



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

تحلیل ویژگی‌های عملکردی پروتئین لوبیا سیاه با تأکید بر خواص حلالیت، کف‌سازی و پایداری آن

سعیده شفیعی ورزنه^۱، نفیسه زمین‌دار^{۲*}، شهره واحد^۳، سید نظام الدین میرستاری^{۴*} نویسنده مسئول:

^۱-دانشجوی دکتری، گروه صنایع غذایی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران

^{۲*}-دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی؛ دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمنداها؛ واحد اصفهان (خوراسگان)؛ دانشگاه آزاد اسلامی؛ اصفهان؛

ایران

^۳-استادیار، گروه صنایع غذایی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران

^۴-استادیار، گروه شیمی؛ دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمنداها؛ واحد اصفهان (خوراسگان)؛ دانشگاه آزاد اسلامی؛ اصفهان؛ ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۴

تاریخ داوری: ۱۴۰۴/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۱

کلمات کلیدی:

پروتئین لوبیا سیاه،

خواص عملکردی،

خاصیت کف‌کنندگی،

پایداری کف،

حلالیت پروتئین

DOI: 10.48311/fsct.2026.84082.0

* مسئول مکاتبات:

n.zamindar@iau.ac.ir

در چشم‌انداز رو به رشد صنایع غذایی، توجه فزاینده به غذاهایی با ساختار کف به عنوان مولفه‌هایی سالم و جذاب، ضرورت درک عمیق‌تر خواص عملکردی پروتئین‌های گیاهی را ایجاد می‌کند. پروتئین‌های گیاهی، به‌ویژه پروتئین‌های لوبیای سیاه (*Phaseolus vulgaris*)، به عنوان جایگزینی سالم و طبیعی برای پروتئین‌های حیوانی، مورد توجه قرار گرفته‌اند. با این حال، شناخت عمیق‌تر از پارامترهای محیطی مؤثر بر خواص حلالیت، کف‌کنندگی و پایداری این پروتئین‌ها، نقشی کلیدی در بهبود کارایی آنها ایفا می‌کند. در این مطالعه، تأثیر شرایط فیزیکوشیمیایی شامل pH قلیایی (۹-۱۱)، pH ایزوالکتریک (۴-۵) و دما (۲۴-۴ درجه سانتی‌گراد) بر میزان حلالیت، ظرفیت تشکیل و پایداری کف پروتئین‌های لوبیای سیاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که افزایش pH قلیایی و دما، به بهبود چشمگیر در ساختار پروتئین و تشکیل لایه‌ای پایدارتر منجر شده است. دماهای بالاتر سبب دناتوراسیون جزئی و ظهور مناطق آبگریز شد که شبکه‌های پروتئینی قوی‌تر ایجاد می‌کند. در شرایط بهینه فیزیکوشیمیایی شامل pH قلیایی (۱۰.۰۸)، pH ایزوالکتریک (۴) و دما (۲۴ درجه سانتی‌گراد)، بیشترین میزان حلالیت (۱.۱۶٪)، بیشترین ظرفیت کف‌کنندگی (۲۵۳.۰۲٪) و بیشترین پایداری کف در ۳۰ دقیقه (۱۱۱.۰۹٪) و در ۶۰ دقیقه (۵۷.۸۰٪) مشاهده شد. نتایج پیش‌بینی نرم افزار با داده‌های تجربی تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>0.05$). این یافته‌ها نه تنها درک بیشتری از مکانیسم‌های تشکیل و پایداری کف ارائه می‌دهد، بلکه مسیر را برای توسعه محصولات فومی گیاهی با خواص فیزیکی و عملکردی بهینه هموار می‌سازد.

۱- مقدمه

غذاهای با بافت هوادهی شده یا فومی، از دیرباز بخش مهمی از رژیم غذایی بشر را تشکیل داده‌اند [۱]. این نوع محصولات به دلیل بافت سبک، ظاهر جذاب و ویژگی‌های حسی متمایز، همواره مورد توجه مصرف‌کنندگان بوده و محبوبیت آن‌ها در سال‌های اخیر افزایش یافته است [۲]. تولید این محصولات که در اشکال متنوعی از جمله مایع (مانند نوشابه‌های گازدار، قهوه آماده)، نیمه جامد (نظیر بستنی، خامه فرم گرفته، دسرهای سبک) و جامد (از قبیل نان، کیک، غلات صبحانه و شکلات‌های فومی) یافت می‌شوند، مستلزم تعامل پیچیده‌ای از فرمولاسیون و فرآوری جهت دستیابی و حفظ ویژگی‌های مطلوب است [۳].

یکی از مهم‌ترین چالش‌های تولید مواد غذایی فومی، ناپایداری طبیعی ساختار فوم است، این ناپایداری به دلیل عدم تمایل بین حباب‌های هوا و محیط است که منجر به پدیده کشش سطحی می‌گردد. حضور ترکیبات فعال سطحی مانند سورفکتانت‌ها یا پروتئین‌ها نقشی کلیدی در کاهش کشش سطحی و پایداری این ساختار دارد. خواص سطحی و توانایی کف‌کنندگی پروتئین‌ها در چند دهه اخیر به طور گسترده‌ای مورد پژوهش قرار گرفته است، گرانش به استفاده از پروتئین‌ها به جای سورفکتانت‌های با وزن مولکولی پایین، به دلیل توانایی ذاتی آن‌ها در تشکیل و پایداری کف است. افزون بر این، افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان نسبت به سلامت و تمایل به استفاده از ترکیبات طبیعی و پایدار، به گسترش کاربرد پروتئین‌های طبیعی در صنایع غذایی دامن زده است [۴].

در این زمینه، روند رو به رشد پژوهش‌های نوین در عرصه غذا، به شکلی پیوسته و هدفمند، به سوی بهره‌گیری و شناسایی هر چه دقیق‌تر پروتئین‌های گیاهی معطوف شده است [۵]. امروزه، توجه به رژیم‌های غذایی گیاهی به دلایل

گوناگونی از جمله ملاحظات سلامتی، دغدغه‌های زیست‌محیطی، اصول پایداری و ارزش‌های اخلاقی، رو به افزایش است [۶]. در میان منابع پروتئین‌های گیاهی، لوبیای سیاه (*Phaseolus vulgaris* L.)، به عنوان عضوی از خانواده Fabaceae، به دلیل دارا بودن پروتئین با کیفیت بالا، ارزش غذایی برجسته، و در دسترس بودن، مورد توجه ویژه قرار گرفته است [۷، ۸]. پروتئین‌های گیاهی را می‌توان بر اساس میزان حلالیت و قابلیت استخراج آن‌ها در حلال‌های مختلف، به چهار گروه اصلی تقسیم‌بندی نمود [۹]: آلبومین‌ها، گلوبولین‌ها، پرولامین‌ها و گوتلین‌ها. در مورد پروتئین‌های لوبیا، گلوبولین‌ها بخش عمده (۶۰-۸۰٪) را تشکیل می‌دهند، در حالی که آلبومین‌ها دومین جزء اصلی پروتئینی (۱۵-۲۵٪) محسوب می‌شوند و حلالیت کمتری در آب دارند [۱۰]. بر خلاف پروتئین‌های حیوانی که عموماً دارای وزن مولکولی پایین و ساختار کروی نسبتاً ساده‌ای هستند، پروتئین‌های گیاهی ساختارهای چهارگانه پیچیده‌ای با مونومرهایی با وزن مولکولی بالا از خود نشان می‌دهند [۱۱].

با وجود ارزش تغذیه‌ای بالای لوبیای سیاه و ویژگی‌های عملکردی بالقوه‌ی آن، مطالعات جامع بر روی خواص خاصی همچون حلالیت، ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف حاصل از پروتئین‌های استخراجی این گیاه محدود گزارش شده است [۱۲-۱۴]. بسیاری از پژوهش‌های پیشین بر جنبه‌های تغذیه‌ای یا سایر خواص عملکردی متمرکز بوده‌اند، و کمتر به بررسی سیستماتیک اثر پارامترهای محیطی و فرآیندی (نظیر pH، قلیایی و ایزوالکتریک، و دمای فرآیند) بر روی مکانیسم تشکیل و پایداری کف حاصل از پروتئین‌های لوبیای سیاه و حلالیت پرداخته شده است. این خلأ پژوهشی،

برقی (کیپ، کره جنوبی)، آسیاب شده و پودر حاصل به منظور یکنواختی اندازه ذرات از الک با اندازه مش ۸۰ میکرومتر عبور داده شد. پودر حاصله تا زمان استفاده بعدی در کیسه‌های زیپ‌دار پلی اتیلنی بسته‌بندی و در فریزر (پارس، ایران) دمای ۴- درجه سانتیگراد نگهداری شد [۱۵].

۲-۳- استخراج پروتئین

استخراج پروتئین تحت تاثیر متغیرهای مستقل pH قلیایی و ایزوالکتریک و دمای سانتریفوژ که حدود بالا و پایین آن در جدول (۱) ارایه شده است، انجام شد. پودر لوبیا سیاه با آب مقطر با نسبت (۱:۸ g/ml) مخلوط شد و مطابق با جدول (۲)، pH مخلوط با استفاده از سدیم هیدروکسید ۲ مولار تنظیم گردید. مخلوط حاصل در دمای محیط به مدت ۳۰ دقیقه توسط همزن مغناطیسی (مدل PIT300، ایران) همزده شد. سوسپانسیون در دمای تعیین شده در جدول (۲) برای هر اجرا، تحت فرآیند سانتریفوژ (مدل UNIVERSAL-320R، پارس آزما ایران) قرار گرفت. pH فاز رویی با افزودن محلول اسید کلریدریک ۲ مولار با مقادیر (۴-۵)، تنظیم شد. مخلوط مجدداً سانتریفوژ شد تا پروتئین رسوب کند. pH رسوب پروتئینی با سدیم هیدروکسید حدود ۷ تنظیم گردید. زمان سانتریفوژ ۲۰ دقیقه و سرعت آن ۹۰۰۰ دور بر دقیقه بود. محلول پروتئینی خالص شده، سپس برای مدت ۲۴ ساعت در خشک‌کن انجمادی (دنا وکیوم، ایران) قرار داده شد تا به صورت پودر خشک درآید. پودر پروتئین خشک شده جمع‌آوری و تا زمان استفاده برای ارزیابی خواص عملکردی، در فریزر نگهداری شد [۱۵].

ضرورت مطالعه‌ای جامع را برای شناسایی بهتر عوامل مؤثر بر رفتار عملکردی پروتئین لوبیای سیاه برجسته می‌سازد.

با توجه به نیاز روزافزون به منابع پروتئینی گیاهی پایدار و عملکردی، و پتانسیل بالای لوبیای سیاه؛ هدف از این مطالعه، استخراج پروتئین‌های لوبیای سیاه و سپس بررسی خواص حلالیت، کف‌کنندگی (شامل ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف) آن‌ها تحت شرایط مختلف فیزیوشیمیایی (نظیر تغییرات pH قلیایی و ایزوالکتریک، و دما) بود. این پژوهش با هدف ارائه درکی از عوامل مؤثر بر حلالیت، پایداری کف و بهینه‌سازی شرایط تولید کف پایدار از پروتئین‌های لوبیای سیاه، می‌تواند به توسعه کاربردهای جدید و نوآورانه برای لوبیای سیاه در صنایع غذایی، به‌ویژه در تولید محصولات هوادهی شده، کمک کند و درک بهتری از رفتار بین‌سطحی پروتئین‌های گیاهی فراهم آورده و مسیر توسعه محصولات غذایی هوادهی شده بر پایه ترکیبات طبیعی و پایدار را هموار سازد.

۲-۲ مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه آزمایشگاهی از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

۲-۲ آماده‌سازی نمونه

لوبیای سیاه (*Phaseolus vulgaris* L.) مورد استفاده در این مطالعه رقم بومی از مزارع شهرستان خمین تهیه گردید. دانه‌های لوبیا پیش از شروع آزمایش، به دقت از هرگونه آفت، آسیب، یا ناخالصی خارجی پاکسازی شدند. پس از اطمینان از خلوص محصول، دانه‌های لوبیا با استفاده از یک آسیاب

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

Factor	Name	Units	Type	Minimum	Maximum	Coded Low	Coded High	Mean
A	Alkaline pH		Numeric	9.00	11.00	-1 ↔ 9.00	+1 ↔ 11.00	10.00
B	Isoelectric pH		Numeric	4.00	5.00	-1 ↔ 4.00	+1 ↔ 5.00	4.50
C	Temperature	°C	Numeric	4.00	24.00	-1 ↔ 4.00	+1 ↔ 24.00	14.00

میلی‌لیتر آب دیونیزه حل و سپس به مدت یکساعت به کمک همزن مغناطیسی در دمای اتاق هم زده شد و در ادامه محلول به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفوژ ۵۰۰۰ g قرار داده شد. میزان پروتئین موجود در فاز رویی، از طریق مخلوط کردن ۲ میلی‌لیتر از فاز رویی با ۸ میلی‌لیتر معرف بیوره توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO S2100، چین) تعیین شد. کلبه جذب‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از محلول سرم آلبومین گاوی، در غلظت‌های ۲ تا ۱۰ (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در معرف بیوره استفاده گردید.

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش تاثیر متغیرهای مستقل شامل دمای سانتریفوژ (۲۴- ۴ درجه سانتی‌گراد)، pH قلیایی (۹-۱۱)، pH ایزوالکتریک (۴-۵) بر خاصیت حلالیت، کف‌کنندگی و پایداری کف مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی از نرم افزار Design Expert نسخه ۱۱، روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن استفاده شد. طراحی باکس بنکن به دلیل مزایایی نظیر نیاز به تعداد آزمایش‌های کمتر در مقایسه با سایر طرح‌های RSM (مانند طراحی مرکب مرکزی)، عدم نیاز به انجام آزمایش‌ها در شرایط بسیار شدید و توانایی بالای آن در مدل‌سازی اثرات غیرخطی، انتخاب گردید. تعداد ۱۸ اجرا با ۶ تکرار در نقطه مرکزی مطابق پیشنهاد طرح و طبق جدول (۲) انجام شد. به منظور بهینه سازی شرایط پیش‌بینی شده توسط نرم افزار برای بیشترین میزان حلالیت، بیشترین میزان

۲-۴- ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف

اندازه‌گیری ویژگی کف‌کنندگی پروتئین لوبیا سیاه بر اساس روش فونگتای و همکاران (۲۰۱۶)، و با تغییرات جزئی انجام شد [۱۶]. محلول پروتئینی ۱٪ (w/v) با pH برابر ۷ تهیه شد. به منظور ایجاد کف، ۱۰ میلی‌لیتر از این محلول در یک استوانه مدرج، در دستگاه هموژنایزر اولتراتوراکس با سرعت بالا به مدت ۱ دقیقه همگن‌سازی گردید. حجم کل محلول بلافاصله پس از همگن‌سازی (زمان ۰-دقیقه) اندازه‌گیری شد. پایداری کف با اندازه‌گیری حجم کل ظرفیت کف‌کنندگی در زمان‌های ۳۰ دقیقه و ۶۰ دقیقه پس از تشکیل کف تعیین شد. توانایی کف‌کنندگی و پایداری کف با استفاده از معادلات زیر بر حسب درصد محاسبه شدند:

$$\text{Foam Capacity (\%)} = [(A - B) / B] \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

$$\text{Foam Stability (\%)} = [(A_{30 \text{ min or } 60 \text{ min}} - B) / (A_{0 \text{ min}} - B)] \times 100$$

در این رابطه A حجم بعد از کف کردن (ml)، و B حجم قبل از کف کردن (ml) است.

۲-۵- حلالیت پروتئین

بررسی میزان حلالیت پروتئین با استفاده از روش بیوره انجام گرفت. آماده سازی محلول پروتئینی بر اساس روش موسیخانی گنجه و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییرات انجام شد [۱۷]. برای این منظور ابتدا ۰.۵ گرم پروتئین در ۵۰

کف کنندگی و پایداری کف با شرایط آزمایشگاهی تجربه شده با آزمون T-student در سطح احتمال ۰.۵٪ مورد مقایسه قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی آماری بهینه‌سازی شرایط فرآیند

بررسی خاصیت کف کنندگی و پایداری کف و حلالیت پروتئین لوبیا سیاه با استفاده از روش سطح پاسخ انجام شد. نتایج به دست آمده از تیمارهای مختلف در جدول (۲) آورده شده است.

نتایج آنالیز واریانس تأثیر متغیرهای مستقل بر میزان حلالیت و ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف پروتئین در ۳۰ و ۶۰ دقیقه در جدول (۳) نشان داده شده است. مقدار p-value برای مدل درجه دوم کمتر از ۰/۰۰۰۱ به دست آمده است که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن بسیار بالای مدل و تأثیر قوی

متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته پروتئین می‌باشد. به عبارت دیگر، این متغیرها به طور قابل توجهی بر میزان حلالیت و ظرفیت کف کنندگی پروتئین و پایداری آن تأثیر می‌گذارند. مقدار R^2 بالا نشان می‌دهد که بخش عمده از تغییرات در میزان متغیرهای وابسته توسط مدل قابل توضیح است و مدل به خوبی توانسته است رابطه بین متغیرهای مستقل و وابسته را تبیین کند. نزدیک بودن مقادیر ضریب تبیین تعدیل‌شده (R^2 adjusted) و ضریب تبیین پیش‌بینی‌شده (R^2 predicted) نشان‌دهنده عدم overfitting در مدل و قابلیت تعمیم آن به داده‌های جدید است. به عبارت دیگر، مدل نه تنها داده‌های موجود را به خوبی برازش می‌کند، بلکه قادر است مقادیر حلالیت و ظرفیت کف کنندگی را در شرایط جدید نیز به طور دقیق پیش‌بینی کند.

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

Run	Factor 1 A: Alkaline pH	Factor 2 B: Isoelectric pH	Factor 3 C: Temperature (°C)	Response 1 Foaming Capacity (%)	Response 2 Foam Stability 30 min (%)	Response 3 Foam Stability 60 min (%)	Response 4 Solubility (mg/ml)
1	9	4.5	4	180	66	30.29	0.117
2	9	5	14	200	60.58	35.76	0.113
3	11	4.5	24	140	115	63	0.105
4	11	4	14	120	97.04	59	0.115
5	10	5	4	280	55	26.57	0.121
6	10	4.5	14	230	55.19	33.33	0.116
7	10	4.5	14	240	55.17	33.33	0.117
8	10	4	4	150	68	33.33	0.126
9	9	4	14	250	50	33.33	0.119
10	10	4	24	260	110	55.54	0.116
11	10	4.5	14	230	53.11	34.47	0.116

12	10	4.5	14	240	55.87	33.33	0.117
13	11	5	14	230	49.56	33.33	0.114
14	9	4.5	24	210	85.16	50.12	0.109
15	11	4.5	4	150	73.56	40	0.115
16	10	4.5	14	240	55.21	37	0.114
17	10	5	24	180	76.93	45.45	0.116
18	10	4.5	14	240	55.18	33.33	0.116

در تولید کف اشاره دارد که می‌تواند با اندازه‌گیری افزایش حجم کف یا درصد افزایش آن ارزیابی شود. عوامل گوناگونی بر فرآیند کف کردن پروتئین‌ها تأثیر می‌گذارند. این عوامل شامل ظرفیت و ثبات، pH، روش‌های هیدرولیز، غلظت پروتئین و تکنیک‌های استخراج می‌باشند [۱۸].

۳-۲- ارزیابی پارامتر پاسخ ظرفیت کف‌کنندگی

تشکیل فوم به فرآیند توزیع حباب‌های هوا در یک فاز مایع یا جامد پیوسته گفته می‌شود که منجر به ایجاد یک لایه سطحی انعطاف‌پذیر می‌گردد. ظرفیت کف به توانایی پروتئین

Table 3- Variance analysis of the effect of independent variables on the Solubility, foam formation capacity of black bean and protein foam stability at 30 and 60 minutes after foam formation

Source	df	Mean Square of Foaming Capacity	Mean Square of Foam Stability 30 min	Mean Square of Foam Stability 60 min	Mean Square of Solubility
Model	9	3970.68***	790.41***	209.53***	0.0000***
A- Alkaline pH	1	5000.00***	673.81***	262.55***	0.0000**
B- Isoelectric pH	1	1512.50***	860.50***	200.90***	0.0000**
C-Temperature	1	112.50*	1938.47***	880.32***	0.0001***
AB	1	6400.00***	842.74***	197.40***	**
AC	1	400.00**	124.10***	2.51 ^{ns}	0.0000 ^{ns}
BC	1	11025.00***	100.70***	2.77 ^{ns}	0.0000**
A ²	1	7728.03***	307.44***	153.27***	0.0001***
B ²	1	128.03*	3.91 ^{ns}	0.3840 ^{ns}	0.0001***
C ²	1	2637.12***	2032.37***	146.50***	0.0000 ^{ns}
Residual	8	19.79	2.07	2.06	0.000
Lack of Fit	3	8.33 ^{ns}	4.05 ^{ns}	1.85 ^{ns}	0.0000 ^{ns}

Pure Error	5	26.67	0.8917	2.18	0.0000
Cor Total	17				
Fit Statistics					
R ²		0.9956	0.9977	0.9914	0.9730
Adjusted R ²		0.9906	0.9951	0.9816	0.9426
Predicted R ²		0.9835	0.9719	0.9452	0.8375
Adeq Precision		47.8750	62.0954	34.9103	26.7796
C.V. %		2.12	2.10	3.63	0.9042

ns: not significant, *: significant at the 5% level ($p < 0.05$), **: significant at the 1% level ($p < 0.01$), ***: significant at the 0.1% level ($p < 0.001$)

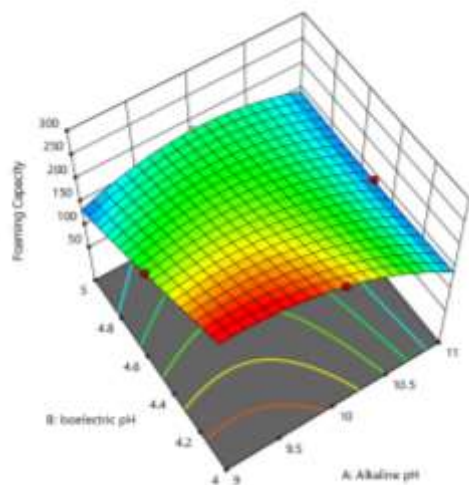
در نتیجه، افزایش ظرفیت کف‌زایی منجر می‌شود [۲۰]. در محدوده pH قلیایی، پروتئین لوبیا سیاه به حالتی بهینه می‌رسد که قابلیت جذب و تشکیل لایه کارآمد در سطح مشترک را به حداکثر می‌رساند. همچنین با توجه به شکل مشخص شد با افزایش pH ایزوالکتریک، خاصیت کف‌کنندگی کاهش داشت. در نقطه pH ایزوالکتریک، حلالیت پروتئین به شدت کاهش یافته و تمایل به تجمع و رسوب آن افزایش می‌یابد. این وضعیت، جذب پروتئین به سطح مشترک هوا-آب و تشکیل مولکول‌های آب در اطراف آن را دشوار می‌سازد، که این امر با نتایج بدست آمده در مورد کاهش ظرفیت کف‌کنندگی در نقطه ایزوالکتریک همخوانی دارد.

علاوه بر pH، دما نیز نقش مهمی در خصوصیات کف‌کنندگی ایفا می‌کند؛ به طوری که افزایش دما تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، ظرفیت کف‌کنندگی را در لحظه صفر به طور قابل توجهی افزایش داد (شکل 1c, 1b). این پدیده را می‌توان به تغییرات ساختاری پروتئین در اثر حرارت مرتبط دانست که منجر به دناتوراسیون جزئی و آشکار شدن مناطق آبگریز پنهان مولکول می‌شود. این تغییرات ساختاری، تمایل پروتئین را برای جذب به سطح مشترک هوا/آب افزایش داده و توانایی آن را برای تشکیل یک فیلم پایدار در این سطح تقویت می‌کند. افزایش آبگریزی سطح، میل پروتئین به جذب شدن

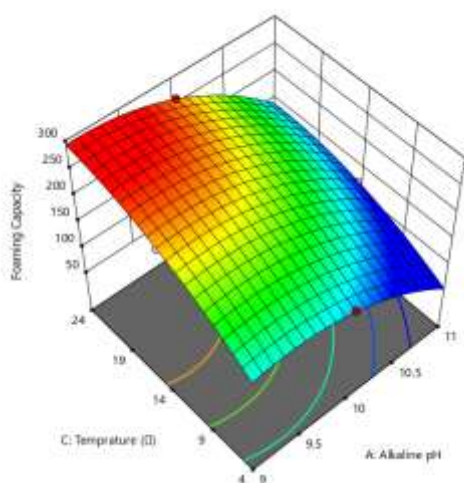
شکل (۱) نمودارهای سه بعدی مربوط به اندازه‌گیری ظرفیت کف‌کنندگی در لحظه صفر یا همان لحظه تشکیل کف را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج آنالیز واریانس، متغیرهای pH قلیایی، pH ایزوالکتریک، اثر متقابل این دو متغیر و اثر متقابل دما و pH ایزوالکتریک تاثیر معنی‌داری بر ظرفیت کف‌کنندگی پروتئین لوبیا سیاه نشان دادند. در شکل (1a) اثر متغیرهای pH ایزوالکتریک و pH قلیایی بر خاصیت کف‌کنندگی ارزیابی شده است. با توجه به شکل، مشاهده شد که با افزایش pH قلیایی (از ۹ به سمت ۱۱)، ظرفیت کف‌زایی ابتدا افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. این کاهش می‌تواند ناشی از افزایش بار خالص منفی بر روی مولکول‌های پروتئین باشد که منجر به دافعه الکترواستاتیکی قوی‌تری بین آن‌ها می‌گردد. این دافعه می‌تواند مانع از تشکیل لایه‌های مترکم و پایدار در سطح مشترک هوا-آب شده و در نتیجه، کارایی تشکیل کف را کاهش دهد. این رفتار با یافته‌های مطالعات پیشین که بر اهمیت بار سطحی پروتئین در تشکیل کف تأکید دارند، همخوانی دارد [۱۹، ۱۲]. بر اساس اصول پذیرفته‌شده در شیمی پروتئین، کاهش بار خالص سطحی و کاهش دافعه الکترواستاتیک بین مولکول‌های پروتئین در pH‌های خاص، می‌تواند نرخ جذب پروتئین به سطح مشترک هوا-آب را افزایش دهد. این امر به تشکیل لایه‌های پروتئینی پایدارتر و

مناطق آبگريز است كه توسط ساير محققين نيز توضيح داده شده است [۲۱].

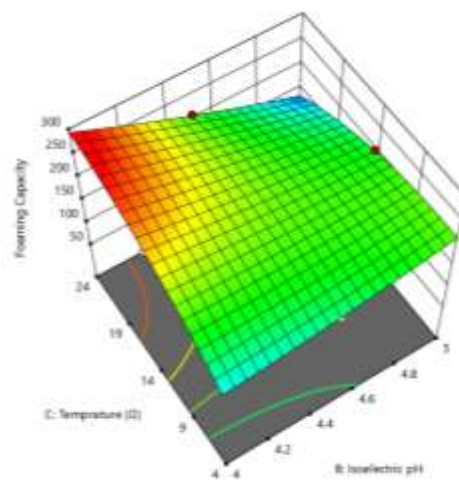
در سطح مشترك هوا/آب را تقويت كرده و در نتيجه، كارايى تشكيل كف را بهبود مى بخشد. تفسير اين نتايج در مورد افزايش ظرفيت كف كنندگى با افزايش دما، همسو با مكانيسم هاى پذيرفته شده دناتوراسيون پروتئين و آشكار شدن



(a)



(b)



(c)

Fig. 1. The interaction of Alkaline pH and Isoelectric pH (a), temperature and Alkaline pH (b), temperature and Isoelectric pH (c) on the foam formation capacity of black bean protein at the moment of foam formation

$$Y = +236.67 - 25.00 A + 13.75 B + 3.75 C + 40.00 AB - 10.00 AC - 52.50 BC - 42.08 A^2 + 5.42 B^2 - 24.58 C^2$$

رابطه ($R^2 = 0.9956$)

با توجه به مطالب بيان شده ميزان خاصيت تشكيل كف در لحظه صفر براساس مقادير واقعى با رابطه (۱) بدست مى آيد:

پروتئین‌ها به یکدیگر جلوگیری می‌کند. این دافعه، به جای آنکه مانع تشکیل لایه شود، به تثبیت شبکه کمک کرده و مانع از شکستن دیواره‌های سلولی حباب‌ها توسط نیروهای جاذبه و اندروالسی قوی در مرز مشترک می‌شود [۲۱].

تأثیر دما نیز بر پایداری کف مشهود بود. همانطور که در شکل‌های (2c, 2b) نشان داده شده است، افزایش دما، همراه با افزایش pH قلیایی یا در سطوح پایین pH ایزوالکتریک، پایداری کف را بهبود بخشید. این یافته‌ها با نتایج مطالعات اسدیگی و همکاران همخوانی دارد. نتایج آن‌ها نشان داد که افزایش دما، پایداری کف پروتئین عدس را در زمان ۳۰ دقیقه پس از تشکیل کف افزایش می‌دهد [۲۳]. این همخوانی نشان می‌دهد که مکانیسم‌های مشابهی در پایداری کف پروتئین‌های مختلف گیاهی در دماهای بالا نقش دارند. مکانیسم پیشنهادی در این زمینه این است که افزایش دما، انعطاف‌پذیری ساختاری پروتئین را افزایش می‌دهد. این انعطاف‌پذیری امکان آرایش بهتر و متراکم‌تر پروتئین‌ها را در لایه فیزیکی مرز مشترک فراهم می‌آورد، که این خود منجر به بهبود تشکیل تعاملات آگریز بهینه بین مولکول‌های پروتئینی و کاهش نشت آب از دیواره فوم می‌شود. این تعادل بین دنا تورا سیون جزئی (آشکارسازی آگریزی) و حفظ ساختار کافی، کلید افزایش پایداری طولانی مدت (۳۰ دقیقه) است. البته، لازم به ذکر است که افزایش بیش از حد دما می‌تواند منجر به دنا تورا سیون کامل پروتئین‌ها و کاهش پایداری کف شود، بنابراین بهینه‌سازی دما برای هر پروتئین خاص ضروری است.

(۱)

در این رابطه Y ظرفیت تشکیل کف (درصد)، A نماد pH قلیایی، B نماد pH ایزوالکتریک و C دمای سانتی‌گراد (درجه سانتی‌گراد) می‌باشد.

۳-۳- ارزیابی پارامتر پاسخ پایداری کف در ۳۰ دقیقه

پایداری فوم‌های پروتئینی با توانایی پروتئین در ایجاد یک شبکه الاستیک به هم پیوسته در سطح مشترک هوا/آب تعیین می‌شود [۲۲].

نتایج مربوط به پایداری کف پروتئین لوبیا سیاه ۳۰ دقیقه پس از تشکیل کف در شکل (۲) ارائه شده است. بر اساس نتایج آنالیز واریانس، متغیرهای pH قلیایی، pH ایزوالکتریک و دما همگی تأثیر معنی‌داری بر پایداری کف پروتئین لوبیا سیاه در مدت زمان ۳۰ دقیقه پس از تشکیل کف را داشتند. علاوه بر این، اثرات متقابل بین این متغیرها نیز از نظر آماری معنی‌دار بود، که نشان‌دهنده پیچیدگی و وابستگی متقابل این عوامل در تعیین پایداری نهایی کف است. با توجه به شکل (2a)، افزایش میزان pH قلیایی به ویژه در سطوح پائین pH ایزوالکتریک، منجر به افزایش پایداری کف شد، بطوری‌که بیشترین میزان پایداری کف پس از گذشت ۳۰ دقیقه از زمان تشکیل کف، در pH برابر با ۱۱ مشاهده گردید. این امر مستقیماً با افزایش قوی دافعه الکترواستاتیکی بین مولکول‌های پروتئین در سطح مشترک هوا/آب مرتبط است. در pH بالا، بار منفی شدید بر روی زنجیره‌های جانبی پروتئین اعمال می‌شود که از جذب بیش از حد و پیوستن

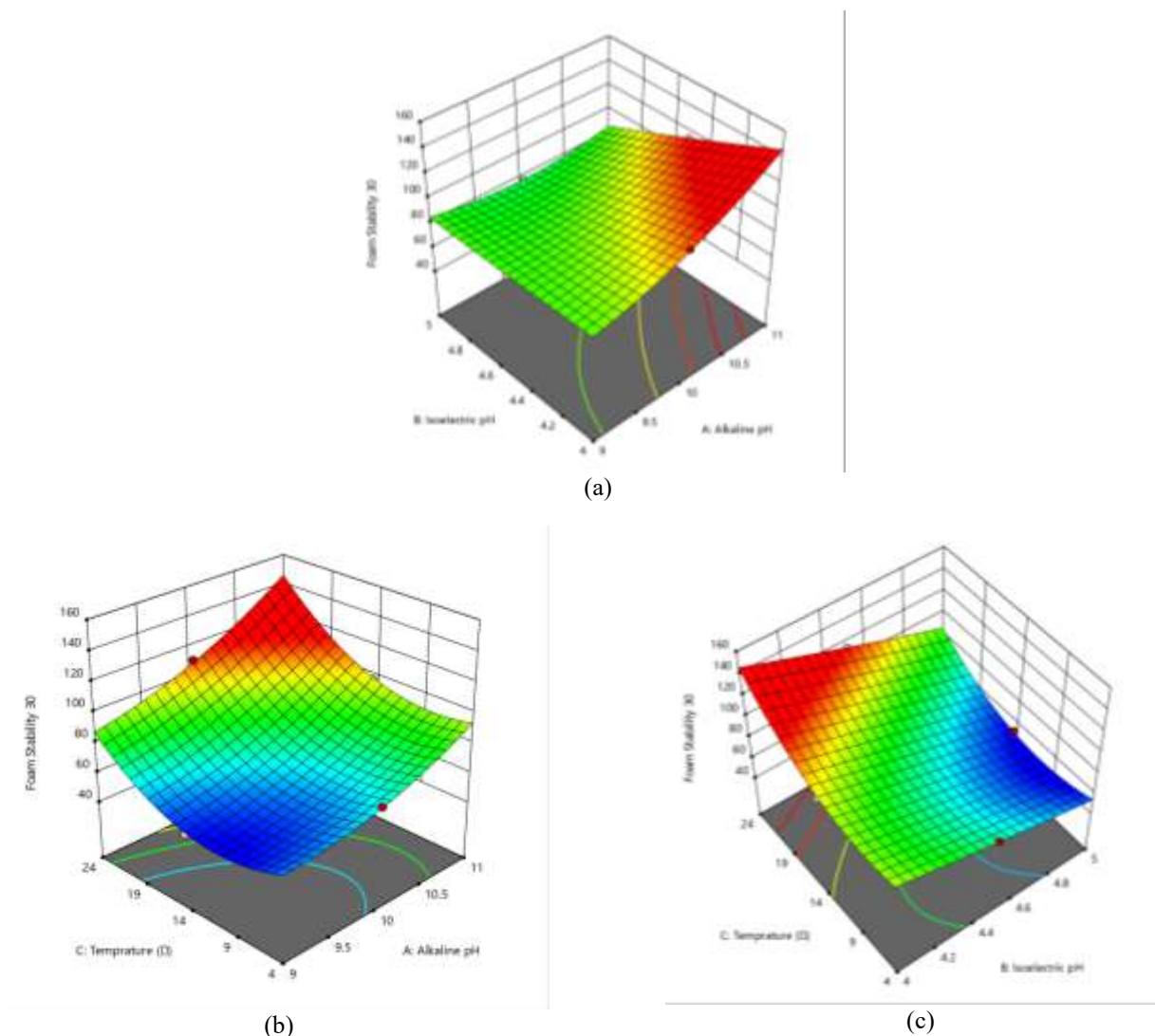


Fig. 2. The interaction of alkaline pH and isoelectric pH (a), temperature and alkaline pH (b), temperature and isoelectric pH (c) on the stability of black bean protein foam 30 min after foam formation

در این رابطه Y میزان پایداری کف پس از ۳۰ دقیقه (درصد)،
A نماد pH قلیایی، B نماد pH ایزوالکتریک و C دمای
سانتریفوژ (درجه سانتی‌گراد) می‌باشد.

با توجه به مطالب بیان شده میزان پایداری کف پروتئین لوبیا
سیاه پس از گذشت ۳۰ دقیقه براساس مقادیر واقعی با رابطه
(۲) بدست می‌آید:

۳-۴- ارزیابی پارامتر پاسخ پایداری کف در ۶۰ دقیقه

در بررسی پایداری کف در ۶۰ دقیقه، نتایج آنالیز واریانس در
جدول (۳) ارائه شده‌اند. این نتایج نشان می‌دهند که مدل
درجه دوم انتخاب شده، با مقدار P-value کمتر از ۰.۰۰۰۱،
از لحاظ آماری بسیار معنادار است و توانایی بالایی در

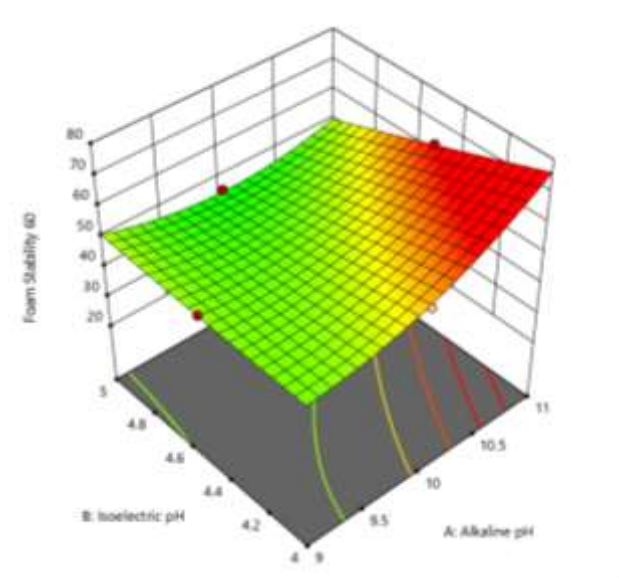
$$Y = +54.96 + 9.18 A - 10.37 B + 15.57 C - 14.51 AB + 5.57 AC - 5.02 BC + 8.39 A^2 + 0.9463 B^2 + 21.58 C^2$$

رابطه (۲) $(R^2 = 0.9977)$

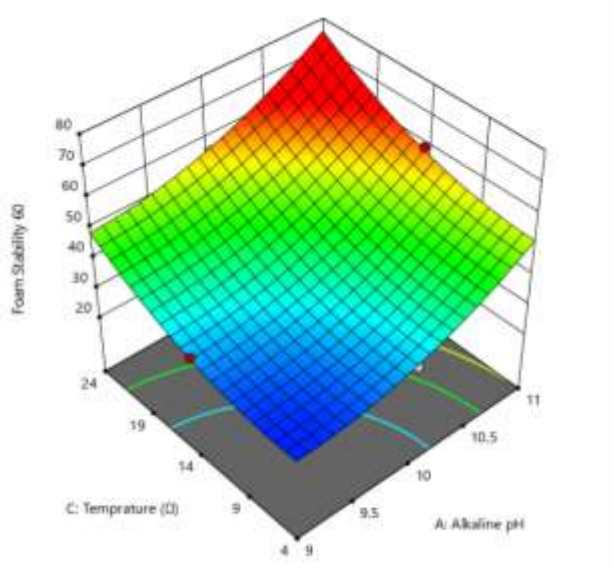
توصیف داده‌ها دارد. همچنین، مقدار Adeq Precision برابر با ۳۴.۹۱۰۳ به دست آمده که نشان‌دهنده دقت بالایی مدل در پیش‌بینی پاسخ‌ها است. با توجه به ضریب تغییرات، می‌توان نتیجه گرفت که داده‌ها دارای پراکندگی کمی بوده و از همگنی مناسبی برخوردار هستند. در مجموع، نتایج نشان می‌دهند که مدل انتخابی برای بررسی پایداری کف در ۶۰ دقیقه، از اعتبار و دقت بالایی برخوردار است و می‌تواند به عنوان ابزاری مناسب برای پیش‌بینی و بهینه‌سازی این ویژگی مورد استفاده قرار گیرد.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، پایداری کف پروتئین لوبیا سیاه پس از گذشت ۶۰ دقیقه از تشکیل کف، تحت تأثیر متغیرهای pH قلیایی، pH ایزوالکتریک و دما قرار دارد و این عوامل به صورت معنی‌داری بر پایداری کف اثر می‌گذارند. علاوه بر این اثر متقابل pH قلیایی و pH ایزوالکتریک نیز معنی‌دار است. همانطور که در شکل (3a) نشان داده شده است، افزایش pH قلیایی منجر به افزایش پایداری کف می‌شود. این پدیده را می‌توان به افزایش بار منفی روی مولکول‌های پروتئین در pHهای بالاتر نسبت داد. این بار منفی باعث افزایش دافعه الکترواستاتیکی بین مولکول‌های پروتئین شده و از تجمع و تشکیل شبکه‌های ناپایدار جلوگیری می‌کند. در نتیجه، حباب‌های هوا بهتر محافظت شده و پایداری کلی کف حفظ می‌شود. این یافته با اصول کلی رفتار پروتئین‌ها در pHهای مختلف مطابقت دارد، جایی که در pHهای دور از نقطه ایزوالکتریک، پروتئین‌ها باردارتر شده و تمایل کمتری به تجمع دارند [۲۴].

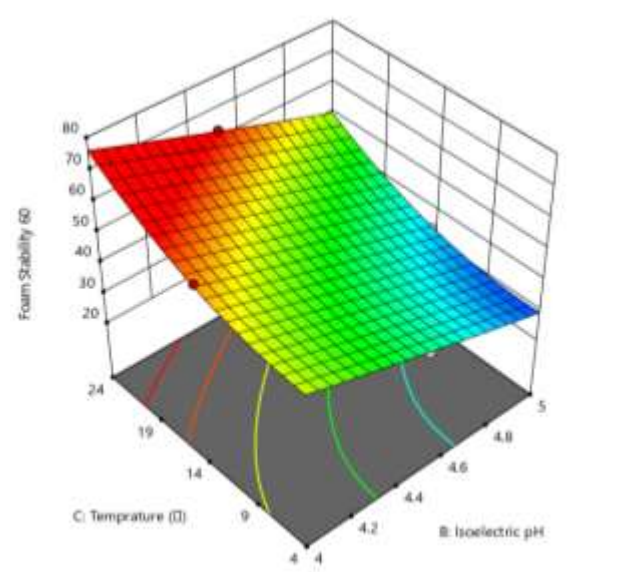
همانطور که در شکل (3b) نشان داده شده ترکیب افزایش pH قلیایی و دما، تأثیر مثبت و افزایشی بر پایداری کف در مدت ۶۰ دقیقه داشته است. در pHهای قلیایی، این فرآیند دناتوراسیون و آشکارسازی نواحی آبگریز می‌تواند تشدید شده و به تشکیل شبکه‌های پروتئینی قوی‌تری منجر شود که پایداری کف را در درازمدت (۶۰ دقیقه) بهبود می‌بخشد. با توجه به شکل (3c) بهبود پایداری کف در مقادیر کمتر pH ایزوالکتریک مشاهده شد. این موضوع نشان می‌دهد که در این محدوده pH، پروتئین‌ها در حالتی قرار دارند که هم توانایی خوبی برای جذب در سطح مشترک هوا/آب دارند و هم ساختار آن‌ها به گونه‌ای است که می‌تواند لایه‌ای پایدار تشکیل دهد. به طور خلاصه، ترکیبی از عوامل مانند افزایش دافعه الکترواستاتیکی در pH قلیایی، دناتوراسیون جزئی و آشکارسازی نواحی آبگریز در دماهای بالاتر، و همچنین قرارگیری پروتئین در pH ایزوالکتریک بهینه برای تشکیل شبکه پایدار، باعث افزایش قابل توجه پایداری کف پروتئین لوبیا سیاه پس از ۶۰ دقیقه می‌شود. این نتایج با یافته‌های مطالعات پیشین بر روی پروتئین‌های مختلف گیاهی مطابقت دارد و نشان‌دهنده اصول مشترک حاکم بر پایداری کف پروتئین‌ها است. به طور خاص خان و همکاران (۲۰۱۱)، و ژانگ و همکاران (۲۰۱۱) به این نکته اشاره کردند که در pHهایی دورتر از نقطه ایزوالکتریک، پروتئین‌ها بهتر باز شده و نواحی آبگریز بیشتری را برای تعامل با هوا آشکار می‌کنند که این امر به افزایش ظرفیت و پایداری کف کمک می‌کند [۲۴-۲۵].



(a)



(b)



(c)

Fig. 3. The interaction of alkaline pH and isoelectric pH (a), temperature and alkaline pH (b), temperature and isoelectric pH (c) on the stability of black bean protein foam at 60 min after foam formation

(۳)

با توجه به موارد عنوان شده، پایداری کف پروتئین لوبیا سیاه پس از گذشت ۶۰ دقیقه مطابق رابطه (۳) بدست آمد:

$$Y = +34.13 + 5.73 A - 5.01 B + 10.49 C - 7.02 AB + 0.7925 AC - 0.8325 BC + 5.93 A^2 + 0.2967 B^2 + 5.79 C^2$$

رابطه ($R^2 = 0.9914$)

در این رابطه Y میزان پایداری کف پس از ۶۰ دقیقه (درصد)، A نماد pH قلیایی، B نماد pH ایزوالکتریک و C دمای سانتیفرز (درجه سانتی گراد) می باشد.

۳-۵- ارزیابی حلالیت پروتئین

نتایج آنالیز واریانس تأثیر متغیرهای مستقل بر حلالیت پروتئین های استخراج شده از لوبیا سیاه در جدول (۳) نشان داده شده است. مدل رگرسیون مورد استفاده برای حلالیت پروتئین با استفاده از رابطه (۴) بیان گردید که در آن Y و X به ترتیب غلظت پروتئین (میلی گرم/میلی لیتر) و جذب در طول موج موج ۵۴۰ نانومتر هستند.

$$\text{رابطه (۴)} \\ Y = 0.0498 X + 0.0935 \quad (R^2 0.959)$$

همان طور که در شکل (۴) مشاهده می شود حلالیت پروتئین کاملاً تحت تأثیر pH قرار دارد. داده های این نمودار سه ناحیه را برای حلالیت پروتئین نشان می دهند: حلالیت در ناحیه اسیدی، نزدیک به pH ایزوالکتریک و در ناحیه قلیایی. کمترین میزان حلالیت پروتئین در pH ایزوالکتریک معادل ۴.۶ بود، این یافته مشابه نتایج بیان شده توسط عبدل و همکاران، ۱۹۸۶؛ ال-هاواری، ۱۹۸۸؛ النصری و التیانی، ۲۰۰۷ می باشد [۲۶-۲۸]. علت این پدیده را می توان به صفر بودن برآیند بار الکتریکی در pH ایزوالکتریک و تعادل بین بار الکتریکی مثبت و منفی و در نتیجه کاهش نیروهای دافعه نسبت داد. در این حالت، برهم کنش های آب-پروتئین (آب دوست) به دلیل غلبه نیروهای جاذبه داخلی (پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی) تضعیف شده و پروتئین ها به دلیل کاهش نیروهای دافعه الکترواستاتیکی، شروع به تجمع و رسوب می کنند؛ این یک فرآیند ذاتی در رفتار پروتئین ها است. مجموع این دلایل باعث کاهش حلالیت پروتئین می گردد. در pH های قلیایی و اسیدی به ترتیب به دلیل

افزایش بار منفی ناشی از گروه های کربوکسیل و بار مثبت ناشی از گروه های آمین، نیروهای دافعه الکتروستاتیک بین اسیدهای آمینه با بارهای هم نام افزایش یافته و در نتیجه حلالیت بیشتر می شود. شکل (4a) اثر متقابل pH قلیایی و pH ایزوالکتریک بر حلالیت پروتئین استخراج شده از لوبیا سیاه را نشان می دهد. با توجه به شکل، مشخص است که افزایش pH قلیایی باعث افزایش معنی دار حلالیت شده است و اثر آن بیشتر از اثر pH ایزوالکتریک است. این امر به دلیل افزایش بار منفی پروتئین ها در pH های قلیایی و افزایش دافعه بین آنها است. شکل (4b) اثر متقابل pH ایزوالکتریک و دما بر حلالیت پروتئین استخراج شده از لوبیا سیاه را نشان می دهد. مطابق شکل بیشترین میزان حلالیت در pH معادل ۴ به دست آمده است. افزایش دمای سانتیفرز، باعث کاهش حلالیت شده است. افزایش دما می تواند منجر به دناتوراسیون پروتئین و در نتیجه کاهش حلالیت شود. شکل (4c) اثر متقابل pH قلیایی و دما را بر حلالیت پروتئین استخراج شده از لوبیا سیاه نشان می دهد. مطابق شکل بیشترین حلالیت در pH برابر ۱۰ و دماهای پایین سانتیفرز به دست آمده است. افزایش pH قلیایی و دمای سانتیفرز خصوصاً در دماهای بالا باعث کاهش معنی دار حلالیت شده است. این نتایج نشان می دهد که شرایط بهینه برای حفظ حلالیت پروتئین های لوبیا سیاه، pH قلیایی و دمای پایین است.

با توجه به موارد عنوان شده، حلالیت پروتئین لوبیا سیاه بر اساس داده های کد شده مطابق رابطه (۵) بدست می آید:

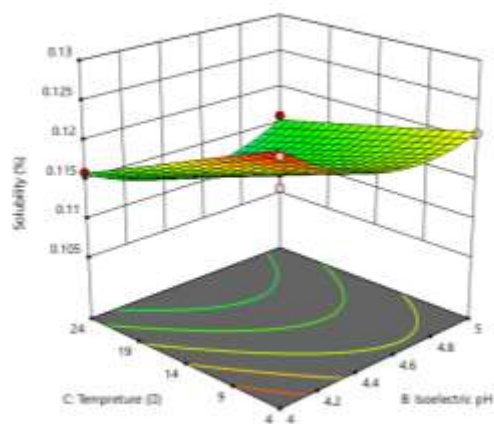
$$Y = +0.1160 - 0.0011 A - 0.0015 B - 0.0041 C + 0.0013 AB - 0.0005 AC + 0.0013 BC - 0.0045 A^2 + 0.0038 B^2 \quad (R^2 = 0.9730)$$

رابطه (۵)

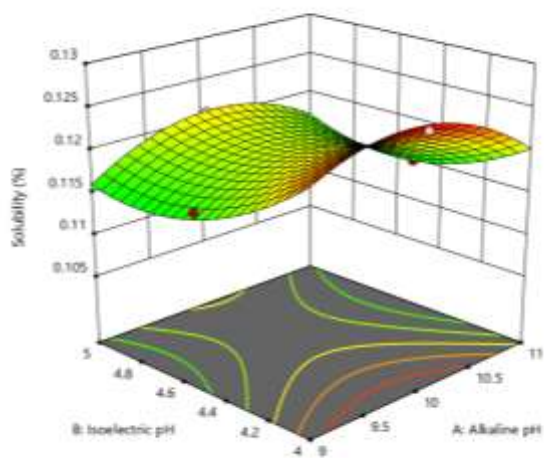
در این رابطه، Y نشان دهنده حلالیت پروتئین لوبیا سیاه (میلی گرم در میلی لیتر)، A بیانگر pH قلیایی، B بیانگر pH ایزوالکتریک و C بیانگر دمای سانتیفرز (درجه سانتی گراد) می باشد.

(۱۰) باعث افزایش حلالیت پروتئین در سبوس برنج می‌شود. این امر به دلیل مشابهی، یعنی افزایش بار منفی پروتئین و افزایش دافعه الکترواستاتیک توضیح داده شد [۱۶].

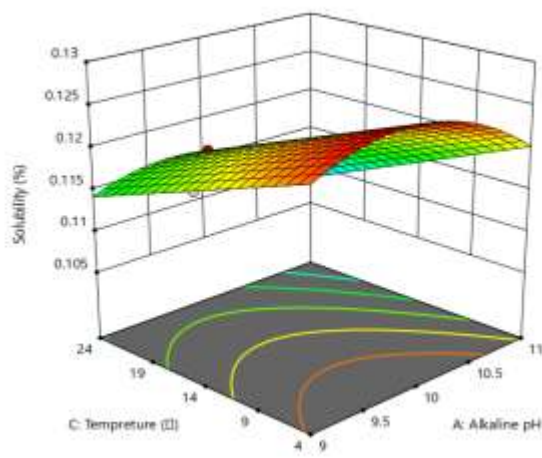
یافته‌های این تحقیق با مطالعات پیشین در مورد حلالیت پروتئین‌های گیاهی تهیه شده از منابع مختلف همخوانی دارد. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای که توسط (فونگتای و همکاران، ۲۰۱۶) انجام شد، نشان داده شد که افزایش pH (تا حدود



(a)



(b)



(c)

Fig. 4. The interaction of alkaline pH and isoelectric pH (a), temperature and alkaline pH (b), temperature and isoelectric pH (c) on protein solubility of black bean protein

۳-۶- بهینه سازی پارامترهای پاسخ

معنی داری بین داده های تجربی (در سه تکرار) و داده های پیش بینی شده مشاهده نشد ($p > 0.05$) که نشان دهنده دقت مناسب مدل است. مطلوبیت مدلسازی ۰/۸۸۶ به دست آمد.

برای بهینه سازی عددی کف، پایداری کف و حلالیت پروتئین لوبیا سیاه، مقادیر متغیرهای مستقل در محدوده تعریف شده و متغیرهای وابسته در حالت حداکثر قرار گرفتند. مطابق جدول (۴) و نتیجه آزمون t Student تفاوت

Table 4. Predicted and experimented optimal conditions

	Alkaline pH	Isoelectric pH	Temperature (°C)	Foam Capacity (%)	Foam Stability 30 min (%)	Foam Stability 60 min (%)	Solubility (mg/ml)
Criteria	Is in range	Is in range	Is in range	Maximize	Maximize	Maximize	Maximize
Predicted	10.089	4	24	253.024	111.096	57.803	0.116
Experimented	10.089	4	24	251±1 ^{ns}	110±1 ^{ns}	58.87±0.017 ^{ns}	0.115±0.002 ^{ns}

ns = not significant

نداشت ($p > 0.05$). این یافته ها می تواند به افزایش استفاده از پروتئین های گیاهی به عنوان جایگزین طبیعی و سالم در صنایع غذایی و تولید محصولات کاملاً طبیعی و با کیفیت کمک کند.

رضایت نامه کتبی

رضایت نامه کتبی و آگاهانه از تمامی شرکت کنندگان در مطالعه اخذ شد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می کنند که هیچ گونه تعارض منافع ندارند.

بیانیه دسترسی ها

داده های پژوهش در صورت درخواست از سوی نویسنده مسئول به اشتراک گذاشته می شوند.

مشارکت نویسندگان

سعیده شفیع و رزانه در جمع آوری و تحلیل داده ها، تامین مالی، روش شناسی، نگارش و بازنگری متن مقاله و نفیسه

۴- نتیجه گیری

پایداری کف یک پدیده پیچیده است که تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله pH، نقطه ایزوالکتریک، دما، ساختار پروتئین قرار دارد. این مطالعه نشان داد که پروتئین های لوبیای سیاه با قابلیت های کف کنندگی مطلوب، تحت شرایط خاص فیزیوشیمیایی، به ویژه در محدوده pH قلیایی و در دماهای بالاتر، به طور معناداری به پایداری کف کمک می کنند. با افزایش pH تا میزان ۱۱، ظرفیت کف و پایداری کف پروتئین ها به حداکثر رسید که این امر به دلیل تغییرات الکترواستاتیکی و دناتوراسیون جزئی پروتئین ها بود. همچنین دما به عنوان یک عامل مؤثر بر روی ویژگی های کف کنندگی، با افزایش دما، شرایط بهتری برای تشکیل و تثبیت کف فراهم کرد. در شرایط بهینه pH قلیایی (۱۰.۰۸)، pH ایزوالکتریک (۴) و دما (۲۴ درجه سانتی گراد)، بیشترین میزان حلالیت (۱.۱۶٪)، بیشترین ظرفیت کف کنندگی (۲۵۳.۰۲٪) و بیشترین پایداری کف در ۳۰ دقیقه (۱۱۱.۰۹٪) و در ۶۰ دقیقه (۵۷.۸۰٪) برای پروتئین لوبیا سیاه بدست آمد. نتایج پیش بینی نرم افزار با داده های تجربی تفاوت معنی داری

زمین‌دار در مفهوم سازی، مدیریت پروژه، معتبرسازی، مدلسازی نرم افزار و نگارش و بازنگری مقاله، شهره واحد و سید نظام الدین میرستاری در روش شناسی و مشاوره طرح مشارکت داشته‌اند.

۵-منابع

- Campbell, G. M. (2008). A history of aerated [1] [۱] foods. In *Bubbles in Food 2* (pp. 1-21). AACC International Press.
- [2] Deotale, S., Dutta, S., Moses, J. A., Balasubramaniam, V. M., & Anandharamakrishnan, C. (2020). Foaming characteristics of beverages and its relevance to food processing. *Food engineering reviews*. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09213-4>
- [3] Campbell, G. M., & Mougeot, E. (1999). Creation and characterisation of aerated food products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(9), 283–296.
- [4] Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Naes, T., & Varela, P. (2017). Making sense of the "clean label" trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. *Food Research International*, 99, 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.022>
- [5] Nadathur, S., Wanasundara, J. P., & Scanlin, L. (Eds.). (2016). *Sustainable protein sources*. Academic Press.
- [6] World Health Organization. (2024). *Malnutrition [fact sheet]*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>.
- [7] Jiang L, Wang J, Li Y, Wang Z, Liang J, Wang R, et al. Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. *Food Res Int.* (2014) 62:595–601. doi: 10.1016/j.foodres.2014.04.022
- [8] Evangelho, J. A. d., Vanier, N. L., Pinto, V. Z., Berrios, J. J. D., Dias, A. R. G., & da Zavareze, E. R. (2017). Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates: Physicochemical and functional properties. *Food Chemistry*, 214, 460–467.
- [9] L. Day, Proteins from land plants Potential resources for human nutrition and food security, *Trends Food Sci. Technol.* 32 (2013) 25-42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.005>.
- [10] R. Saurel, Pea proteins: structure, extraction and functionalities, *Agri-food* (2020). <https://doi.org/10/gm97f3>
- [11] L.M. Sagis, J. Yang, Protein-stabilized interfaces in multiphase food: comparing structure-function relations of plant-based and animal-based proteins, *Curr. Opin. Food Sci.* 43 (2022) 53-60. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.11.003>.
- [12] Rezaee Barzani H, Zamindar N. Optimizing the functional characteristic of the protein foam stability of Anna variety Kabuli chickpea. *FSCT 2025*; 22 (158):31-47
URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-71377>
- [13] Cermeño, M., Silva, J. V., Arcari, M., & Denkel, C. (2024). Foaming properties of plant protein blends prepared using commercial faba bean and hemp protein concentrates at different faba bean/hemp protein ratios. *Lwt*, 198, 115948.
- [14] Périé, L., Savoie, R., Harscoat-Schiavo, C., Delample, M., Roze, M., Crepin, M., & Leal-Calderon, F. (2025). Improvement of the foaming properties of pea protein concentrate suspensions by physical or enzymatic treatments. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 709, 136076.
- [15] Zheng Z, Li J, Li J, Sun H, Liu Y. (2019). Physicochemical and antioxidative characteristics of black bean protein hydrolysates obtained from different enzymes. *Food Hydrocolloids*. Dec 1;97:105222.
- [16] Phongthai S, Lim ST, Rawdkuen S. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties. *Journal of cereal science*. Jul 1;70:146-54.
- [17] Mousakhani-Ganjeh, A., Hamdami, N., & Soltanizadeh, N. (2015). Impact of high voltage electric field thawing on the quality of frozen tuna fish (*Thunnus albacares*). *Journal of Food engineering*, 156, 39-44.
- [18] Moure, A., Sineiro, J., Domínguez, H., & Parajo, J. C. (2006). Functionality of oilseed protein products: A review. *Food Research International*, 39(9), 945–963.
- [19] Samaei, S. P., Ghorbani, M., Sadeghi Mahoonak, A., & Alami, M. (2021). Investigation of functional and antioxidant properties of faba bean protein

hydrolysates using combines hydrolysis. Food Processing and Preservation Journal, 12(2), 25-38.

[20] Gochev, G., Retzlaff, I., Exerowa, D., & Miller, R. (2014). Electrostatic stabilization of foam films from β -lactoglobulin solutions. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 460, 272-279.

[21] Osobie, C. C., Olawuni, I., Nwakudu, A., Blessing, N., Emilia, N., & Chinyere, A. (2013). Effect of temperature and pH on the functional properties of flours and protein isolate from dehulled black crowder cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. Natural Products: an Indian Journal, 9(10), 403-411.

[22] Lech, F. J., Delahaije, R. J. B. M., Meinders, M. B. J., Gruppen, H., & Wierenga, P. A. (2016). Identification of critical concentrations determining foam ability and stability of β -lactoglobulin. Food Hydrocolloids, 57, 46-54.

[23] Asadbeigi, M., Zamindar, N., Goli, M. (2023). Optimization of Functional Properties of Emulsion and Foam of Kimia Lentil Protein Isolate. Iranian Journal of Pulses Research, 14(1), 133-145.

[24] Khan, S. H., Butt, M. S., Sharif, M. K., Sameen, A., Mumtaz, S., & Sultan, M. T. (2011). Functional properties of protein isolates extracted from stabilized rice bran by microwave, dry heat, and parboiling. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(6), 2416-2420.

[25] Zhang, H., Claver, I. P., Zhu, K. X., & Zhou, H. (2011). The effect of ultrasound on the functional properties of wheat gluten. Molecules, 16(5), 4231-4240.

[26] Abdel-Aal, E. S. M., Shehata, A. A., El-Mahdy, A. R., & Youssef, M. M. (1986). Extractability and functional properties of some legume proteins isolated by three different methods. Journal of the Science of Food and Agriculture, 37(6), 553-559.

[27] El-Hawwary, N. A. (1988). Relation between iso-electric point and soluble protein extracted from plant seeds at pH 10. Agricultural Research Review, 66(3), 433-439.

[28] El Nasri, N. A., & El Tinay, A. H. (2007). Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. Food chemistry, 103(2), 582-589.



Scientific Research

Functional Characterization of Black Bean Protein with Emphasis on Solubility, Foam Formation and Stability

Saeideh Shafiei Varzaneh¹, Nafiseh Zamindar^{2*}, Shohreh Vahed³, Seyed Nezamoddin Mirsattari⁴

1-PhD Student, Department of Food Science, Shah .C., Islamic Azad University, Shahreza, Iran

2-Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Water, Food, and

Nutraceuticals, Isf.C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Food Science, Shah .C., Islamic Azad University, Shahreza, Iran

4- Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Agriculture, Water, Food, and Nutraceuticals, Isf.C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2025/08/05

Review: 2026/01/07

Accepted: 2026/01/31

Keywords:

Black bean protein,

Functional Properties,

Foaming properties,

Foam stability,

Protein solubility

DOI: 10.48311/fsct.2026.84082.0

*Corresponding Author E-

n.zamindar@iaui.ac.ir

In the growing food industry landscape, the increasing attention to foam-structured foods as healthy and attractive components necessitates a deeper understanding of the functional properties of plant proteins. Plant proteins, especially black bean (*Phaseolus vulgaris*) proteins, have been considered as healthy and natural alternatives to animal proteins. However, a deep understanding of the environmental parameters affecting the solubility, foaming and stability properties of these proteins plays a key role in improving their performance. In this study, the effects of physicochemical conditions including alkaline pH (9-11), isoelectric pH (4-5) and temperature (4-24 °C) on the solubility, foaming capacity and stability of black bean proteins were investigated. The results showed that increasing alkaline pH and temperature led to a significant improvement in protein structure and the formation of a more stable layer. Higher temperatures caused partial denaturation and the emergence of hydrophobic regions, which create stronger protein networks. Under the optimal physicochemical conditions including alkaline pH (10.08), isoelectric pH (4) and temperature (24°C), the highest solubility (1.15%), highest foaming capacity (253.02%), and highest foam stability at 30 min (111.09%) and 60 min (57.80%) were observed. The software prediction results did not differ significantly from the experimental data ($p>0.05$). These findings not only provide a greater understanding of the mechanisms of foam formation and stability, but also pave the way for the development of plant-based foam products with optimized physical and functional properties.