

آماده انتشار

اثر تکنیک فراصوت بر ویژگی‌های عملکردی پروتئین کنجاله فندق

مریم کاظمی زهرانی^۱، نفیسه زمین‌دار^{۲*}

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی؛ دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمندها؛ واحد اصفهان (خوراسگان)؛ دانشگاه آزاد اسلامی؛ اصفهان؛ ایران

^۲ نویسنده مسئول؛ دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی؛ دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمندها؛ واحد اصفهان (خوراسگان)؛ دانشگاه آزاد اسلامی؛ اصفهان؛ ایران

Maryam Kazemi Zahrani¹, Nafiseh Zamindar^{2*},

¹ Master Student, Department of Food Science and Technology, Institute of Agriculture, Water, Food, and Nutraceuticals, Isf.C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

² Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Institute of Agriculture, Water, Food, and Nutraceuticals, Isf.C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

سابقه و هدف: امنیت غذایی از چالش‌های اساسی جهانی است و رفع کمبود پروتئین در تغذیه به ویژه در کشورهای در حال توسعه ضروری محسوب می‌شود. پروتئین‌های گیاهی به دلیل پایداری زیست محیطی و کاهش وابستگی به منابع حیوانی، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. استخراج پروتئین از ضایعات گیاهی مانند کنجاله‌های روغنی علاوه بر کاهش هدر رفت منابع، اثرات زیست‌محیطی را نیز کم می‌کند. کنجاله فندق (*Hazelnut meal*) به عنوان یک محصول جانبی کشاورزی، می‌تواند منبعی پایدار و باکیفیت از پروتئین باشد. در این پژوهش، استخراج پروتئین از کنجاله فندق با پیش تیمار فراصوت، استخراج قلبایی و رسوب اسیدی انجام شد. ویژگی‌های عملکردی پروتئین استخراج شده بررسی گردید تا قابلیت استفاده از آن در صنایع غذایی افزایش یابد.

مواد و روش‌ها: برای استخراج پروتئین از کنجاله فندق، ابتدا فرآیند چربی‌زدایی انجام شد. در ادامه مخلوطی از کنجاله چربی‌زدایی شده و آب دیونیزه تهیه و با پیش تیمار فراصوت فرآیند شد تا آزادسازی پروتئین‌ها تسهیل شوند. pH مخلوط بر اساس مقادیر بهینه پیشنهادی نرم افزار طراحی آزمایش و استفاده از محلول هیدروکسید سدیم تنظیم شد. پس از سانتریفوژ اولیه، محلول رویی جمع‌آوری شد و با افزودن محلول اسیدکلریدریک به pH ایزوالکتریک تنظیم شد. در این مرحله، سانتریفوژ ثانویه انجام شد و رسوبات حاصل پس از شستشو، خنثی سازی و خشک کردن در خشک کن انجمادی آماده سازی شدند. آزمون‌ها با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) انجام شد. متغیرهای مستقل این پژوهش شامل pH قلبایی (۱۰ تا ۱۲)، دمای سانتریفوژ (۴ تا ۲۴ درجه سانتی گراد)، زمان (۵ تا ۲۵ دقیقه) و دما (۲۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد) حمام فراصوت و متغیرهای وابسته شامل ظرفیت جذب آب و روغن بودند. طراحی آزمایش‌ها با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت و طرح مرکب مرکزی (CCD) انجام شد که شامل ۳۸ تیمار مختلف با ۶ تکرار در نقطه مرکزی و در سطح احتمال ۵ درصد بود. به منظور اعتبارسنجی مدل و مقایسه نتایج پیش‌بینی شده با داده‌های آزمایشگاهی در نقطه بهینه، آزمون t-student مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی نتایج آنالیز واریانس برای متغیرهای وابسته نشان داد که مدل درجه دوم به صورت معنی‌داری با داده‌ها برازش یافت ($p < 0.05$). تحلیل روند تغییرات نشان داد که با افزایش زمان اعمال فراصوت تا ۱۶ دقیقه، ظرفیت جذب آب ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. همچنین، افزایش دمای فراصوت تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد موجب افزایش اولیه و سپس کاهش ظرفیت جذب آب گردید. از سوی دیگر، افزایش pH از ۱۰ تا ۱۲ منجر به افزایش قابل توجهی در ظرفیت جذب آب شد. مطابق با یافته‌ها، افزایش زمان فراصوت تا ۲۰ دقیقه موجب افزایش اولیه و سپس کاهش ظرفیت جذب روغن گردید. همچنین، افزایش دمای فراصوت تا ۳۶ درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش اولیه و سپس کاهش جزئی در ظرفیت جذب روغن شد. علاوه بر این، افزایش pH تا ۱۱/۴ ابتدا باعث کاهش و سپس افزایش جزئی ظرفیت جذب روغن گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد پیش‌ تیمار فراصوت موجب بهبود ظرفیت جذب آب و روغن پروتئین کنجاله فندق شده است. به منظور بهینه‌سازی عددی، مقادیر متغیرهای مستقل در بازه تعریف شده تنظیم شدند و متغیرهای وابسته با هدف دستیابی به حداکثر مقدار ممکن مورد بررسی قرار گرفتند. در شرایط بهینه، فرآیند شامل دمای فراصوت ۲۳/۸۴۰ درجه سانتی‌گراد، زمان فراصوت ۲۵ دقیقه، دمای سانتریفوژ ۴/۰۰۱ درجه سانتی‌گراد و pH برابر با ۱۲، مقدار ظرفیت نگهداری آب (۱/۴۸۱ گرم آب بر گرم پروتئین) و جذب روغن (۳/۷۳۹ گرم روغن بر گرم پروتئین)، تعیین شد. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گرفت. تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون t-student نشان داد، بین نتایج پیش‌بینی شده توسط مدل و مقادیر آزمایشی در شرایط بهینه اختلاف معناداری مشاهده نشد. این یافته‌ها صحت و دقت مدل پیشنهادی را تأیید می‌کند.

کلمات کلیدی: پروتئین کنجاله فندق، بهینه‌سازی، ظرفیت جذب روغن، ظرفیت جذب آب

مقدمه

با افزایش آگاهی جهانی نسبت به ضرورت تولید مواد غذایی پایدار، استفاده بهینه از ضایعات غذایی به عنوان رویکردی مؤثر در ایجاد ارزش افزوده، در حوزه‌های متنوعی چون صنایع غذایی، تولید خوراک دام، محصولات آرایشی و بهداشتی، داروسازی و همچنین به عنوان مواد اولیه برای فرآورده‌های طبیعی نیز مورد توجه قرار گرفته است (۱). در زمینه ضایعات مبتنی بر منابع حیوانی، همچون پسماندهای حاصل از صنایع آبزیان، گوشت و لبنیات، تحقیقات گسترده‌ای انجام گرفته است. این نوع ضایعات، به دلیل محتوای پروتئینی بالا و امکان استخراج صنعتی پروتئین و سایر مواد مغذی از آن‌ها به عنوان منابعی با پتانسیل ارزش افزوده قابل توجه شناخته می‌شوند. از سوی دیگر، ضایعات کشاورزی و فرآورده‌های جانبی گیاهی، اگر چه حاوی غلظت پایین‌تری از اسیدهای آمینه ضروری نسبت به منابع حیوانی هستند، اما به دلیل مقرون به صرفه بودن و سازگاری بیشتر با محیط زیست، به عنوان گزینه‌ای پایدار و اقتصادی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲).

صنعت غذایی جهانی با چالش جدی در استفاده بهینه از منابع در عین کاهش تولید ضایعات و اثرات زیست محیطی روبروست. در این راستا، محصولات جانبی کشاورزی و مواد زائد می‌تواند فرصت مناسبی برای ایجاد محصولات با ارزش افزوده فراهم کند و در عین حال اصول پایداری و اقتصاد دایره‌ای را تقویت نماید. جداسازی پروتئین از کنجاله‌های حاصل از صنعت روغن به دلیل پتانسیل این پروتئین‌های گیاهی برای تبدیل شدن به محصولات جانبی با ارزش، اهمیت زیادی دارد. این پروتئین‌ها، از نظر تغذیه‌ای کامل، به راحتی قابل هضم، غیرسمی و با ویژگی‌های کاربردی گسترده در صنایع مختلف هستند و دارای اثرات مثبت

اقتصادی و زیست محیطی قابل توجهی می باشند. به طور خاص، کنجاله فندق که به عنوان محصول جانبی از صنعت روغن فندق به دست می آید، منبعی غنی از پروتئین بوده و به عنوان گزینه ای جذاب برای تولید پروتئین های ایزوله مطرح شده است (۳).
فندق (*Corylus avellana L.*) متعلق به خانواده *Betulaceae*، یکی از ارقام مهم آجیل از نظر تغذیه و سلامت با مقدار محتوای روغن ۶۰ درصد و پروتئین ۳۵-۴۱ درصد، عمدتاً از گلوبولین S₁₁ و ویسیلین S₇ به عنوان دو بخش اصلی با وزن مولکولی ۵۸-۶۰ کیلو دالتون و ۵۰-۵۱ کیلو دالتون تشکیل شده است (۴). از سوی دیگر، محتوای پروتئین کنجاله فندق بدون چربی پس از استخراج روغن با پرس سرد در محدوده ۳۵ تا ۴۱ درصد است (۵). بنابراین، محتوای پروتئین بالای کنجاله فندق نشان می دهد که یک منبع پروتئین گیاهی بالقوه است (۶). علاقه به استفاده از پروتئین های گیاهی به عنوان اجزای عملکردی در غذاها به دلیل تمایل مشتری به فرمولاسیون های ساده و عاری از افزودنی های مصنوعی افزایش یافته است (۴). کنجاله فندق حاصل از استخراج روغن به روش پرس سرد با کنجاله های به دست آمده از آفتابگردان، دانه کدو تنبل، دانه کتان، کنجد، بادام، اسپند و ماکادامیا مقایسه شده که بر اساس محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی آن، پس از اسپند و آفتابگردان در رتبه سوم قرار گرفت (۷).

ساختار فیزیکوشیمیایی و خواص عملکردی پروتئین ها به شکل مستقیم تحت تأثیر عوامل خارجی و عوامل ذاتی پروتئین ها مانند اندازه و ساختار مولکولی و شرایط اعمال شده در طول تولید، فرآوری و ذخیره سازی است. تأثیر عوامل خارجی مانند دما، قدرت یون، pH و نوع حلال بر روی خواص عملکردی پروتئین ها در علم مواد غذایی و پروتئین مورد مطالعه قرار گرفته است (۴ و ۸ و ۹). خواص رئولوژیکی و عملکردی کنسانتره پروتئین فندق توسط سایر محققین مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد که کنجاله فندق بدون چربی برای استفاده به عنوان ماده تشکیل دهنده در صنایع غذایی مانند فرآیند پخت کیک مناسب است (۱۰ و ۱۱). روش هایی که می توان برای خالص سازی پروتئین کنجاله مورد استفاده قرار داد شامل رسوب الکلی، و محلول قلیایی با رسوب ایزوالکتریک است. در مطالعات مختلف، تأثیر روش های خالص سازی بر ویژگی های عملکردی پروتئین ها مورد بررسی قرار گرفته است (۸ و ۱۲ و ۱۳). خواص عملکردی پروتئین ها در فرمولاسیون محصولات غذایی و فرآوری مواد غذایی مهم است. برخی از خواص مهم شامل ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت اتصال چربی، امولسیون پذیری، ژل شدن و ظرفیت کف کنندگی می باشند این خواص تعیین کننده مناسب بودن پروتئین برای استفاده در فرآوری مواد غذایی است. پروتئین با ظرفیت جذب آب و ظرفیت جذب روغن بالا برای گوشت، نان و سوسیس مناسب است (۸ و ۱۴).

حمام فراصوت در فرآیندهای صنایع غذایی مانند استخراج، استریل کردن، گاززدایی، امولسیون کردن، خشک کردن، فیلتراسیون و افزایش اکسیداسیون استفاده می شود. اولتراسونیک با شدت بالا توسط ارتعاش پروب اولتراسوند تولید می شود که می تواند انرژی مافوق صوت را به محیط حلال یا مایع منتقل کند و باعث تشکیل حباب شود. حباب ها با رسیدن به اندازه ناپایدار خود فرو می ریزند و سپس اثر کاویتاسیون رخ می دهد. اثر کاویتاسیون که شامل آزاد شدن انرژی به اطراف می شود، می تواند اختلال دیواره سلولی را افزایش داده و در نتیجه موجب تسهیل استخراج پروتئین از سلول های گیاهی می شود. با این حال، شرایط استخراج اعمال شده مانند دامنه اولتراسونیک و دمای استخراج ممکن است بر خواص عملکردی پروتئین استخراج شده تأثیر بگذارد (۱۵ و ۱۶). تأثیرات روش فراصوت بر اصلاح پروتئین به لحاظ ساختاری، عملکردی و شیمیایی به اثبات رسیده است (۱۷ و ۱۸ و ۱۹). اگرچه استخراج

با کمک اولتراسونیک برای استخراج روغن فندق استفاده شده است (۱۵)، اما بررسی و استفاده از پروتئین استخراج شده از کنجاله بدون چربی فندق، کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. مطالعات پیشین عمدتاً بر ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و عملکردی روغن فندق متمرکز بودند، اطلاعات در مورد تأثیر شرایط استخراج بر خواص عملکردی پروتئین کنجاله فندق بدون چربی هنوز محدود است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر اولتراسونیک بر خصوصیت ظرفیت جذب روغن و آب پروتئین کنجاله بدون چربی فندق انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد

کنجاله فندق آذرشهر از شرکت امید تجارت ایرانیان، واقع در استان تهران، تهیه و برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. کلیه حلال‌ها و مواد شیمیایی به کار رفته شامل حلال هگزان برای چربی‌گیری، هیدروکسید سدیم و اسیدکلریدریک با درجه آزمایشگاهی به ترتیب از شرکت‌های معتبر داخلی مجللی و قطران شیمی تهیه شدند. برای اندازه‌گیری میزان جذب روغن از روغن مایع آفتابگردان (لادن، ایران) استفاده گردید.

آماده‌سازی آرد چربی‌گیری شده از کنجاله فندق

در راستای بهبود فرایند استخراج و افزایش راندمان، ابتدا کنجاله‌ها با استفاده از آسیاب خانگی (مدل MJ-176NH ناسیونال، ژاپن) آسیاب شده و از الک با مش ۴۰ عبور داده شدند تا آردی با اندازه ذرات یکنواخت به دست آید. آرد حاصل به منظور چربی‌زدایی به نسبت وزنی- حجمی ۱ به ۶ با نرمال هگزان مخلوط شد و طی مدت دو ساعت در دمای محیط توسط شیکر میله‌ای (نورتجهیز، ایران)، به طور مداوم همزده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی فیلتر و در دمای محیط (۲۰ درجه سانتی‌گراد) خشک شد. پس از این مرحله آرد بدون چربی کنجاله فندق آماده گردید. به منظور حفظ پایداری و جلوگیری از تغییرات ترکیبی، آرد چربی‌زدایی شده خشک در کیسه‌های زیپ‌دار پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و تا زمان انجام آزمایش در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد (DDNRF 188، پارس، ایران)، نگهداری شد (۱۵).

استخراج پروتئین

در فرایند استخراج پروتئین از کنجاله فندق، ابتدا پیش‌ تیمار فراصوت با توان ثابت انجام شد و سپس فرآیندهای استخراج قلیایی و رسوب اسیدی برای جداسازی پروتئین به کار گرفته شدند. متغیرهای مستقل پژوهش در جدول ۱ ارائه شده‌اند

پیش‌ تیمار فراصوت

به منظور بهبود کارایی و تسریع فرآیند استخراج پروتئین از کنجاله فندق و ایجاد اختلال در بافت سلولزی، از امواج فراصوت به عنوان پیش‌ تیمار استفاده گردید. در ابتدا مقدار مشخصی از آرد چربی‌زدایی شده (۲۰ گرم) به داخل ظرف مخصوص (بطری شیشه‌ای درب دار، simax، چک) منتقل شده و سپس با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۲ (وزنی-حجمی) مخلوط گردید (۲۰). محتوای داخل ظروف آماده شده مطابق جدول طراحی آزمایش (۲) تحت تأثیر امواج فراصوت با زمان‌ها و دماهای از پیش تعیین شده قرار گرفتند. بدین منظور از دستگاه فراصوت (مدل PARSONIC 15s، پارس نهند، ایران) با توان ثابت حداکثر ۲۰۰ وات و فرکانس

۲۸ کیلوهرتز استفاده شد. دمای حمام فراصوت (مطابق جدول ۲ طراحی آزمایش) در طول فرآیند با استفاده از یخ کنترل شد. استخراج قلیایی به همراه ترسیب اسیدی بلافاصله بعد از انجام پیش تیمار فراصوت انجام شد.

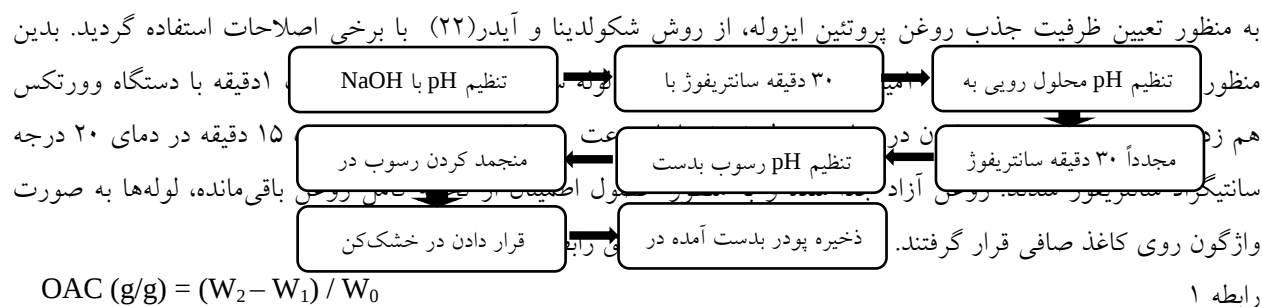
استخراج ایزوله پروتئین به روش قلیایی-رسوب اسیدی

استخراج ایزوله پروتئین به روش قلیایی-رسوب اسیدی براساس فلوچارت (شکل ۱) و روش سن و قهوه چی (۲۰۲۰) با برخی تغییرات انجام گردید و از دستگاه سانتریفوژ (PIT320R، پل ایده آل تجهیز، ایران) و خشک کن انجمادی (FD-5005-HS-BT، دنا، ایران) استفاده شد (۲۰).

شکل ۱- استخراج کنسانتره پروتئین به روش قلیایی-رسوب اسیدی

Figure 1- Extraction of protein concentrate by alkaline-acid precipitation method

ظرفیت جذب روغن (Oil Absorption Capacity)



در رابطه بالا W_0 جرم پودر ایزوله پروتئین (گرم)، W_1 جرم ایزوله پروتئین خشک و لوله (گرم)، W_2 جرم لوله با ایزوله پروتئین و روغن جذب شده (گرم) می باشد.

ظرفیت جذب آب (Water Absorption Capacity)

برای تعیین ظرفیت جذب آب از روش سن و قهوه چی (۲۰)، با تغییرات جزئی استفاده شد. بدین منظور، یک گرم پروتئین استخراج شده درون لوله سانتریفوژ توزین شد و ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن کامل با ورتکس، نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفت و سپس سوسپانسیون به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۱۷۵ دور بر دقیقه و در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد. مایع رویی جدا شده و لوله حاوی رسوب بعد از ۱۰ دقیقه مجدداً توزین شد. ظرفیت نگهداری آب به عنوان گرم آب جذب شده در هر گرم پودر ایزوله پروتئین استخراج شده مطابق با رابطه ۲ محاسبه شد.

$$WAC = (W_2 - W_1) / W_0$$

رابطه ۲

در رابطه فوق W_0 جرم ایزوله پروتئین (گرم)، W_1 جرم پروتئین خشک و لوله (گرم)، W_2 جرم پروتئین مرطوب و لوله (گرم) می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

روش سطح پاسخ (Response Surface Methodology) به عنوان ابزاری مؤثر و قدرتمند برای بهینه‌سازی فرآیندهای شیمیایی و غذایی، به ویژه در شرایطی که چندین متغیر مستقل بر پاسخ مورد نظر تأثیر می‌گذارند، بسیار حائز اهمیت است. در این پژوهش، از نرم افزار Design Expert نسخه ۱۱ و روش سطح پاسخ به منظور بررسی روابط میان متغیرهای مستقل زمان و دمای حمام فراصوت، دمای سانتریفوژ و pH قلیایی و پاسخ‌های ظرفیت جذب روغن و آب، رسم نمودارهای سه بعدی و انجام بهینه‌سازی فرآیند استفاده شد. آزمایش‌ها براساس طرح مرکب مرکزی (Central Composite Design) طراحی و شامل ۳۸ تیمار با ۶ تکرار در نقطه مرکزی و ۲ تکرار در نقاط محوری بود. متغیرهای مورد مطالعه و مقادیر آن‌ها بر اساس مطالعات اولیه انتخاب گردید (جدول ۱). برای مدل‌سازی فرآیند از مدل چند جمله‌ای درجه دوم استفاده گردید که به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad \text{رابطه ۳}$$

در این رابطه $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ برای عرض از مبدأ، اثرات خطی، درجه دوم، اثرات متقابل و متغیرهای مستقل هستند. برای بررسی ارزیابی و تأیید صحت مدل و تأثیر متغیرها، از آزمون عدم برازش، ضریب تغییرات (Coefficient of Variation)، ضریب تبیین (R^2)، ضریب تبیین اصلاح شده ($\text{adj-}R^2$) و مقدار p در سطح اطمینان ۹۵ درصد بهره گرفته شد. برای تعیین شرایط بهینه جذب روغن، روش بهینه‌سازی عددی با هدف به حداکثر رساندن میزان جذب روغن پروتئین از کنجاله فندق مورد استفاده قرار گرفت. برای اعتبارسنجی مدل پیشنهادی، مقادیر جذب روغن پیش‌بینی شده با مقادیر تجربی به دست آمده در شرایط بهینه مقایسه گردید. استخراج پروتئین مطابق شرایط بهینه انجام گردید و خواص عملکردی آن با داده‌های پیش‌بینی شده در ۳ تکرار و تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایشگاهی از طریق آزمون T-Student در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها برای بررسی معناداری اثرات متغیرها صورت پذیرفت.

جدول ۱- مقادیر واقعی و کددار متغیرهای مستقل مورد استفاده برای طراحی تجربی استخراج پروتئین کنجاله فندق

Table 1 - Actual and coded values of independent variables used for experimental design of hazelnut meal protein extraction

فاکتور	نام	پایین‌ترین مقدار	بالا‌ترین مقدار	کد پایین	کد بالا	میانگین	انحراف معیار
Factor	Name	Minimum	Maximum	Coded Low	Coded High	Mean	Std. Dev.
A	دمای سانتریفوژ (درجه سانتیگراد) Centrifuge temperature (°C)	4	24	-1 ↔ 4	+1 ↔ 24	14	7.35
B	زمان حمام فراصوت (دقیقه) Ultrasonic bath time (min)	5	25	-1 ↔ 5	+1 ↔ 25	15	7.35
C	دمای حمام فراصوت (درجه سانتیگراد) Ultrasonic bath temperature (°C)	20	40	-1 ↔ 20	+1 ↔ 40	30	7.35
D	pH قلیایی Alkaline pH	10	12	-1 ↔ 10	+1 ↔ 12	11	0.7352

نتایج و بحث

بازده نهایی استخراج، ۲۲/۱۵ درصد از وزن نمونه اولیه بود. آنالیز ترکیب شیمیایی نشان داد که نمونه نهایی حاوی ۸۲/۶ درصد پروتئین بر پایه وزن خشک بود، محصول با این مقدار پروتئین در دسته ایزوله پروتئین قرار می‌گیرد (۲۱).

بررسی تأثیر متغیرهای مستقل بر بهینه‌سازی خواص عملکردی پروتئین کنجاله فندق

مقادیر تجربی حاصل از انجام ۳۸ تیمار شامل ۶ تکرار در نقطه مرکزی و ۲ تکرار در نقاط محوری در جدول (۲) نشان داده شده است.

جدول ۲- طرح آزمایشی مرکب مرکزی (CCD) برای تعیین ظرفیت جذب روغن و آب پروتئین کنجاله فندق به کمک فراصوت

Table 2 - Central composite design (CCD) for determining the oil and water absorption capacity of hazelnut meal protein using ultrasound

تیمار	دمای سانتریفوژ (°C)	زمان حمام فراصوت (دقیقه)	دمای حمام فراصوت (°C)	pH	ظرفیت جذب روغن (گرم/گرم)	ظرفیت جذب آب (گرم/گرم)
Run	Centrifuge temperature(°C)	Ultrasound bath time(min)	Ultrasound bath temperature(°C)	pH	Oil absorption Capacity(g/g)	Water absorption Capacity(g/g)
1	14	15	30	11	3.44	0.81
2	14	15	30	10	3.49	0.61
3	24	25	20	12	2.91	1.4
4	24	5	40	10	3.81	0.64
5	14	15	30	12	3.29	1.22
6	14	15	30	10	3.71	0.67
7	4	25	20	10	3.9	0.91
8	14	15	30	11	3.24	0.89
9	14	5	30	11	2.82	1.18
10	14	15	30	11	3.47	0.85
11	24	25	40	10	3.58	0.51
12	14	15	20	11	2.9	0.75
13	14	15	30	11	3.45	0.91
14	24	15	30	11	3.36	0.85
15	4	5	40	10	2.84	0.5
16	4	25	20	12	3.37	1.43
17	14	5	30	11	2.66	1.06
18	24	5	40	12	3.35	1.52
19	4	15	30	11	3.37	0.8
20	24	15	30	11	3.56	0.94
21	4	5	20	12	2.68	1.45
22	24	5	20	10	2.48	0.62
23	14	25	30	11	3.35	0.96
24	4	5	20	10	2.76	0.92
25	14	15	30	11	3.11	0.84
26	24	5	20	12	2.39	1.6
27	14	15	20	11	3.08	0.68
28	4	25	40	12	3.16	0.98
29	14	15	30	11	3.45	0.91
30	4	15	30	11	3.57	0.88
31	24	25	20	10	2.93	0.44
32	14	15	30	12	3.49	1.34

0.48	3.48	11	40	15	14	33
1.06	3.15	11	30	25	14	34
0.49	3.68	10	40	25	4	35
0.99	2.79	12	40	5	4	36
1.21	3.45	12	40	25	24	37
0.53	3.28	11	40	15	14	38

جدول ۳- تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) تأثیر متغیرهای مستقل بر ظرفیت جذب روغن و آب پروتئین کنجاله فندق به کمک فراصوت

Table 3- Analysis of variance (ANOVA) of the effect of independent variables on the oil and water absorption capacity of hazelnut meal protein using ultrasound

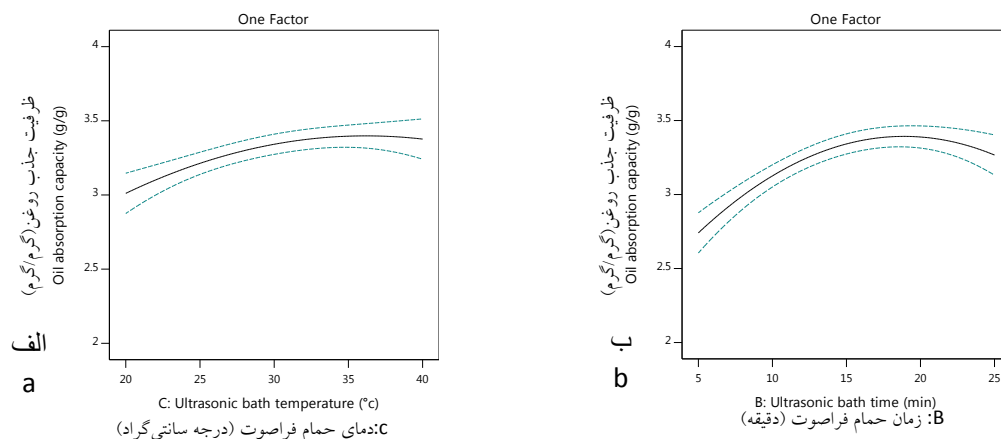
ظرفیت جذب آب Water absorption Capacity		ظرفیت جذب روغن Oil absorption Capacity		درجه آزادی df	منبع Source
ضرایب معادله واقعی Actual Equation coefficients	مجموع مربعات Sum of Squares	ضرایب معادله واقعی Actual Equation coefficients	مجموع مربعات Sum of Squares		
10.40829***	3.57	19.74019***	4.95	14	مدل
-0.128925 ^{ns}	0.0072	-0.101030 ^{ns}	0.0218	1	A - دمای سانتیفراد
-0.049197***	0.0594	0.200078***	1.38	1	B - زمان حمام فراصوت
0.145824***	0.2761	0.145856***	0.6698	1	C - دمای حمام فراصوت
-2.20828***	2.33	-3.50811**	0.1882	1	pH- D
-0.000481**	0.0371	-0.001600***	0.4096	1	AB
0.000981***	0.1541	0.002550***	1.04	1	AC
0.009312***	0.1388	0.000750 ^{ns}	0.0009	1	AD
-0.000031 ^{ns}	0.0002	-0.001300**	0.2704	1	BC
-0.001312 ^{ns}	0.0028	-0.001000 ^{ns}	0.0016	1	BD
-0.002688*	0.0116	-0.005000 ^{ns}	0.0400	1	CD
0.000220 ^{ns}	0.0025	0.001321*	0.0885	1	A ²
0.002195***	0.2445	-0.003379***	0.5792	1	B ²
-0.002355***	0.2812	-0.001479*	0.1110	1	C ²
0.114533***	0.0665	0.162073**	0.1332	1	D ²
	0.0575		0.3600	23	باقیمانده
ns	0.0169	ns	0.0952	10	عدم برازش
	0.0406		0.2648	13	خطا محض
	3.63		5.31	37	کل
0.9841		0.9322			R ²
0.9745		0.8909			R ² Adjusted
0.9535		0.7935			R ² Predicted
5.46		3.86			% C.V.
35.7161		18.5229			Adeq Precision

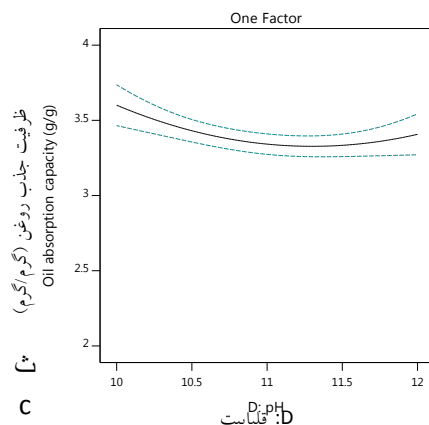
(***: $p < 0.001$), (**: $p < 0.01$), (*: $p < 0.05$), (^{ns}: عدم معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد)

بررسی نتایج ظرفیت جذب روغن

جدول (۳) نتایج مربوط به آنالیز واریانس متغیرهای مستقل شامل دمای سانتریفوژ، دمای حمام فراصوت، زمان حمام فراصوت و pH قلیایی را بر ظرفیت جذب روغن و آب ایزوله پروتئین کنجاله فندق ارائه می‌دهد. مقدار p-value برای مدل درجه دوم کمتر از ۰/۰۰۱ به دست آمده است که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن بسیار بالای مدل می‌باشد. همچنین، مقدار p-value برای آزمون عدم برازش مدل برابر با ۰/۸۸۳۲ است که بیانگر آن است که مدل به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای به داده‌ها برازش دارد و عدم برازش آن معنی‌دار نیست. ضریب تبیین (R^2) مدل برابر با ۰/۹۳۲۲ است که نشان‌دهنده تناسب بسیار بالای مدل با داده‌ها می‌باشد. همچنین، ضریب تبیین تعدیل‌شده ($R^2_{adjusted}$) و ضریب تبیین پیش‌بینی‌شده ($R^2_{predicted}$) به ترتیب برابر با ۰/۸۹۰۹ و ۰/۷۹۳۵ می‌باشند. این مقادیر نشان‌دهنده دقت بالای مدل در برازش داده‌ها و همچنین قدرت تعمیم آن به داده‌های جدید است. هرچقدر که مقادیر این ضرایب به ۱ نزدیک‌تر باشند، دقت و توانایی پیش‌بینی مدل افزایش می‌یابد. علاوه بر این، مقدار Adequate Precision برای این مدل برابر با ۱۸/۵۲۲۹ است که به‌طور چشمگیری بالاتر از حد مطلوب (۴) می‌باشد، و این پارامتر نشان‌دهنده کارایی بسیار بالای مدل در پیش‌بینی پاسخ‌ها است. در نهایت، ضریب تغییرات (C.V. %) معادل ۳/۸۶٪ است که نشان‌دهنده پراکندگی کم و همگنی بالای داده‌ها در این مدل است. این نتایج نشان‌دهنده توانایی بالای مدل در برازش داده‌ها و پیش‌بینی دقیق پاسخ‌ها می‌باشد (۲۳).

مطابق جدول ۳، اثر تک عاملی متغیرهای مستقل زمان و دمای حمام فراصوت و pH معنی‌دار هستند ($p < 0.05$). اثر متقابل دمای سانتریفوژ × زمان حمام فراصوت، دمای سانتریفوژ × دمای حمام فراصوت، بر ظرفیت جذب روغن ایزوله پروتئین کنجاله فندق بسیار معنی‌دار بوده‌اند ($p < 0.0001$). همچنین اثر متقابل زمان حمام فراصوت × دمای حمام فراصوت و اثر درجه دوم متغیرهای زمان و دمای حمام فراصوت، دمای سانتریفوژ و pH قلیایی نیز معنی‌دار بوده‌اند ($p < 0.05$). اثر هر یک از متغیرهای مستقل زمان حمام فراصوت و دمای حمام فراصوت و pH قلیایی بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق در شکل (۲) نشان داده شده است.





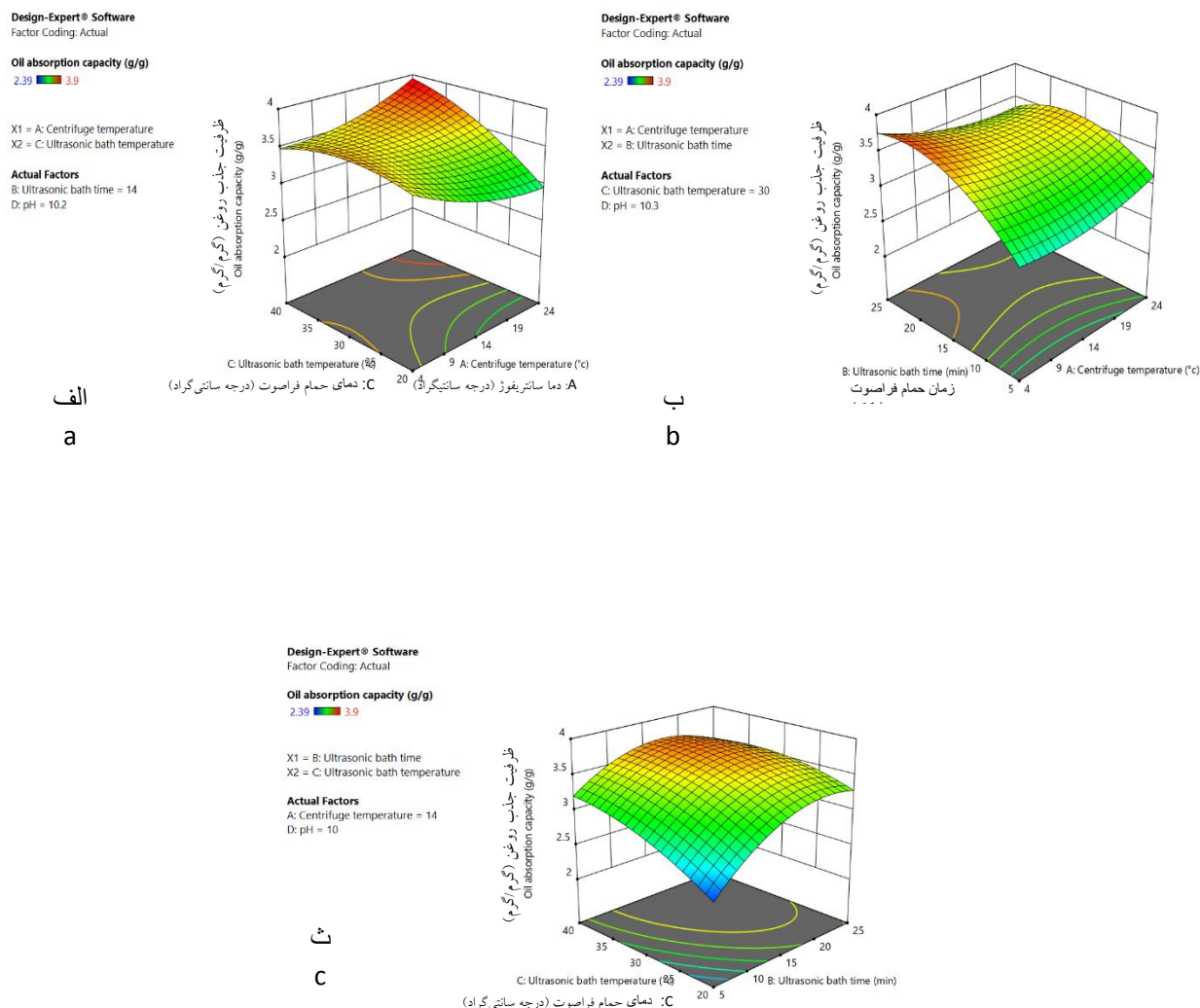
شکل ۲- اثر تک عاملی دما (الف) و زمان (ب) حمام فراصوت و pH قلیایی (ث) بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق
Figure 2 - Single factor effect of ultrasonic bath temperature (a) and time (b), and alkaline pH (c) on the oil absorption capacity of hazelnut meal protein

اثر دمای حمام فراصوت بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق در شکل (۲-الف) نشان داده شده است. با افزایش دمای حمام فراصوت از ۲۰ تا ۳۶ درجه سانتیگراد ظرفیت جذب روغن به طور معنی داری افزایش یافت. لی و همکاران (۲۴) گزارش کردند که عملیات حرارتی باعث شکسته شدن پیوندهای غیرکوالانسی میان مولکولهای پروتئین، از جمله پیوندهای هیدروژنی و تعاملات آبگریز، می شود. در نتیجه، ساختار فضایی پروتئین باز شده و تعامل آن با مولکولهای آب افزایش می یابد. همزمان، محتوای مارپیچ تصادفی در پروتئین بیشتر می شود. همچنین، نفوذپذیری مولکولهای آب به درون حفره های پروتئینی افزایش یافته و ظرفیت جذب آب در پروتئین ها بهبود می یابد.

اثر زمان فراصوت بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق در شکل (۲-ب) نشان داده شده است. براساس نتایج، افزایش زمان فراصوت از ۵ تا ۲۰ دقیقه باعث افزایش معنی دار ظرفیت جذب روغن شد. با افزایش مدت زمان تیمار اولتراسونیک، ساختار فضایی پروتئین دچار تغییراتی می شود که منجر به آشکار شدن باقی مانده های اسید آمینه ی آبگریز بیشتری می گردد. این فرآیند موجب افزایش آبگریزی سطحی پروتئین می شود. امواج اولتراسونیک قادرند پیوندهای هیدروژنی، برهم کنش های الکترواستاتیک و نیروهای هیدراتاسیون میان مولکولهای پروتئینی را تضعیف یا تخریب کنند، که این امر منجر به آشکار شدن گروه های آبگریز مدفون درون ساختار داخلی پروتئین می گردد (۲۵).

اثر pH بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق در شکل (۲-ث) نشان داده شده است. براساس نمودار با افزایش pH از ۱۰ تا ۱۲، ظرفیت جذب روغن مقداری کاهش یافته است. ویتنا گاماچ و همکاران (۲۶) اظهار داشتند که افزایش نسبت اسیدهای آمینه هیدروفوبیک (آبگریزی) در شرایط pH بالا، به طور تئوری می تواند منجر به تعاملات قوی تر بین پروتئین ها و لیپیدها شود. این تعاملات به دلیل پیوند میان زنجیره های آلیفاتیک موجود در لیپیدها و زنجیره های جانبی غیرقطبی اسیدهای آمینه شکل می گیرد و در نتیجه، ظرفیت نگهداری روغن در پروتئین افزایش می یابد. همچنین قربانی و همکاران (۲۷) بیان کردند فراتر از pH ایزوالکتریک، افزایش تدریجی ظرفیت جذب آب و روغن مشاهده شده که ممکن است ناشی از تغییر در ترکیب پروتئین باشد که مکان های اتصال آب، قطبیت پروتئین، پتانسیل زتا، حلالیت و آبگریزی سطح بیشتری را در معرض دید قرار می دهد. با این وجود، برخی مطالعات نشان داده اند که هنگامی که ساختار پروتئین تغییر کند، بار الکتریکی افزایش یابد یا حلالیت بیش از حد شود، شرایط قلیایی می تواند تأثیری معکوس داشته و موجب کاهش ظرفیت جذب روغن در پروتئین شود. در پژوهشی دیگر نگ و

همکاران (۲۸) در بررسی‌های آنالیز SDS- PAGE دریافتند که با افزایش غلظت NaOH، ظرفیت جذب روغن محلول پروتئینی کاهش می‌یابد. این کاهش احتمالاً ناشی از تخریب ساختار پروتئین و کاهش خاصیت هیدروفوبیک سطحی آن است. اثرات متقابل متغیرهای مستقل بر ظرفیت جذب روغن ایزوله پروتئین کنجاله فندق به ترتیب در شکل (۳) نشان داده شده‌اند.



شکل ۳- اثر متقابل متغیرهای مستقل بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق

Figure 3 - Interaction effect of independent variables on oil absorption capacity of hazelnut meal protein

در شکل (۳-الف) نمودار نشان می‌دهد، در شرایط زمان ثابت حمام فراصوت ۱۴ دقیقه و pH ثابت ۱۰/۲، افزایش دمای سانتریفوژ در دمای پایین حمام فراصوت باعث کاهش جذب روغن می‌شود، و افزایش دمای سانتریفوژ در دمای بالای حمام فراصوت باعث افزایش معنی‌دار جذب روغن شده است. با افزایش هر دو متغیر، ظرفیت نگهداری روغن ابتدا کاهش یافت و سپس در مقادیر بالاتر افزایش پیدا کرد. شیب زیاد منحنی بیانگر تأثیر قابل توجه و معنی‌دار دمای حمام فراصوت بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق می‌باشد. بیشترین ظرفیت جذب روغن پروتئین ۳/۹۴ (گرم روغن / گرم پروتئین) در دمای سانتریفوژ ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دمای حمام فراصوت ۴۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شده است.

در شکل (۳-ب)، نمودار نشان می‌دهد که در دمای ثابت حمام فراصوت ۳۰ درجه سانتی‌گراد و pH ثابت ۱۰/۳، در زمان‌های کمتر حمام فراصوت، افزایش دمای سانتریفوژ باعث افزایش جذب روغن شده است، در حالی که در زمان‌های بالا، افزایش دمای سانتریفوژ باعث کاهش جذب روغن شده است. اما با افزایش زمان حمام فراصوت از ۵ تا ۲۵ دقیقه و دمای سانتریفوژ ۴ تا ۸ درجه سانتی‌گراد ظرفیت جذب روغن به طور معنی‌داری افزایش یافته است. شیب نسبتاً زیاد منحنی نشان‌دهنده تأثیر قابل توجه و معنی‌دار زمان حمام فراصوت بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق می‌باشد. بیشترین ظرفیت جذب روغن پروتئین ۳/۷۹ (گرم روغن / گرم پروتئین) در زمان حمام فراصوت ۲۰ دقیقه و دمای سانتریفوژ ۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده شده است.

نمودار شکل (۳-ج)، نشان می‌دهد که در شرایط دمای سانتریفوژ ثابت ۱۴ درجه سانتی‌گراد و pH ثابت ۱۰، در دمای پایین فراصوت، افزایش زمان حمام فراصوت منجر به افزایش اندک ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق شده است، در حالی که افزایش دمای حمام فراصوت در زمان حمام فراصوت ۱۱ تا ۲۱ دقیقه باعث افزایش زیاد ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق شده است. به طور کلی افزایش هم‌زمان دو عامل باعث افزایش معنی‌دار جذب روغن شده است، اما افزایش بیش از حد هر دو عامل منجر به کاهش ظرفیت جذب روغن گردید. شیب نسبتاً ملایم منحنی نشان‌دهنده تأثیر متغیرهای زمان حمام فراصوت و دمای حمام فراصوت بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق می‌باشد. بیشترین ظرفیت جذب روغن پروتئین ۳/۷۱ (گرم روغن / گرم پروتئین) در زمان حمام فراصوت ۱۷ دقیقه و دمای حمام فراصوت ۳۶ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد.

براساس نتایج جدول ضرایب، مدل مناسب برای پیش‌بینی تأثیر متغیرهای مستقل بر ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق براساس مقادیر واقعی به صورت رابطه ۴ تعریف شده است.

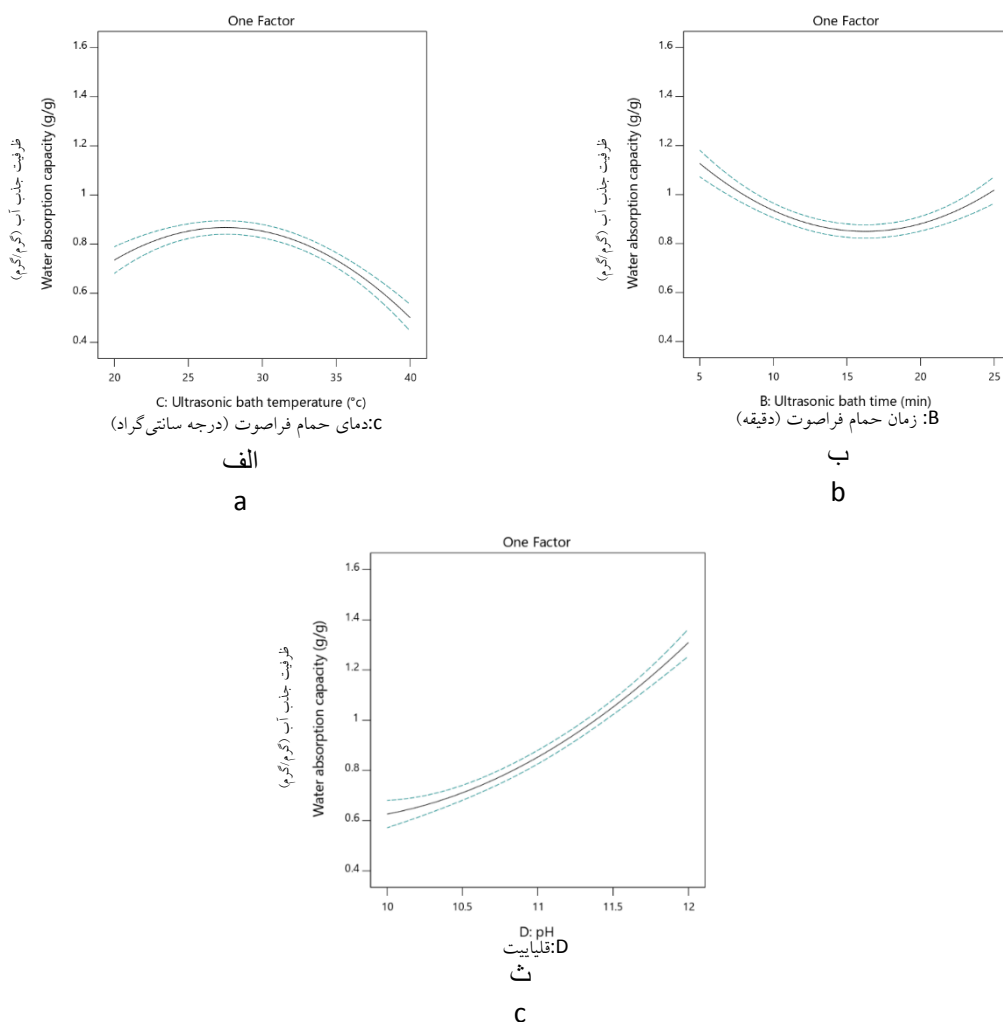
$$\begin{aligned} \text{رابطه ۴} \quad Y = & 19.74019 + 0.200078B + 0.145856C - 3.50811D - 0.001600AB + \\ & 0.002550AC - 0.001300BC + 0.001321A^2 - 0.003379B^2 - 0.001479C^2 + \\ & 0.162073D^2 \end{aligned}$$

در این رابطه Y ظرفیت جذب روغن پروتئین کنجاله فندق (گرم روغن بر گرم پروتئین)، A دمای سانتریفوژ (درجه سانتی‌گراد)، B زمان حمام فراصوت (دقیقه)، C دمای حمام فراصوت (درجه سانتی‌گراد) و D بیانگر pH می‌باشد.

بررسی نتایج ظرفیت جذب آب

در مدل درجه دوم ارائه‌شده، مقدار p-value کمتر از ۰/۰۰۱ به دست آمده که گویای معناداری بسیار بالای مدل است. علاوه بر این، مقدار p-value برای آزمون عدم برازش برابر با ۰/۸۳۳۴ بوده که نشان می‌دهد این مدل فاقد عدم برازش معنادار است و توانسته داده‌ها را به خوبی برازش کند. ضریب تعیین (R^2) این مدل ۰/۹۸۴۱ محاسبه شده است. همچنین، ضریب تبیین تعدیل‌شده (R^2_{adj}) و ضریب تبیین پیش‌بینی‌شده (R^2_{pre}) به ترتیب برابر با ۰/۹۷۴۵ و ۰/۹۵۳۵ هستند. نزدیکی این ضرایب به عدد ۱ نشان‌دهنده دقت بالای مدل است. به علاوه، تشابه میان R^2_{pre} و R^2_{adj} حاکی از توانایی مدل در تعمیم‌پذیری و پیش‌بینی دقیق داده‌های جدید است. مقدار Adequate Precision برابر با ۳۵/۷۱۶۱ بوده که به طور قابل ملاحظه‌ای از مقدار مطلوب بیشتر است و بیانگر توانایی بالای مدل در پیش‌بینی مقادیر پاسخ می‌باشد. همچنین، ضریب تغییرات (C.V. %) با مقدار بسیار پایین ۵/۴۶ درصد نشان‌دهنده همگنی داده‌ها و پراکندگی ناچیز آن‌ها است.

اثر هر یک از متغیرهای زمان حمام فراصوت، دمای حمام فراصوت و pH قلیایی بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق در شکل (۴) ارائه شده است.



شکل ۴- اثر تک عاملی دما (الف) و زمان (ب) حمام فراصوت و pH قلیایی (ث) بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق
Figure 4- Single factor effect of ultrasonic bath temperature (a), time (b), and alkaline pH (c) on the water absorption capacity of hazelnut meal protein

بر اساس شکل (۴-الف)، دمای حمام فراصوت تا یک حد آستانه بر ظرفیت جذب آب پروتئین نقش مثبت داشته است، اما افزایش دما به بیش از ۲۶ درجه سانتی گراد منجر به کاهش جذب آب گردیده است. طبق گفته کینسلا (۲۹) پروتئین‌ها توانایی زیادی در متورم شدن، تجزیه شدن و باز شدن دارند که منجر به قرار گرفتن در معرض مکان‌های اتصال اضافی برای آب می‌شود. از این رو، هرچه محتوای پروتئین بیشتر باشد، مکان‌های اتصال برای آب بیشتر و ظرفیت اتصال آب بالاتر است. همسو با نتایج این تحقیق، مالیک و همکاران (۳۰)، کاهش ظرفیت جذب آب پروتئین آفتابگردان را گزارش کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که افزایش دمای فراصوت می‌تواند موجب دناتوره شدن پروتئین‌ها شود که این تغییر ساختاری، کاهش ظرفیت نگهداری آب و افزایش ظرفیت جذب روغن را به دنبال دارد؛ زیرا در این شرایط، مولکول‌های روغن درون ساختار پروتئین‌های تغییر یافته به صورت

فیزیکی محبوس می‌شوند. محققان بیان کردند، دنا تورا سیون باعث باز شدن ساختار پروتئین و کاهش تعداد سایت‌های فعال برای پیوند با مولکول‌های آب می‌شود. همچنین امواج فراصوت می‌توانند خصوصیات سطحی پروتئین‌ها را با تغییر بار سطحی یا توزیع اسیدهای آمینه هیدروفوبیک و هیدروفیلک تغییر دهند. این تغییرات می‌توانند تأثیر مستقیم بر تعاملات پروتئین و آب داشته باشند و ظرفیت نگهداری آب را کاهش دهند. علاوه بر این، فراصوت باعث شکستن مولکول‌های بزرگ به قطعات کوچک‌تر می‌شود. این تغییر ساختاری ناشی از پدیده کاویتاسیون آکوستیک است که در طی آن، انفجار میکرو حباب‌ها منجر به ایجاد نیروهای برشی شدید و افزایش موضعی دما و فشار می‌شود. در نتیجه، ساختارهای مرتبه بالاتر پروتئین به ویژه ساختار سوم و چهارم، دچار تغییرات عمده‌ای می‌شوند. پیوندهای غیرکووالانسی نظیر پیوندهای هیدروژنی، برهم‌کنش‌های هیدروفوبیک، پیوندهای یونی و حتی پیوندهای دی‌سولفیدی ممکن است شکسته یا بازآرایی شوند (۳۱ و ۳۲ و ۳۳ و ۳۴). این فرآیند منجر به دنا تورا سیون، باز شدن ساختار فضایی و تولید پپتیدهای کوچک‌تری می‌شود که دارای ویژگی‌های سطحی متفاوتی نسبت به پروتئین اولیه هستند (۳۵). پروتئین‌های کوچک‌تر و پپتیدهای تجزیه شده ممکن است ظرفیت کمتری برای جذب و نگهداری آب داشته باشند، زیرا سطح تماس آن‌ها با آب کاهش یافته و توانایی آن‌ها برای تشکیل پیوندهای هیدروژنی محدود می‌شود (۳۶). با این حال، این پدیده لزوماً برای ظرفیت جذب روغن صدق نمی‌کند (۳۷). پروتئین‌های آبگریز که حاوی زنجیره‌های جانبی غیرقطبی بیشتری هستند، تمایل بیشتری به لپیدها نشان می‌دهند و نقش حیاتی در ظرفیت جذب روغن ایفا می‌کند (۳۸). دنا تورا سیون و شکست ساختار پروتئین می‌تواند موجب آشکار شدن این بخش‌های آب‌گریز شود که تمایل بیشتری به برهم‌کنش با مولکول‌های روغن دارند و حتی ممکن است سبب محبوس شدن روغن درون ساختارهای پپتیدی شوند (۲۹). بنابراین، کاهش ظرفیت جذب آب لزوماً با کاهش ظرفیت جذب روغن همراه نیست و حتی در برخی موارد می‌تواند منجر به افزایش آن شود. به طور مشابه، سرت و همکاران (۳۹)، کاهش ظرفیت نگهداری آب پروتئین کنجاله کدو تنبل را هنگام استفاده از فراصوت، گزارش کردند.

بررسی اثر زمان حمام فراصوت شکل (۴-ب)، نشان داد که در زمان ۵ دقیقه، ظرفیت جذب آب به بیشترین مقدار خود رسید. این پدیده احتمالاً به باز شدن ساختار پروتئین‌ها، آشکار شدن گروه‌های هیدروفوب و سولفیدریل و تشکیل تجمعات پروتئینی بزرگ‌تر نسبت داده می‌شود که موجب به دام افتادن مؤثرتر مولکول‌های آب توسط پروتئین‌ها شده و بالاترین جذب آب را در این زمان ایجاد کرده‌اند (شکری ۲۰۲۲). افزایش زمان تا ۱۶ دقیقه موجب کاهش ظرفیت جذب آب گردید. این کاهش ممکن است ناشی از تخریب بیش از حد ساختار پروتئین و تجمع مجدد ذرات پراکنده شده باشد که منجر به تشکیل منافذ بزرگتر و در نتیجه آزادسازی سریع‌تر مولکول‌های آب و کاهش ظرفیت جذب آب می‌شود (کوی ۲۰۱۹). در ادامه با افزایش زمان فراصوت از ۱۶ تا ۲۵ دقیقه، ظرفیت جذب آب روندی افزایشی هر چند ملایم را نشان داد. این افزایش می‌تواند به تغییرات فیزیکوشیمیایی و ساختار میکروسکوپی پروتئین‌ها در اثر فراصوت مرتبط باشد؛ از جمله نمایان شدن گروه‌های آب‌دوست و باردار بیشتر که موجب بهبود توانایی جذب و نگهداری آب می‌شود. نتایج به دست آمده با یافته‌های مطالعات پزشکی و همکاران (هم‌راستا است).

در شکل (۴-ث) ارزیابی تأثیر pH قلیایی، نشان داد که افزایش آن منجر به افزایش ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق شده است. به طوری که بیشترین ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق ۱/۶ (گرم آب بر گرم پروتئین) در pH معادل ۱۲ استخراج، مشاهده گردید. در راستای نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، دوستکولی و قربانی (۲۰۱۳)، در ارزیابی ویژگی‌های عملکردی ایزوله پروتئین کنجاله آفتابگردان نیز به این نتیجه رسیدند که تغییرات pH بر ظرفیت جذب آب پروتئین اثر می‌گذارد، نتایج آن‌ها نشان داد که ظرفیت جذب آب پروتئین ایزوله کنجاله آفتابگردان در pH برابر ۱۰ به حداکثر مقدار خود رسید (۴۰). با افزایش pH،

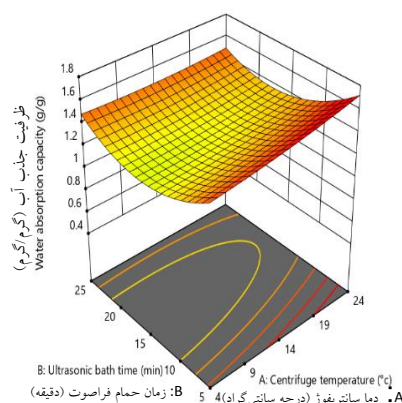
حلالیت پروتئین‌ها افزایش یافته و در نتیجه پروتئین بیشتری استخراج شده و ظرفیت جذب آب افزایش می‌یابد. همچنین افزایش pH می‌تواند ساختار پروتئین‌ها را تحت تأثیر قرار داده و منجر به افزایش در معرض قرارگیری بخش‌های اتصال با آب می‌شود و در نتیجه با افزایش قطبیت پروتئین‌ها مقدار آب جذب شده افزایش یابد (۴۱).
اثرات متقابل متغیرهای مستقل بر ظرفیت جذب آب ایزوله پروتئین کنجاله فندق به ترتیب در شکل ۵ نشان داده شده‌اند.

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

Water absorption capacity (g/g)
0.44 1.6

X1 = A: Centrifuge temperature
X2 = B: Ultrasonic bath time

Actual Factors
C: Ultrasonic bath temperature = 24
D: pH = 12



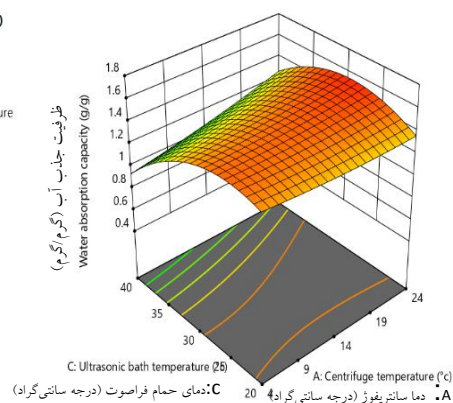
الف
a

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual

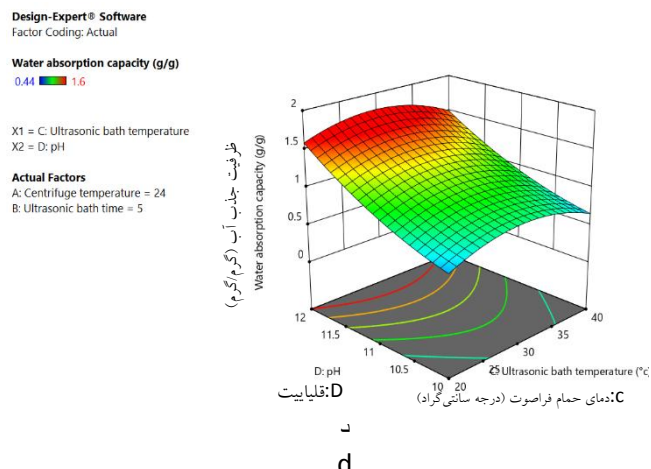
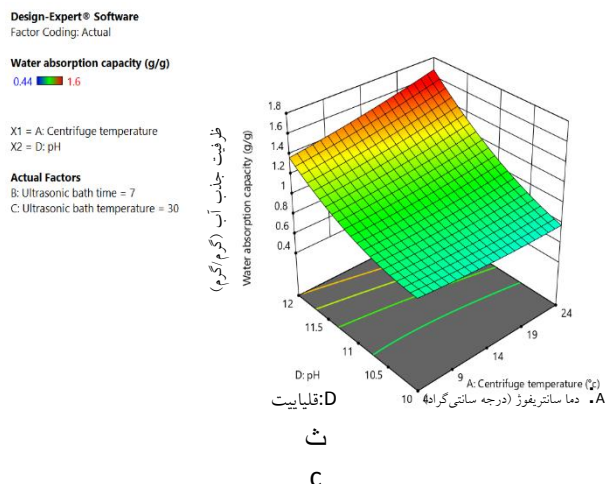
Water absorption capacity (g/g)
0.44 1.6

X1 = A: Centrifuge temperature
X2 = C: Ultrasonic bath temperature

Actual Factors
B: Ultrasonic bath time = 25
D: pH = 12



ب
b



شکل ۵- اثر متقابل متغیرهای مستقل بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق

Figure 5 - Interaction effect of independent variables on water absorption capacity of hazelnut meal protein

نتایج مربوط به تأثیر متقابل متغیرهای دمای سانتریفوژ $\times$ زمان حمام فراصوت بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق در شکل (۵-الف) ارائه شده است. با ثابت بودن دمای حمام فراصوت در ۲۴ درجه سانتی گراد و pH برابر ۱۲، ظرفیت جذب آب در زمان ۵ دقیقه با افزایش دمای سانتریفوژ، افزایش یافت. با افزایش هم‌زمان دمای سانتریفوژ و زمان فراصوت ظرفیت جذب آب ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. بیشترین مقدار ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق ۱/۷ (گرم آب/ گرم پروتئین) در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد و زمان ۵ دقیقه حاصل شد.

در شکل (۵-ب)، تأثیر متقابل دمای سانتریفوژ $\times$ دمای حمام فراصوت بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق مورد بررسی قرار گرفته است. با ثابت نگه داشتن زمان حمام فراصوت در ۲۵ دقیقه و pH معادل ۱۲، افزایش دمای حمام فراصوت ابتدا منجر به افزایش اندک و سپس کاهش معنی‌دار ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق شد. در مقابل، افزایش دمای سانتریفوژ منجر به افزایش ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق شده است، به غیر از دمای فراصوت ۲۰ درجه سانتی گراد که در آن افزایش دمای سانتریفوژ باعث کاهش ظرفیت جذب آب گردید. شیب نسبتاً زیاد منحنی در این نمودار نشان‌دهنده تأثیر قابل توجه دمای حمام فراصوت بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق است. بیشترین مقدار ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق ۱/۵۴ (گرم آب/ گرم پروتئین) در دمای سانتریفوژ ۲۴ درجه سانتی گراد و دمای فراصوت ۲۷ درجه سانتی گراد حاصل شد.

در شکل (۵-ث)، تأثیر متقابل دمای سانتریفوژ $\times$ pH قلیایی بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق بررسی شده است. نمودار نشان می‌دهد که با ثابت نگه داشتن زمان حمام فراصوت در ۷ دقیقه و دمای حمام فراصوت در ۳۰ درجه سانتی گراد، با افزایش pH قلیایی در هر دمایی، ظرفیت جذب آب پروتئین افزایش یافته است و در محدوده pH قلیایی ۱۰ تا ۱۲ تغییرات دمای سانتریفوژ منجر به بهبود ظرفیت جذب آب شده است. همچنین در pH های بالا، با افزایش دمای سانتریفوژ، ظرفیت جذب آب افزایش پیدا

کرده است. افزایش هم‌زمان دمای سانتی‌فوز و pH قلیایی باعث افزایش ظرفیت جذب آب شد، به طوری که بیشترین ظرفیت جذب آب پروتئین ۱/۶۷ (گرم آب/ گرم پروتئین) در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و pH برابر ۱۲ حاصل شد. در شکل (۵-د)، اثر متقابل متغیرهای مستقل دمای حمام فراصوت $\times$ pH قلیایی بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق ارزیابی شده است. با ثابت نگه داشتن دمای سانتی‌فوز در ۲۴ درجه سانتی‌گراد و زمان حمام فراصوت در ۵ دقیقه، در هر مقدار pH قلیایی با افزایش دمای حمام فراصوت از ۲۰ به ۳۰ درجه سانتی‌گراد، ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق ابتدا افزایش یافت، اما با ادامه افزایش دما تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد، ظرفیت جذب آب به مقدار اولیه خود کاهش یافت. همچنین در هر دمای با افزایش pH از ۱۰ به ۱۲ و قلیایی‌تر شدن محیط، ظرفیت جذب آب به طور محسوسی افزایش پیدا کرده است. افزایش هم‌زمان هر دو عامل باعث افزایش ظرفیت جذب آب شده است. بیشترین ظرفیت جذب آب ۱/۷۷ (گرم آب/ گرم پروتئین) در pH برابر ۱۲ و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد.

براساس جدول ضرایب، مناسب‌ترین مدل جهت پیش‌بینی تأثیر متغیرهای مستقل مذکور بر ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق براساس مقادیر واقعی، مطابق با رابطه ۵ می‌باشد.

$$Y = 10.40829 - 0.049197B + 0.145824C - 2.20828D - 0.000481AB + 0.000981AC + 0.009312AD - 0.002688CD + 0.002195B^2 - 0.002355C^2 - 0.114533D^2 \quad \text{رابطه ۵}$$

در این معادله Y ظرفیت جذب آب پروتئین کنجاله فندق (گرم آب بر گرم پروتئین)، A دمای سانتی‌فوز (درجه سانتی‌گراد)، B زمان حمام فراصوت (دقیقه)، C دمای حمام فراصوت (درجه سانتی‌گراد) و D بیانگر pH می‌باشد.

بهینه‌سازی متغیرهای استخراج برای ظرفیت جذب آب و روغن پروتئین کنجاله فندق

پس از انجام آنالیز واریانس داده‌ها، به منظور دستیابی به حداکثر ظرفیت جذب آب و روغن، تمامی متغیرهای مستقل با استفاده از بهینه‌سازی عددی مورد بررسی قرار گرفتند. شرایط بهینه پیش‌بینی‌شده برای نمونه مورد نظر مطابق جدول (۴) شامل زمان ۲۵ دقیقه، دمای حمام فراصوت ۲۳/۸۴۰ درجه سانتی‌گراد، pH برابر با ۱۲، و دمای سانتی‌فوز ۴/۰۰۱ درجه سانتی‌گراد بود. برای ارزیابی صحت فرآیند بهینه‌سازی، استخراج پروتئین تحت شرایط پیشنهادی نرم‌افزار در سه تکرار مجزا انجام شد و ویژگی‌های عملکردی آن اندازه‌گیری گردید. سپس، داده‌های تجربی حاصل با مقادیر پیش‌بینی‌شده توسط نرم‌افزار به کمک آزمون t-student مورد مقایسه قرار گرفتند (جدول ۵). نتایج نشان داد که بین داده‌های تجربی و پیش‌بینی‌شده اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، که این موضوع مؤید دقت و اعتبار مناسب مدل بهینه‌سازی‌شده است.

جدول ۴- شرایط پیشنهادی نرم افزار جهت بهینه سازی فرآیند

Table 4 - Recommended software conditions for process optimization

شماره Number	دمای حمام فراصوت Ultrasonic bath temperature (°C)	زمان حمام فراصوت Ultrasonic bath time (دقیقه)	pH قلیایی Alkaline pH	دمای سانتریفوژ Centrifuge temperature (°C)	ظرفیت جذب آب Water absorption Capacity (g/g)	ظرفیت جذب روغن Oil absorption Capacity (g/g)	مطلوبیت Desirability
1	23.840	25	12	4.001	1.481	3.739	0.885

جدول ۵- مقایسه بین داده های تجربی و داده های پیش بینی شده

Table 5 - Comparison between experimental data and predicted data

پارامتر مورد بررسی	پیش بینی شده	آزمایشگاهی Mean $\pm$ SD
ظرفیت جذب آب (گرم آب/ گرم پروتئین)	1.481 ^a	1.488 $\pm$ 0.016 ^a
ظرفیت جذب روغن (گرم روغن/ گرم پروتئین)	3.739 ^b	3.733 $\pm$ 0.030 ^b

اعداد با حروف مشترک در هر ردیف دارای تفاوت معنی دار ($t \text{ Stat} < t \text{ Critical}$) نمی باشند، نتایج آزمایشگاهی میانگین سه تکرار هستند

نتیجه گیری

پژوهش حاضر با هدف بهینه سازی پارامترهای فرآیندی مؤثر بر ظرفیت جذب آب و روغن پروتئین استخراج شده از کنجاله فندق با استفاده از فناوری فراصوت انجام شد. پارامترهای مورد بررسی شامل دما و زمان اعمال فراصوت، دمای سانتریفوژ و pH قلیایی بودند. بر اساس بهینه سازی عددی، شرایط بهینه استخراج شامل دمای حمام فراصوت ۲۳/۸۴۰ درجه سانتی گراد، زمان ۲۵ دقیقه، pH برابر با ۱۲ و دمای سانتریفوژ ۴/۰۰۱ درجه سانتی گراد تعیین شد. در این شرایط، میزان استخراج پروتئین ۸۲/۶ درصد بود. همچنین، حداکثر ظرفیت جذب روغن معادل ۳/۷۳۹ گرم روغن به ازای هر گرم پروتئین و حداکثر ظرفیت جذب آب معادل ۱/۴۸۱ گرم آب به ازای هر گرم پروتئین به دست آمد. ظرفیت بالای جذب روغن این پروتئین، آن را به گزینه ای مناسب برای کاربرد در صنایع غذایی تبدیل می کند. پروتئین استخراج شده می تواند در تولید محصولات مانند سس ها، امولسیون ها، فرآورده های گوشتی گیاهی، شیرینی ها و میان وعده های پروتئینی مورد استفاده قرار گیرد؛ زیرا توانایی جذب و نگهداری چربی نقش مهمی در بهبود بافت، طعم، پایداری و ویژگی های حسی این محصولات دارد. افزون بر این، استفاده از کنجاله فندق به عنوان منبع پروتئین گیاهی ارزشمند، رویکردی در راستای کاهش ضایعات، افزایش ارزش افزوده محصولات جانبی صنعت روغن کشی، و توسعه غذاهای سالم تر و پایدارتر محسوب می شود. در مجموع، فناوری فراصوت به عنوان یک پیش تیمار کارآمد، نه تنها موجب افزایش راندمان استخراج پروتئین در مدت زمان کوتاه شد، بلکه منجر به تولید پروتئینی با ویژگی های عملکردی مطلوب گردید که می تواند به طور مؤثر در فرمولاسیون محصولات غذایی عملکردی مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Nayak, A., & Bhushan, B. (2019). An overview of the recent trends on the waste valorization techniques for food wastes. *Journal of environmental management*, 233, 352-370.
2. Wouters, A. G., Rombouts, I., Fierens, E., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2016). Relevance of the functional properties of enzymatic plant protein hydrolysates in food systems. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 786-800.
3. Meram, A., & Tontul, I. (2024). Physical, chemical, and technological properties of protein isolate obtained from hazelnut press cake as affected by drying technique. *Food Bioscience*, 60, 104508.
4. Gul, O., Gul, L. B., Baskıncı, T., Parlak, M. E., & Saricaoglu, F. T. (2023). Influence of pH and ionic strength on the bulk and interfacial rheology and technofunctional properties of hazelnut meal protein isolate. *Food Research International*, 169, 112906.
5. Saricaoglu, F. T., Gul, O., Besir, A., & Atalar, I. (2018). Effect of highpressure homogenization (HPH) on functional and rheological properties of hazelnut meal proteins obtained from hazelnut oil industry by-products. *Journal of Food Engineering*, 233, 98-108.
6. Rohn, S. (2014). Possibilities and limitations in the analysis of covalent interactions between phenolic compounds and proteins. *Food Research International*, 65, 13-19.
7. Sarkis, J. R., Côrrea, A. P. F., Michel, I., Brandeli, A., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. (2014). Evaluation of the phenolic content and antioxidant activity of different seed and nut cakes from the edible oil industry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(10), 1773-1782.
8. Wu, H., Wang, Q., Ma, T., & Ren, J. (2009). Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. *Food Research International*, 42(3), 343-348.
9. Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, W., & Rao, R. M. (1999). Solubilized wheat protein isolate: functional properties and potential food applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1340-1345.
10. Gul, O., Saricaoglu, F. T., Besir, A., Atalar, I., & Yazici, F. (2018). Effect of ultrasound treatment on the properties of nano-emulsion films obtained from hazelnut meal protein and clove essential oil. *Ultrasonics Sonochemistry*, 41, 466-474.
11. Tatar, F., Tunç, M. T., & Kahyaoglu, T. (2013). Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) protein concentrates: Functional and rheological properties. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 1024-1031.
12. De Paula Laidens, C., Iwassa, I. J., Stevanato, N., Zampar, I. C., Bolanho Barros, B. C., & da Silva, C. (2021). Obtaining fermentable sugars and fiber concentrate from asparagus by-product. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(7), e15640.
13. Iwassa, I. J., dos Santos Ribeiro, M. A., Meurer, E. C., Cardozo-Filho, L., Bolanho, B. C., & da Silva, C. (2019). Effect of subcritical water processing on the extraction of compounds, composition, and functional properties of asparagus by-product. *Journal of Food Process Engineering*, 42(4), e13060.
14. O'Sullivan, J., Murray, B., Flynn, C., & Norton, I. (2016). The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins. *Food Hydrocolloids*, 53, 141-154.
15. Geow, C. H., & Tan, M. C. (2021). Pretreatment effect of osmotic dehydration on ultrasound- assisted solvent extraction: Functional properties of defatted hazelnut meal. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(12), e16007.

16. Saghli, Marjan and Moghimi, Masoumeh and Bakhshabadi, Hamid, 2018, A review of different methods of cell disruption for the extraction of proteins from plant tissues (pea case study), Second International Congress and Twenty-fifth National Congress of Iranian Food Sciences and Industries, Sari
17. Jiang, L., Wang, J., Li, Y., Wang, Z., Liang, J., Wang, R., ... & Zhang, M. (2014). Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. *Food research international*, 62, 595-601.
18. Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E. C., Zhu, L., Zhang, F., Xu, X., ... & Pan, S. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food hydrocolloids*, 30(2), 647-655.
19. Higuera-Barraza, O. A., Del Toro-Sanchez, C. L., Ruiz-Cruz, S., & Márquez-Ríos, E. (2016). Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. *Ultrasonics sonochemistry*, 31, 558-562.
20. Sen, D., & Kahveci, D. (2020). Production of a protein concentrate from hazelnut meal obtained as a hazelnut oil industry by-product and its application in a functional beverage. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 5099-5107.
21. Akharume, F. U., Aluko, R. E., & Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198-224.
22. Shchekoldina, T., & Aider, M. (2014). Production of low chlorogenic and caffeic acid containing sunflower meal protein isolate and its use in functional wheat bread making. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 2331-2343.
23. Kashaninejad, M. (2016). Design and analysis of experiments in the food industry using Design Expert 9 (Vol. 1). *Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Press*
24. Li, C., Tian, Y., Liu, C., Dou, Z., & Diao, J. (2023). Effects of heat treatment on the structural and functional properties of *Phaseolus vulgaris* L. protein. *Foods*, 12(15), 2869.
25. Wang, Y., Liu, J., Zhang, Z., Meng, X., Yang, T., Shi, W., ... & Ma, H. (2023). Insights into ultrasonication treatment on the characteristics of cereal proteins: functionality, conformational and physicochemical characteristics. *Foods*, 12(5), 971.
26. Withana- Gamage, T. S., Wanasundara, J. P., Pietrasik, Z., & Shand, P. J. (2011). Physicochemical, thermal and functional characterisation of protein isolates from Kabuli and Desi chickpea (*Cicer arietinum* L.): A comparative study with soy (*Glycine max*) and pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6), 1022-1031.
27. Ghorbani, A., Rafe, A., Hesarinejad, M. A., & Lorenzo, J. M. (2025). Impact of pH on the Physicochemical, Structural, and Techno- Functional Properties of Sesame Protein Isolate. *Food Science & Nutrition*, 13(1), e4760.
28. Ng, J. W., Teh, T. M., Tan, C. F., Bi, X., Low, Z. E., & Talukder, M. M. R. (2024). Alkaline solubilization of microalgal protein and its impact on the functional properties of protein extract. *Future Foods*, 9, 100368.
29. Kinsella, J. E. (1981). Functional properties of proteins: possible relationships between structure and function in foams. *Food chemistry*, 7(4), 273-288.
30. Malik, M. A., Sharma, H. K., & Saini, C. S. (2017). High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 511-519.
31. Chandrapala, J., Zisu, B., Palmer, M., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2011). Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(5), 951-957.

32. Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E. C., Zhu, L., Zhang, F., Xu, X., ... & Pan, S. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food hydrocolloids*, 30(2), 647-655.
33. Jambrak, A. R., Mason, T. J., Lelas, V., Herceg, Z., & Herceg, I. L. (2008). Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of food engineering*, 86(2), 281-287.
34. Antunez-Medina, J. R., Suárez-Jiménez, G. M., Ocano-Higuera, V. M., Tolano-Villaverde, I. D. J., Ornelas-Paz, J. D. J., Torres-Arreola, W., & Márquez-Ríos, E. (2025). Application of Ultrasound in Proteins: Physicochemical, Structural Changes, and Functional Properties with Emphasis on Foaming Properties. *Processes*, 13(6), 1646.
35. Chemat, F., & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(4), 813-835.
36. Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of food science*, 70(3), R54-R66.
37. McClements, D. J. (2004). Protein-stabilized emulsions. *Current opinion in colloid & interface science*, 9(5), 305-313.
38. Du, S. K., Jiang, H., Yu, X., & Jane, J. L. (2014). Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 308-313.
39. Srt, D., Rohm, H., & Struck, S. (2022). Ultrasound-assisted extraction of protein from pumpkin seed press cake: impact on protein yield and techno-functionality. *Foods*, 11(24), 4029.
40. Shokri, S., Javanmardi, F., Mohammadi, M., & Khaneghah, A. M. (2022). Effects of ultrasound on the techno-functional properties of milk proteins: A systematic review. *Ultrasonics sonochemistry*, 83, 105938.
41. Cui, Q., Wang, X., Wang, G., Li, R., Wang, X., Chen, S., ... & Jiang, L. (2019). Effects of ultrasonic treatment on the gel properties of microbial transglutaminase crosslinked soy, whey and soy-whey proteins. *Food Science and Biotechnology*, 28(5), 1455-1464.
42. Pezeshk, S., Rezaei, M., & Abdollahi, M. (2022). Impact of ultrasound on extractability of native collagen from tuna by-product and its ultrastructure and physicochemical attributes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 89, 106129.
43. Dostkouli A, Ghorbani M. (2013). Investigating the functional properties of sunflower meal protein isolate, Second National Conference on Food Science and Technology, Quchan
44. Zayas, J. F. (2012). *Functionality of proteins in food*. Springer science & business media.

Effect of Ultrasonic Technique on the Functional Properties of Hazelnut Press Cake Protein

Abstract

Background and Objective: Food security is one of the fundamental global challenges, and addressing protein deficiency in nutrition is especially critical in developing countries. Plant-based proteins have garnered significant attention due to their environmental sustainability and the reduction of dependence on animal sources. Extracting protein from plant by-products, such as oilseed meals, not only reduces resource waste but also minimizes environmental impacts. *Hazelnut meal*, as an agricultural by-product, can serve as a sustainable high-quality protein source. In this study, protein was extracted from hazelnut meal using ultrasound pretreatment, alkaline extraction, and acid precipitation. The functional properties of the extracted protein were evaluated to enhance its applicability in the food industry.

Materials and Methods: To extract protein from hazelnut meal, a defatting process was first carried out. Subsequently, a mixture of defatted hazelnut meal and deionized water was prepared and subjected to ultrasound pretreatment to facilitate protein release. The pH of the mixture was adjusted using sodium hydroxide solution based on the optimal values suggested by the experimental design software. After the initial centrifugation, the supernatant was collected and adjusted to the isoelectric point by adding hydrochloric acid solution. At this stage, a secondary centrifugation was performed, and the resulting precipitates were washed, neutralized, and dried using a freeze dryer. The experiments were conducted using the Response Surface Methodology (RSM). The independent variables in this study included alkaline pH (10 to 12), centrifugation temperature (4 to 24°C), ultrasound bath time (5 to 25 minutes), and temperature (20 to 40°C). The dependent variables were water and oil absorption capacities. The experimental design was performed using Design Expert software with a Central Composite Design (CCD), consisting of 38 different treatments with 6 replications at the central point and a significance level of 5%. To validate the model and compare the predicted results with the experimental data at the optimal point, the t-student test was used.

Results: Results of the Analysis of Variance for the dependent variables showed that the quadratic model was statistically significant ($p < 0.05$). The analysis indicated that increasing the ultrasound time up to 16 minutes initially decreased the water absorption capacity and then increased this parameter. Similarly, increasing the ultrasound temperature up to 26 °C led to an initial increase followed by a decrease in water absorption capacity. Moreover, increasing the pH from 10 to 12 resulted in a significant increase in water absorption capacity. According to the findings, increasing ultrasound time up to 20 minutes initially increased and then decreased the oil absorption capacity. Additionally, increasing the ultrasound temperature up to 36 °C resulted in an initial increase followed by a slight decrease in oil absorption capacity. Furthermore, increasing the pH up to 11.4 initially caused a decrease, followed by a slight increase in oil absorption capacity.

Conclusion: The results showed that ultrasonic pretreatment improved the water and oil absorption capacities of hazelnut meal protein. For numerical optimization, the values of the independent variables were adjusted within the defined range, and the dependent variables were evaluated with the aim of achieving the highest possible values. Under optimal conditions, the process involved an ultrasonic temperature of 23.840 °C, an ultrasonic time of 25 minutes, a centrifuge temperature of 4.001 °C, and a pH of 12. Under these conditions, the water holding capacity (1.481 grams of water per gram of protein) and oil absorption (3.739 grams of oil per gram of protein) were determined. All experiments were performed in triplicate. There was no significant difference between the predicted results by the model and the experimental values under optimal conditions. These findings confirm the accuracy and reliability of the proposed model.

Keywords: Hazelnut meal protein, Optimization, Oil absorption capacity, Water absorption capacity.