ($p < 0.001$). اثر متقابل دما $\times$ pH ایزوالکتریک، pH قلیایی $\times$ pH ایزوالکتریک و pH قلیایی $\times$ دما معنی‌دار بود ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که می‌توان از مدل درجه دوم برای پیش‌بینی متغیرهای وابسته

استفاده کرد. تغییرات pH ایزوالکتریک بر شاخص فعالیت امولسیون و پایداری آن تأثیر معنی داری داشت ($p < 0/05$). تغییرات دما بر شاخص فعالیت امولسیونی و پایداری آن تأثیر معنی داری داشت ($p < 0/05$). تغییرات در pH قلیایی تأثیر معنی داری بر شاخص فعالیت امولسیونی و پایداری آن داشت ($p < 0/05$). برای بهینه سازی عددی، مقادیر متغیرهای مستقل در محدوده تعریف شده و متغیرهای وابسته در حداکثر حالت قرار گرفتند.

نتیجه گیری: تیمار بهینه پیشنهادی شامل pH قلیایی ۹، pH ایزوالکتریک ۵ و دمای ۴/۰۶۴ درجه سانتی گراد بود. آزمون های انجام شده در سه تکرار انجام شد. آزمون T-student تفاوت معنی داری را بین شرایط پیش بینی شده و آزمایشی نشان نداد ($p < 0/05$). نتایج نشان داد که پروتئین کینوا می تواند به عنوان امولسیفایر در صنایع غذایی استفاده شود.

استناد: همدانیان، نیلوفر؛ زمین دار، نفیسه. (۱۴۰۳). بهینه سازی شاخص فعالیت و پایداری امولسیون پروتئین کینوا. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۶ (۳)، ۱۱۴-۱۰۱.



© نویسندگان.

DOI: 10.22069/fppj.2024.22803.1836

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

با افزایش جمعیت جهانی، نیاز به منابع غذایی پایدار و مغذی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است [۱]. پروتئین به‌عنوان یکی از اجزای اساسی رژیم غذایی انسان، نقش حیاتی در رشد، ترمیم و حفظ سلامت عمومی بدن ایفا می‌کند [۲]. منابع پروتئینی سنتی مانند گوشت و لبنیات با چالش‌های زیست‌محیطی و کارایی منابع مواجه هستند [۳]. از این‌رو، توجه به منابع پروتئینی جایگزین که بتوانند نیازهای تغذیه‌ای را برآورده کنند و در عین حال دوست‌دار محیط‌زیست باشند، اهمیت ویژه‌ای یافته است [۴].

کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd)، یک شبه غلات بومی منطقه آندیان، به دلیل ارزش غذایی بالا و فواید سلامتی متعدد، توجه بسیاری را به خود جلب کرده است [۵]. کینوا به‌ویژه به دلیل محتوای پروتئین بالای خود که شامل تمام نه آمینواسید ضروری است، به‌عنوان یک منبع پروتئینی کامل شناخته می‌شود [۶]. این ویژگی منحصربه‌فرد، کینوا را به گزینه‌ای امیدوارکننده برای رفع کمبودهای پروتئینی در جوامع مختلف تبدیل کرده است [۷].

در علم غذا، امولسیون‌ها به‌طور گسترده‌ای در فرمولاسیون محصولات مختلف از جمله سس‌ها، نوشیدنی‌ها و چاشنی‌ها استفاده می‌شوند [۸، ۹]. امولسیون‌ها مخلوطی از دو مایع غیرقابل امتزاج هستند که یکی از آن‌ها به‌صورت قطرات ریز در دیگری پراکنده شده است [۱۰]. پایداری و فعالیت امولسیون‌های پروتئینی برای کیفیت و ماندگاری این محصولات حیاتی است [۱۱، ۱۲]. با این حال، بهینه‌سازی خواص امولسیون پروتئین کینوا به دلیل تغییرات در شرایط استخراج و خواص فیزیکوشیمیایی پروتئین، چالشی پیچیده است [۱۳].

این مطالعه باهدف بهینه‌سازی شاخص فعالیت امولسیون (EAI) و شاخص پایداری امولسیون (ESI) پروتئین کینوا با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) انجام شده است [۱۴]. گسترده‌ترین کاربردهای RSM در شرایطی است که چندین متغیر ورودی بر برخی از معیارهای عملکردی یا ویژگی‌های کیفی تأثیر می‌گذارند [۱۵]. با تغییر متغیرهای دمای استخراج، pH قلیایی و pH ایزوالکتریک، شرایط بهینه‌ای شناسایی شد که هر دو شاخص EAI و ESI را به حداکثر برساند [۱۶]. یافته‌های این پژوهش به توسعه امولسیون‌های پروتئینی کینوا با کیفیت بالا و پایدار کمک خواهد کرد و یک جایگزین پایدار برای منابع پروتئینی سنتی در صنعت غذا ارائه می‌دهد [۱۷].

علاوه بر این، نتایج این پژوهش می‌تواند به بهبود فرآیندهای تولید و افزایش کارایی در صنعت غذا کمک کند [۱۸]. با توجه به افزایش تقاضا برای محصولات غذایی سالم و پایدار، استفاده از پروتئین کینوا در فرمولاسیون امولسیون‌ها می‌تواند به‌عنوان یک راهکار نوآورانه و مؤثر مطرح شود [۱۹]. این مطالعه همچنین می‌تواند به تحقیقات بیشتر در زمینه استفاده از سایر منابع پروتئینی گیاهی در تولید امولسیون‌های غذایی کمک کند و به توسعه محصولات غذایی جدید و متنوع منجر شود [۲۰].

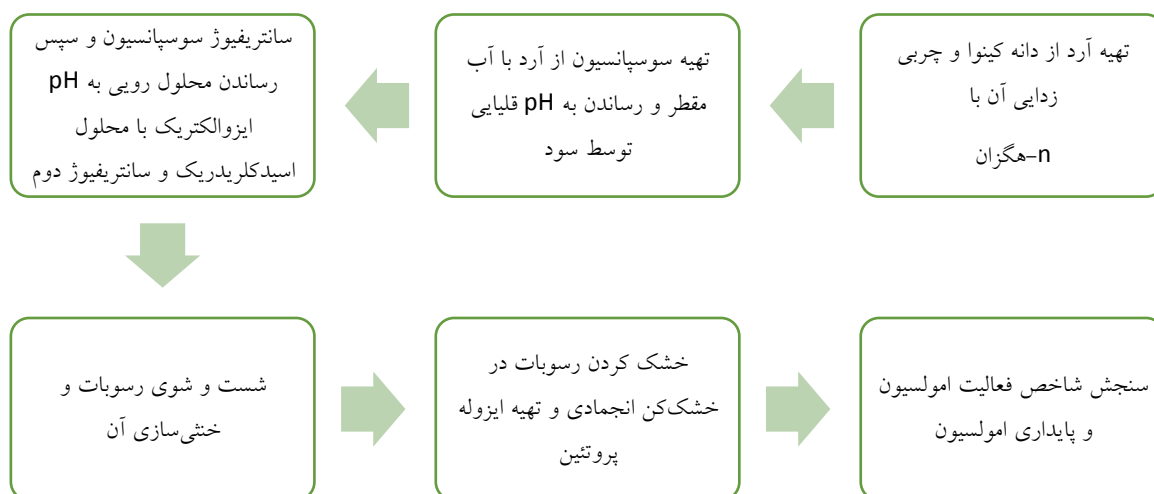
در این راستا، بررسی تأثیر متغیرهای مختلف بر شاخص فعالیت و پایداری امولسیون پروتئین کینوا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۲۱]. دمای استخراج، pH قلیایی و pH ایزوالکتریک از جمله متغیرهای کلیدی هستند که می‌توانند بر خواص امولسیون تأثیر بگذارند [۲۲]. بهینه‌سازی این متغیرها می‌تواند به بهبود کیفیت و پایداری امولسیون‌های پروتئینی کمک کند و در نهایت منجر به تولید محصولات غذایی با کیفیت بالاتر شود [۲۳].

مواد و روش‌ها

مواد: در این پژوهش، دانه کینوا (*Chenopodium quinoa Willd*)، رقم *Titicaca* از سازمان جهاد کشاورزی ایران تهیه شد. دانه‌های کینوا با استفاده از آسیاب برقی به صورت آرد درآمد و در آزمون‌ها استفاده شد.

روش‌ها: برای استخراج پروتئین‌های کینوا در شرایط قلیایی، با توجه به طرح آزمایشی از روش شرح داده‌شده در شکل ۱، استفاده شد [۲۶].

در این پژوهش، با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)، تأثیر متغیرهای مذکور بر شاخص فعالیت و پایداری امولسیون پروتئین کینوا مورد بررسی قرار گرفته است [۲۴]. نتایج این پژوهش می‌تواند به توسعه روش‌های بهینه‌سازی در صنعت غذا کمک کند و به تولید محصولات غذایی با کیفیت و پایدار منجر شود [۲۵]. همچنین این پژوهش می‌تواند به عنوان یک مرجع علمی برای تحقیقات آینده در زمینه استفاده از پروتئین‌های گیاهی در تولید امولسیون‌های غذایی مورد استفاده قرار گیرد.



شکل ۱- فلوچارت استخراج پروتئین کینوا

Figure 1- Quinoa protein extraction flowchart

ریخته شد و مقدار جذب نور در زمان صفر A_0 و ده دقیقه بعد A_{10} ، خوانده شد [۲۷]. رابطه [۲۷]:

$$EAI \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{A_0 * 2 * 2.303 * N}{1000 * غلظت * کسر حجمی روغن}$$

EAI = شاخص فعالیت امولسیون

A_0 = جذب نور در زمان صفر

N = میزان رقت سوسپانسیون پروتئین در سل اسپکتوفوتومتر

مقدار فعالیت امولسیون شوندگی و پایداری آن: مقدار ۰/۱ گرم ایزوله پروتئین با ۱۰ میلی لیتر آب به مدت یک دقیقه با همزن برقی هموژن شدند سپس ۳/۳ میلی لیتر روغن آفتابگردان اضافه شد و مجدداً یک دقیقه هموژن شدند. سپس با سمپلر مقدار ۰/۰۱۷ گرم از مخلوط برداشته شد و با ۱/۷ میلی لیتر محلول سدیم دو دسیل سولفات داخل سل اسپکتروفوتومتر

غلظت پروتئین (گرم/ میلی‌لیتر)

$$\text{رابطه ۲: } ESI(\min) = \frac{A_{10}}{A_0 - A_{10}} * t$$

ESI = شاخص پایداری امولسیون

A_0 = جذب نور در زمان صفر

A_{10} = جذب نور پس از ده دقیقه

t = زمان (دقیقه)

امولسیون پروتئین کینوآ مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی از روش سطح پاسخ، طرح باکس بنکن و نرم‌افزار Design Expert نسخه ۱۱ استفاده شد که تعداد اجراها مطابق پیشنهاد طرح و طبق جدول ۲، ۱۸ اجرا با ۶ تکرار در نقطه مرکزی بود. همچنین شرایط پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار برای بیشترین فعالیت و پایداری امولسیون با شرایط آزمایشگاهی مورد مقایسه قرار گرفت. شرایط بهینه تجربه شده با آزمون T-Student در سطح احتمال ۵٪ با مقدار پیش‌بینی شده نرم‌افزار مورد مقایسه قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش، اثر متغیرهای مستقل pH ایزوالکتریک (۴-۵)، دمای سانتیفریوژ (۳-۵) درجه سانتی‌گراد و pH قلیایی (۹-۱۲) بر فعالیت و پایداری

جدول ۱- مقادیر واقعی و کد شده متغیرهای مستقل برای طراحی طرح آزمایشی

Table 1- Real and coded values of independent variables for design of experimental design

فاکتور	نام	واحد	پایین ترین مقدار	بالا ترین مقدار	کد پایین	کد بالا	میانگین
Factor	Name	Units	Minimum	Maximum	Coded Low	Coded High	Mean
A	pH ایزوالکتریک Isoelectric pH		4.00	5.00	-1 ↔ 4.00	+1 ↔ 5.00	4.50
B	دما Temperature	°C	3.00	5.00	-1 ↔ 3.00	+1 ↔ 5.00	4.00
C	pH قلیایی Alkaline pH		9.00	12.00	-1 ↔ 9.00	+1 ↔ 12.00	10.50

نتایج و بحث

بررسی خواص عملکردی کینوآ با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)، انجام شد. متغیرهای مستقل مورد بررسی شامل، pH ایزوالکتریک (۴-۵) دقیقه، دمای سانتیفریوژ (۳-۵) درجه سانتی‌گراد و pH قلیایی (۹-۱۲) بود. نتایج به دست آمده از تیمارهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است. **شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوآ:** نتایج آنالیز واریانس بررسی متغیر وابسته شاخص فعالیت امولسیون نشان داد که اثر مدل معنی‌دار بود ($p < 0.001$) (جدول ۳). بر اساس آنالیز واریانس، متغیر pH ایزوالکتریک، دما

و pH قلیایی تأثیر معنی‌داری داشتند ($p < 0.001$). با توجه به نتایج به دست آمده اثر متقابل دما × pH ایزوالکتریک، pH قلیایی × pH ایزوالکتریک و pH قلیایی × دما معنی‌دار بود ($p < 0.001$). در شکل ۲، اثر متقابل تأثیر متغیرهای pH ایزوالکتریک، دما و pH قلیایی بر روی شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوآ نشان داده شده است. علاوه بر نتایج فوق تأثیر تغییرات همزمان متغیرهای دما × pH ایزوالکتریک، pH قلیایی × pH ایزوالکتریک و pH قلیایی × دما بر شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوآ معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

جدول ۲- مقادیر متغیرهای مستقل و وابسته در اجراهای مختلف

Table 2 -Values of independent and dependent variables in different runs

شماره تیمار Run	A: pH ایزوالکتریک A:Isoelectric.pH	B: دما (درجه سانتی گراد) B:Temperature(°C)	C:pH C:pH	شاخص فعالیت امولسیون (مترمربع بر گرم) Emulsion Activity Index(m ² /gr)	شاخص پایداری امولسیون (دقیقه) Emulsion Stability Index(min)
1	4.5	4	10.5	14.4	50.41
2	4.5	3	12	14.08	15.01
3	5	3	10.5	13.9	52.19
4	4	4	12	10.01	46.89
5	4.5	3	9	17.91	20.05
6	5	5	10.5	9.09	22.01
7	5	4	9	17.48	44.7
8	4.5	4	10.5	14.5	52.23
9	4.5	5	9	16.86	30.32
10	4	3	10.5	11.37	26.95
11	5	4	12	9.03	20.89
12	4.5	4	10.5	14.41	50.71
13	4.5	4	10.5	14.4	51.12
14	4.5	4	10.5	14.44	50.41
15	4.5	4	10.5	14.41	51.73
16	4	4	9	14.22	42.86
17	4	5	10.5	9.13	70.96
18	4.5	5	12	7.9	14.8

در راستای نتایج عنوان شده، مدل درجه دوم به دست آمده از نتایج پژوهش نشان داده است که با افزایش متغیر pH ایزوالکتریک شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا افزایش می‌یابد؛ اما با افزایش pH قلیایی شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا کاهش می‌یابد. نتایج بدست آمده با مشاهدات تجربی همخوانی داشت زیرا با بالا و پایین شدن حد متغیر pH قلیایی و دما شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا تغییرات محسوسی داشت. آب‌گریزی سطح یکی از شاخصه‌های مهم جهت پیش بینی ویژگی‌های عملکردی مثل خاصیت امولسیون کنندگی و پایداری آن می‌باشد و می‌تواند قطبیت محیط امولسیون را افزایش دهد [۲۸]. نتایج تحقیقات محققان نشان داد که در pH های متفاوت هیدرولیز پروتئین کینوا فعالیت امولسیون کنندگی بالاتری نسبت به کنسانتره پروتئین کینوا داشت که نشان‌دهنده توانایی پپتیدهای کوچک‌تر با وزن مولکولی کمتر در مقایسه با مولکول‌های بزرگ پروتئین در کنسانتره پروتئین کینوا است و فعالیت امولسیون کنندگی با هیدرولیز پروتئین

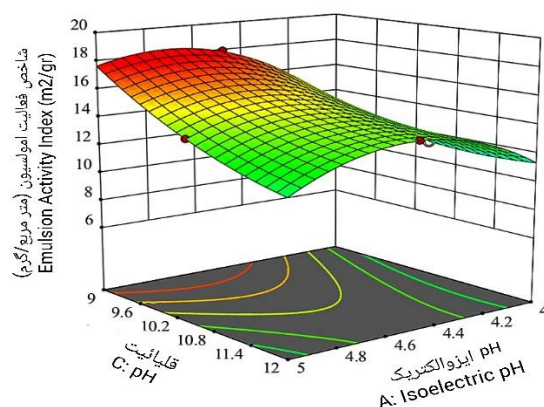
افزایش یافت. به دلیل داشتن هر دو سطح آب‌دوست و آب‌گریز و در نتیجه فعالیت سطحی بالا در ساختار هیدرولیز پروتئینی کینوا، خاصیت امولسیون کنندگی افزایش می‌یابد. با این حال، فعالیت امولسیون در صورت هیدرولیز بیش از حد پروتئین کاهش یافته و ضعیف می‌شود [۲۷]. با توجه به شکل ۲، مشخص است که با افزایش pH قلیایی، شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا کاهش پیدا کرده است. همچنین با افزایش دما از ۳ درجه سانتی‌گراد به ۵ درجه سانتی‌گراد، شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرده است یعنی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بیشترین فعالیت امولسیون مشاهده شد. تأثیر تغییرات pH ایزوالکتریک بر روی شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا را نشان می‌دهد که با افزایش pH ایزوالکتریک شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا افزایش پیدا کرده است. بیشترین شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا در حد بالایی متغیر pH ایزوالکتریک، حد متوسط دمایی و حد پایین pH قلیایی به دست آمده

بهینه‌سازی شاخص فعالیت و پایداری امولسیون پروتئین کینوا / نیلوفر همدانیان و نفیسه زمین‌دار

است. طبق گزارش محققان بر روی نمونه کنسانتره کینوا، شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا ۱۸ درصد و پایداری امولسیون ۹۰ درصد اندازه‌گیری شد [۲۷]. همچنین تحقیقاتی با نتایج مشابه بر روی نمونه‌های عدس و نخود انجام گردید که نشان داد تغییر شرایط استخراج تأثیر معنی‌داری بر شاخص فعالیت امولسیون و پایداری آن دارد [۲۹].

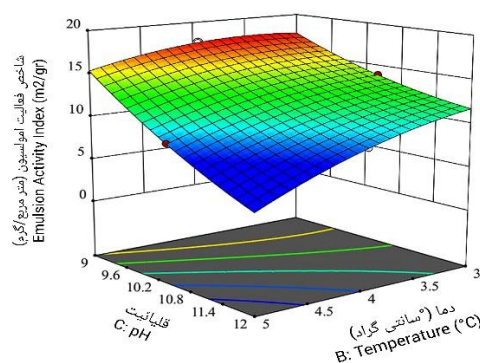
جدول ۳- آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر شاخص فعالیت امولسیون

Table 3- Variance analysis of the effect of independent variables on the emulsion activity index						
منبع Source	جمع مربعات Sum of Squares	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square	F-value	p-value	معنی دار significant
مدل Model	157.68	9	17.52	7296.84	< 0.0001	
A-pH ایزوالکتریک A-Isoelectric pH	2.84	1	2/84	1184.53	< 0.0001	
B-دما B-Temperature	25.49	1	25.49	10616.14	< 0.0001	
C-pH	80.96	1	80.96	33719.87	< 0.0001	
AB	1.65	1	1.65	687.71	< 0.0001	
AC	4.49	1	4.49	1871.85	< 0.0001	
BC	6.58	1	6.58	2740.15	< 0.0001	
A ²	27.89	1	27.89	11617.63	< 0.0001	
B ²	4.59	1	4.59	1912.50	< 0.0001	
C ²	2.70	1	2.70	1124.68	< 0.0001	
باقی مانده Residual	0.0192	8	0.0024			
عدم برازش Lack of Fit	0.0117	3	0.0039	2.58	0.1662	غیر معنی‌دار not significant
خطای خالص Pure Error	0.0075	5	0.0015			
Cor Total	157.70	17				
انحراف معیار Std. Dev.	0.0490	R ²	0.9999			
میانگین Mean	13.20	Adjusted R ²	0.9997			
ضریب تغییرات C.V. %	0.3713	Predicted R ²	0.9987			
		Adeq Precision	271.9537			



الف

a



ب

b

شکل ۲- نمودار سه بعدی اثر متقابل pH ایزوالکتریک و pH قلیایی (الف)، دما و pH قلیایی (ب)، بر روی

شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا

Figure 2- Three-dimensional diagram of the interaction of isoelectric pH and alkaline pH (a), temperature and alkaline pH (b), on the activity index of quinoa protein emulsion

شاخص پایداری امولسیون پروتئین کینوا: عوامل داخلی و خارجی بر فعالیت امولسیون و پایداری یک پروتئین تأثیر دارند. عوامل داخلی شامل شکل پروتئین، اندازه، ترکیب توالی اسیدآمین، توزیع بار خالص، ساختار (ثانویه، سوم و چهارتایی)، نسبت آب گریزی/آب دوستی و ظرفیت پروتئین‌ها برای تعامل با سایر اجزای ماتریکس غذایی است. عوامل خارجی عبارتند از pH، رطوبت، دما، قدرت یونی، آنزیم‌ها، افزودنی‌های شیمیایی و فرایند مکانیکی [۳۰]. مکانیسم اصلی تثبیت پروتئین‌ها در فصل مشترک

با توجه به موارد عنوان شده، شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا مطابق رابطه ۳ بدست آمد؛
رابطه ۳:
$$Y = -270.01 + 112.19A + 21.18B + 0.32C - 1.28AB - 1.41AC - 0.85BC - 10.11A^2 - 1.02B^2 + 0.35C^2$$

که در این رابطه Y شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا، A نماد pH ایزوالکتریک، B دمای سانتیگراد (درجه سانتی گراد)، C نماد pH قلیایی بر اساس مقادیر واقعی می‌باشد.

قطرات است که از تثبیت فضایی و الکترواستاتیکی ناشی می‌شود که به ساختار پروتئین و pH سیستم امولسیونی بستگی دارد [۲۸]. تجزیه و تحلیل آماری، آنالیز واریانس برای بررسی متغیر وابسته پایداری امولسیون نشان می‌دهد که اثر مدل معنی‌دار بود ($p < 0.0001$). (جدول ۴). بر اساس آنالیز واریانس، متغیر pH ایزوالکتریک، دما و pH قلیایی تأثیر معنی‌داری داشتند ($p < 0.0001$).

جدول ۴- آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر شاخص پایداری امولسیون

Table 4. Variance analysis of the effect of independent variables on the emulsion stability index

منبع Source	جمع مربعات Sum of Squares	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square	F-value	p-value	معنی دار significant
مدل Model	4531.00	9	503.44	864.94	< 0.0001	
A-یزوالکتریک- A-Isoelectric pH	286.44	1	286.44	492.12	< 0.0001	
B-دما B-Temperature	71.34	1	71.34	122.57	< 0.0001	
C-pH	203.41	1	203.41	349.47	< 0.0001	
AB	1376.04	1	1376.04	2364.10	< 0.0001	
AC	193.77	1	193.77	332.90	< 0.0001	
BC	27.46	1	27.46	47.17	0/0001	
A ²	125.27	1	125.27	215.22	< 0.0001	
B ²	787.29	1	787.29	1352.60	< 0.0001	
C ²	1355.46	1	1355.46	2328.74	< 0.0001	
باقی مانده Residual	4.66	8	0/5821			
عدم برازش Lack of Fit	1.88	3	0/6260	1.13	0.4219	غیر معنی دار not significant
خطای خالص Pure Error	2.78	5	0/5557			
Cor Total	4535.66	17				
انحراف معیار Std. Dev.	0.7629		R ²	0.9990		
میانگین Mean	39.68		Adjusted R ²	0.9978		
ضریب تغییرات C.V. %	1/92		Predicted R ²	0.9925		
			Adeq Precision	98.3180		

کینوا، Y که در این رابطه

می‌باشد.

جدول ۵- شرایط پیشنهادی نرم افزار برای بهینه سازی فرآیند و آزمونهای انجام شده

Table 5- Recommended conditions of the software for optimizing the process and the tests performed

نام آزمون Test name	شرایط پیشنهادی Recommended conditions	آزمون انجام شده Tests performed
شاخص فعالیت امولسیون Emulsion Activity Index	17.446	17.37±0.5 ^{ns}
شاخص پایداری امولسیون Emulsion Stability Index	43.975	43.66±0.5 ^{ns}

ns عدم معنی داری

با توجه به نتایج به دست آمده اثر متقابل دما $\times$ pH ایزوالکتریک، pH قلیایی $\times$ pH ایزوالکتریک و pH قلیایی $\times$ دما معنی دار بود ($p < 0.05$). مدل درجه دوم به دست آمده از نتایج پژوهش نشان داده است که با افزایش متغیر pH ایزوالکتریک پایداری امولسیون پروتئین کینوا کاهش می‌یابد؛ اما با افزایش دما پایداری امولسیون پروتئین کینوا افزایش می‌یابد. نتایج بدست آمده با مشاهدات تجربی همخوانی داشت زیرا با بالا و پایین شدن حد متغیر دما پایداری امولسیون پروتئین کینوا تغییرات محسوسی داشت. با توجه به شکل ۳، مشخص است که با افزایش pH قلیایی، پایداری امولسیون پروتئین کینوا ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرده است بدین معنی که بیشترین پایداری امولسیون پروتئین کینوا در نقطه ۱۰/۵ از pH قلیایی مشاهده شد. همچنین با افزایش دما از ۳ درجه سانتی‌گراد به ۵ درجه سانتی‌گراد، پایداری امولسیون پروتئین کینوا افزایش پیدا کرده است. تأثیر تغییرات pH ایزوالکتریک بر روی پایداری امولسیون پروتئین کینوا نشان می‌دهد که با افزایش pH ایزوالکتریک پایداری امولسیون پروتئین کینوا کاهش پیدا کرده است. بیشترین پایداری امولسیون پروتئین کینوا در حد بالایی متغیر دما، حد متوسط pH قلیایی و حد پایین pH ایزوالکتریک به دست آمده است. طبق تحقیقات انجام شده بر روی نمونه کنسانتره کینوا، شاخص فعالیت امولسیون پروتئین کینوا ۱۸ درصد و پایداری امولسیون ۹۰ درصد اندازه‌گیری شد [۲۷]. همچنین تحقیقاتی با نتایج مشابه بر روی نمونه‌های عدس و نخود انجام گردید که نشان داد تغییر شرایط استخراج تأثیر معنی‌داری بر شاخص فعالیت امولسیون و پایداری آن دارد [۲۹]. همسو با نتایج به دست آمده محققان گزارش کردند که پایداری امولسیون‌ها تحت

تأثیر pH قرار دارد و کاهش در پایداری امولسیون‌ها با گذشت زمان به دلیل تماس بیشتر بین مولکول‌ها و در نتیجه لخته شده و بهم پیوستن قطرات روغن به‌عنوان فاز پراکنده می‌باشد [۳۱].

بهینه‌سازی پروتئین کینوا: برای بهینه‌سازی عددی، مقادیر متغیرهای مستقل در محدوده تعریف شده و متغیرهای وابسته در حالت حداکثر قرار گرفتند و مطابق با تیمار پیشنهادی که شامل pH قلیایی ۹/۰، pH ایزوالکتریک ۵ و دمای ۴/۰۶۴ درجه سانتی‌گراد با درجه مطلوبیت ۰/۷۰۴ بود، آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد و با آزمون t-student مورد مقایسه قرار گرفت و اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($P > 0.05$). (جدول ۵).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، بهینه‌سازی خواص عملکردی فعالیت و پایداری امولسیون پروتئین کینوا با استفاده از روش سطح پاسخ انجام و پارامترهای pH ایزوالکتریک، دما و pH قلیایی به‌عنوان متغیرهای مستقل انتخاب شد. نتایج نشان داد که مدل آماری درجه دوم به‌منظور پیش‌بینی متغیرهای وابسته، قابل‌استفاده بود. تغییرات pH ایزوالکتریک تأثیر معنی‌داری بر میزان شاخص فعالیت امولسیون و پایداری آن داشت ($p \leq 0.05$). تغییرات دما تأثیر معنی‌داری بر میزان شاخص فعالیت امولسیون و پایداری آن داشت ($p \leq 0.05$). تغییرات pH قلیایی تأثیر معنی‌داری بر میزان شاخص فعالیت امولسیون و پایداری آن داشت ($p \leq 0.05$). بررسی تیمار بهینه پیشنهادی نرم‌افزار با نتایج آزمون تفاوت معنی‌دار نداشت. نتایج نشان داد پروتئین کینوا قابلیت مصرف به‌عنوان امولسیفایر در صنایع غذایی را دارد.

References

1. Smith, R., Clegg, M., & Methven, L. (2024). Review of protein intake and suitability of foods for protein-fortification in older adults in the UK. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(12), 3971-3988.
2. Parodi, A., Leip, A., De Boer, I., Slegers, P., Ziegler, F., Temme, E. H., Herrero, M., Tuomisto, H., Valin, H., & Van Middelaar, C. (2018). The potential of future foods for sustainable and healthy diets. *Nature Sustainability*, 1(12), 782-789.
3. Takefuji, Y. (2021). Sustainable protein alternatives. *Trends in Food Science & Technology*, 107, 429-431.
4. García-Parra, M., Zurita-Silva, A., Stechauner-Rohringer, R., Roa-Acosta, D., & Jacobsen, S.-E. (2020). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and its relationship with agroclimatic characteristics: A Colombian perspective. *Chilean journal of agricultural research*, 80(2), 290-302.
5. Craine, E. B., & Murphy, K. M. (2020). Seed Composition and Amino Acid Profiles for Quinoa Grown in Washington State. *Frontiers in nutrition*, 7, 126.
6. Plotnikoff, G.A., Dobberstein, L., & Raatz, S. (2023). Nutritional Assessment of the Symptomatic Patient on a Plant-Based Diet: Seven Key Questions. *Nutrients*, 15(6), 1387.
7. Kim, T.-K., Lee, M. H., Yong, H. I., Jang, H. W., Jung, S., & Choi, Y.-S. (2021). Impacts of fat types and myofibrillar protein on the rheological properties and thermal stability of meat emulsion systems. *Food Chemistry*, 346, 128930.
8. Patel, A. S., Lakshmibalasubramaniam, S., Nayak, B., & Camire, M. E. (2022). Lauric acid adsorbed cellulose nanocrystals retained the physical stability of oil-in-water Pickering emulsion during different dilutions, pH, and storage periods. *Food Hydrocolloids*, 124, 107139.
9. Keshani, M., Zamindar, N., & Hajian, R. (2020). Effect of Immersion Ohmic Heating on Thawing Rate and Properties of Frozen Tuna Fish. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16(5), 621-628.
10. Xu, B., Liu, C., Sun, H., Wang, X., & Huang, F. (2020). Oil-in-water Pickering emulsions using a protein nano-ring as high-grade emulsifiers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 187, 110646.
11. Ji, C., & Luo, Y. (2023). Plant protein-based high internal phase Pickering emulsions: Functional properties and potential food applications. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12, 100604.
12. Barati, F., Zamindar, N., & Rafiaei, S. (2024). The Study of Kinetics of Polyphenol Oxidase Inactivation in Carrot Juice by Ohmic Heating. *Iranian journal of food science and industry*, 21(153).
13. Kidane, S. W. (2021). Application of response surface methodology in food process modeling and optimization. In *Response surface methodology in engineering science*. IntechOpen.
14. Patterson, T. A., Parton, A., Langrock, R., Blackwell, P. G., Thomas, L., & King, R. (2017). Statistical modelling of individual animal movement: an overview of key methods and a discussion of practical challenges. *AStA Advances in Statistical Analysis*, 101, 399-438.
15. Carley, K. M., Kamneva, N. Y., & Reminga, J. (2004). Response surface methodology (pp. 1-26). Carnegie Mellon University, School of Computer Science, Institute for Software Research International.
16. Wilson, N., Cleghorn, C. L., Cobiac, L. J., Mizdrak, A., & Nghiem, N. (2019). Achieving healthy and sustainable diets: a review of the results of recent mathematical optimization studies. *Advances in Nutrition*, 10, S389-S403.
17. Lee, S. Y., In, J., Chung, M.-S., & Min, S. C. (2021). Microbial decontamination of particulate food using a pilot-scale atmospheric plasma jet treatment system. *Journal of Food Engineering*, 294, 110436.

18. Lee, M. H., Lee, I. Y., Chun, Y. G., & Kim, B.-K. (2021). Formulation and characterization of β -caryophellene-loaded lipid nanocarriers with different carrier lipids for food processing applications. *LWT*, 149, 111805.
19. Liu, C., Pei, R., & Heinonen, M. (2022). Faba bean protein: A promising plant-based emulsifier for improving physical and oxidative stabilities of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 369, 130879.
20. Wang, S., Yang, J., Shao, G., Qu, D., Zhao, H., Yang, L., Zhu, L., He, Y., Liu, H., & Zhu, D. (2020). Soy protein isolated-soy hull polysaccharides stabilized O/W emulsion: Effect of polysaccharides concentration on the storage stability and interfacial rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 101, 105490.
21. Chen, J., Li, X., Cao, C., Kong, B., Wang, H., Zhang, H., & Liu, Q. (2022). Effects of different pH conditions on interfacial composition and protein-lipid co-oxidation of whey protein isolate-stabilised O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, 131, 107752.
22. Huang, L., Zhao, X., Zhao, Q., Zhou, F., & Zhao, M. (2024). Recent Progress, Application, and Quality Evaluation of Plant-Based Double Emulsions in Low-Fat Foods. *Food and Bioprocess Technology*, 1-21.
23. Sharma, A., Singh, Y., Singh, G. K., Habte, A. T., & Singh, N. (2019). RETRACTED: Production of polanga methyl esters and optimization of diesel engine parameters through response surface methodology approach. In: Elsevier.
24. Xia, Q., Green, B. D., Zhu, Z., Li, Y., Gharibzadeh, S. M. T., Roohinejad, S., & Barba, F. J. (2019). Innovative processing techniques for altering the physicochemical properties of wholegrain brown rice (*Oryza sativa* L.)—opportunities for enhancing food quality and health attributes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(20), 3349-3370.
25. Lonnie, M., Laurie, I., Myers, M., Horgan, G., Russell, W. R., & Johnstone, A. M. (2020). Exploring health-promoting attributes of plant proteins as a functional ingredient for the food sector: a systematic review of human interventional studies. *Nutrients*, 12(8), 2291.
26. Chen, Kai, Min Zhang, Arun S. Mujumdar, and Haixiang Wang. 2021. 'Quinoa protein-gum Arabic complex coacervates as a novel carrier for eugenol: Preparation, characterization and application for minced pork preservation', *Food Hydrocolloids*, 120: 106915.
27. Daliri, Hesam, Raman Ahmadi, Akram Pezeshki, Hamed Hamishehkar, Maryam Mohammadi, Hossein Beyrami, Maryam Khakbaz Heshmati, and Marjan Ghorbani. 2021. 'Quinoa bioactive protein hydrolysate produced by pancreatin enzyme- functional and antioxidant properties', *LWT*, 150: 111853.
28. Krstonošić, V. S., Kalić, M. D., Dapčević-Hadnadev, T. R., Lončarević, I. S., & Hadnadev, M. S. (2020). Physico-chemical characterization of protein stabilized oil-in-water emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 602, 125045.
29. Karaca, A. C., Low, N., & Nickerson, M. (2011). Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food research international*, 44(9), 2742-2750.
30. Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Punia, S., Dhakane-Lad, J., Singh, S., ... & Kennedy, J. F. (2022). Functional characterization of plant-based protein to determine its quality for food applications. *Food Hydrocolloids*, 123, 106986.
31. Ghorbani, Mohammad, Mohammadi, Adele, Mojerabi, & Seyed Daniyal. (2021). Investigating the functional characteristics of co-precipitated proteins extracted from wastes of pomegranate and grape seeds. *New Technologies in Food Industry*, 8(3), 337-348(In Persian).