مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بهینه‌سازی استخراج پروتئین دانه شنبلیله به کمک امواج فراصوت و بررسی خصوصیات ساختاری، عملکردی و فعالیت ضد اکسایشی آن

آلا قاسمی کیا[1]، علی گنجلو[2]*، ماندانا بی مکر[2]

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد فناوری مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲ دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۹/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲

کلمات کلیدی:

استخراج،

روش شناسی سطح پاسخ،

طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه،

حلالیت پروتئین،

ظرفیت کف‌کنندگی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5

* مسئول مکاتبات:

aganjloo@znu.ac.ir

چکیده

پروتئین‌ها به دلیل ویژگی‌های عملکردی و سلامت بخشی یکی از اجزاء مهم فرآورده‌های غذایی محسوب می‌شوند. در میان پروتئین‌های گیاهی، پروتئین دانه شنبلیله به دلیل میزان بالای اسید آمینه‌های ضروری بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف بهینه‌سازی استخراج پروتئین از دانه شنبلیله به کمک امواج فراصوت و بررسی ویژگی‌های عملکردی، ساختاری و فعالیت ضد اکسایشی انجام شد. فراصوت با قدرت ۸۰ وات و مدت زمان ۲۸/۳۹ دقیقه شرایط بهینه برای استخراج پروتئین بود که تحت این شرایط بازده استخراج پیش بینی شده (۸/۶۵ درصد) مطابقت بسیار خوبی با مقدار تجربی (۸/۵۷ درصد) داشت. در طیف مادون قرمز تبدیل فوریه باندهای شاخص مربوط به آمید A، آمیدهای نوع I ، II و III مشاهده گردید. حلالیت پروتئین وابسته به تغییرات pH بود. ظرفیت جذب آب و روغن پروتئین استخراج شده به کمک امواج فراصوت به ترتیب معادل ۶/۲۴ و ۲/۷۲ میلی‌لیتر به ازاء یک گرم پروتئین به دست آمد. کمترین ظرفیت کف‌کنندگی (۴۴/۶۶ درصد) در pH معادل۴/۵ و بیشترین ظرفیت کف‌کنندگی (۹۲/۴۹ درصد) درpH معادل ۱۰ مشاهده شد. بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی در pH ۱۰، به میزان ۸۴/۵۳ درصد و کمترین میزان در pH نقطه ایزوالکتریک (۵۴/۸۲ درصد) مشاهده شد. با ثابت درنظر گرفتن pH، پایداری کف و امولسیون در طول زمان کاهش یافت. نتایج نشان داد که می‌توان از فناوری فراصوت به‌طور کارآمدی جهت کاهش زمان فرایند استخراج پروتئین از دانه شنبلیله استفاده نمود. به‌علاوه پروتئین دانه شنبلیله استخراج شده به کمک امواج فراصوت دارای خواص عملکردی و ضد اکسایش مطلوبی است که استفاده از آن را در صنعت غذا امکان‌پذیر می‌سازد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

۱- مقدمه

استفاده از پروتئین‌ها به‌عنوان یک منبع تغذیه‌ای در راستای تأمین اسیدهای‌آمینه ضروری بدن خصوصا در کشورهای در حال توسعهغیر قابل اجتناب است [۱]. به‌علاوه، پروتئین‌ها به دلیل ویژگی‌های عملکردی، سلامت بخشی و حسی نقش مهمی به‌عنوان یکی از اجزاء فرمولاسیون غذایی بازی می‌کنند [۲]. متاسفانه عدم وجود توازن بین افزایش جمعیت انسان‌ها و تولید منابع پروتئینی خصوصا انواع حیوانی سبب افزایش تکاپوجهت دستیابی به منابع جدید پروتئینی شده است. در سال‌های اخیر، استفاده از پروتئین‌های گیاهی به‌علت ارزش غذایی بالا و ویژگی‌های عملکردی مناسب همراه با قیمت کم و تنوع زیاد، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. از مهم‌ترین ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها می‌توان به ظرفیت نگهداری آب و روغن، حلالیت، تورم، تشکیل ژل، خصوصیات امولسیون کنندگی و کف‌زایی اشاره نمود که بر سیستم‌های غذایی طی آماده سازی، فرآوری، نگهداری و مصرف تأثیر بسزایی دارند [۳]. نحوه تولید آرد و یا ایزوله پروتئینی، منبع پروتئین، عوامل فیزیکی و شیمیایی نظیر دما، غلظت نمک، pH و نوع ترکیبات مرتبط با شبکه پروتئینی از جمله عوامل موثر بر خواص عملکردی پروتئین‌های گیاهی بشمار می‌روند [٤، ٥]. پیش از این استخراج پروتئین از منابع گیاهی مختلف نظیر نخود [٦]، ماش [۷]، خلر [۸]، عدس [۹]، کینوآ [۱۰] انجام شده و خصوصیات ساختاری و عملکردی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

دانه شنبلیله در میان بقولات به علت قیمت پایین، درصد پروتئین بالا و ارزش غذایی مطلوب بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۱۱]. شنبلیله بانام علمی *Trigonellafoenumgraecum* گیاهی علفی، یک‌ساله، دولپه‌ای متعلق به خانواده فاباسه[1] است که عمدتا در کشورهای جنوب شرق آفریقا، جنوب غرب آسیا، هند و اطراف دریای مدیترانه کشت می‌شود [۱۲، ۱۳]. ریشه، دانه و اندام هوایی این گیاه غنی از متابولیت‌های ثانویه از جمله فنول‌ها و ساپونین‌ها است. دانهاین گیاه حاوی ۳٦-۲۳ درصد پروتئین (آلبومین‌ها، گلوبولین‌ها، گلوتنین‌ها و پرولامین‌ها)، ۵۸ درصد کربوهیدرات و مقادیر زیادی آهن، فسفر و ویتامین D است[١٤]. دانه شنبلیله که معمولا از آن به‌عنوان داروی گیاهی و ادویه استفاده می‌شود دارای خواص دارویی نظیر اشتهاآور، ملین،خلط آور، عامل ضد دیابت، ضد تب،ضد اکسایش، ضد سرطان و کاهنده کلسترول خون می‌باشد [۱۵]. به‌علاوه مشخص شده است که دانه‌های شنبلیله به دلیل محتوای پکتین بالا (۵۰ درصد) از طریق تشکیل سوسپانسیون کلوئیدی در زمان هیدراته شدن سبب کاهش سرعت تخلیه معده و جذب گلوکز می‌شوند[١٦].

استخراج قلیایی و ترسیب پروتئین‌ها در نقطه ایزوالکتریک متداول‌ترین روش برای استخراج پروتئین از منابع مختلف گیاهی است. فرایند استخراج قلیایی پروتئین دانه شنبلیله توسط فیضی و همکاران (۲۰۱۵) بهینه سازی گردید [۱۱]. شرایط بهینه استخراج شامل pH معادل ۹/۲۵ و غلظت سدیم کلرید ۰/۳۳ مولار بود. به‌علاوه، فیضی و همکاران (۲۰۱۵) طی مطالعه دیگری به بررسی خواص عملکردی ایزوله پروتئین شنبلیله استخراج شده به روش استخراج قلیایی پرداختند [۱۷]. آنها گزارش کردند کمترین میزان حلالیت در pH برابر ٤/٥ رخ می‌دهد و ظرفیت کف کنندگی، امولسیون کنندگی، جذب آب و روغن به ترتیب حدودا برابر ۱۳٦ درصد، ۳۹ درصد، ۲/۷ و ٦/٦ میلی‌لیتر به ازاء هر گرم ایزوله پروتئین می‌باشد. امروزه تمایل به استفاده از تکنیک‌های نوین استخراجنظیر استفاده از امواج مایکروویو [۱۸]، میدان الکتریکی پالسی [۱۹]، امواج فراصوت[۲۰-۲۲] و سیال فوق بحرانی [۲۳، ٢٤] افزایش یافته است. استخراج به کمک امواج فراصوت یکی از روش‌های نوین ارزان قیمت، ساده و کارآمد برای جداسازی ترکیبات موجود در گیاهان محسوب می‌شود. امواج فراصوت به امواج مکانیکی بافرکانس بیش از ۱۸ کیلوهرتز اطلاق می‌شود که برای انسان قابل تشخیص نمی‌باشند وغالبا برای انتشار نیاز به محیط مایع دارند[۲۵]. پدیده حفره‌زایی ناشی از امواج فراصوت با ایجاد تغییرات فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی باعث تورم سلول‌های گیاهی و یا تجزیه دیواره سلولی در حین فرایند فراصوت شده و باعث شستن املاح از دیواره‌های سلولی تخریب شده می‌شود [٢٦]. حین عبور امواج فراصوت از محیط مایعدر اثر فروپاشی حباب‌های تشکیل شده دمایی در حدود ۵۰۰۰ درجه کلوین و فشاری معادل ۵۰ مگاپاسکال به‌صورت موضعی تشکیل می‌شود. تغییرات فشار و دما ایجاد شده در اثر انفجار حباب‌ها سبب ایجاد نیروهای برشی، نازک شدن غشای سلولی و تخریب سلول‌ها و در نتیجه افزایش میزان نفوذ حلال به داخل سلول و افزایش انتقال جرم ترکیبات

1. *Fabaceae*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

هدف به داخل حلال می‌گردد [۲۷]. چنین پدیده‌ای سبب افزایش کارایی استخراج از طریق افزایش انتقال جرم و سازوکارهای نفوذ داخلی[2] می‌گردد [۲۸]. از این فناوری به‌طور موفقیت آمیزی برای افزایش میزان استخراج پروتئین از ماهی ماکرل [۲۰]، سویا [۲۹]، کلزا [۳۰] و لوبیای سیاه [۳۱] استفاده شده است. تاثیرات فراصوت بر اصلاح پروتئین به لحاظ ساختاری، عملکردی و شیمیایی به اثبات رسیده است [۳۱-۳۳]. بررسی منابع نشان می‌دهد تاکنون مطالعه‌ای بر روی تاثیر فراصوت بر راندمان استخراج پروتئین از دانه شنبلیله و خواص عملکردی و ضد اکسایشی آن انجام نشده است. لذا این پژوهش با هدف بهینه‌سازی استخراج پروتئین از دانه شنبلیله با کمک امواج فراصوت و بررسی خصوصیات ساختاری، عملکردی و ضد اکسایشی پروتئین شنبلیله به‌عنوان جایگزین منابع پروتئین حیوانی در سیستم‌های غذایی مختلف نظیر امولسیون، ژل و کف انجام شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

دانه‌های شنبلیله مورد استفاده در این پژوهش از بازار محلی زنجان تهیه شدند. کلیه حلال‌ها و مواد شیمیایی با درجه آزمایشگاهی از شرکت‌های مرک، سیگما و مجللی تهیه شدند. از روغن مایع آفتابگردان (طبیعت، ایران) برای تهیه امولسیون استفاده شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱-آماده‌سازی آرد چربی‌گیری شده از دانه شنبلیله

ابتدا دانه‌های شنبلیله تمیز و عاری از مواد زائد با استفاده از یک آسیاب آزمایشگاهی خرد و سپس به‌منظور تولید پودر یکنواخت از یک الک با مش ۴۰ عبور داده شدند. آرد به دست آمده به‌منظور چربی‌زدایی با نسبت ۱ به ۵ وزنی- حجمی با هگزان نرمال مخلوط شد و پس از شش ساعت هم‌زدن توسط یک هم‌زن مغناطیسی در دمای محیط، آرد بدون چربی شنبلیله آماده شد. به‌منظور افزایش کارآیی فرایند چربی‌زدایی هر سه ساعت یک‌بار حلال هگزان نرمال تعویض گردید [۳۴]. پس از جدا کردن حلال هگزان نرمال توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱، آرد بدون چربی جهت حذف کامل حلال درون خشک‌کن با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. آرد شنبلیله چربی‌زدایی شده و خشک تا زمان انجام آزمایشات درون کیسه نایلونی در مکان تاریک و دمای ۱۸- درجه سلسیوس قرار گرفت.

۲-۲-۲-استخراج پروتئین دانه شنبلیله به کمک امواج فراصوت

مقدار مشخصی از آرد شنبلیله چربی‌گیری شده (۵ گرم) با محلول نمکی سدیم کلرید ۰/۳۳ مولار با نسبت ۱ به ۲۰ وزنی-حجمی مخلوط شد. سپس pH مخلوط به‌منظور انحلال پروتئین با استفاده از سدیم هیدروکسید ۱ مولار معادل ۹/۲۵ تنظیم گردید [۱۱]. برای استخراج پروتئین از دستگاه فراصوت پروب (UP200H,Hielscher, Germany) با توان ۲۰۰ وات، فرکانس ۲۴ کیلوهرتز، مجهز به سونوترود از جنس تیتانیوم با قطر ۳ میلی‌متر استفاده شد. قدرت امواج فراصوت و مدت زمان اعمال امواج فراصوت فراسنجه‌های مستقل مورد مطالعه در این پژوهش بودند (جدول ۱). تغییرات pH در طول زمان اعمال فراصوت کنترل شد. پس از اتمام زمان استخراج به کمک فراصوت، مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و با سرعت ۴۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس با استفاده از کلریدریک اسید ۱ مولار pH در نقطه ایزوالکتریک معادل ۴/۵ به‌منظور ترسیب پروتئین تنظیم شد و دوباره در سرعت ۴۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه جهت جداسازی فاز رسوبی حاوی پروتئین سانتریفیوژ شد. در گام بعد رسوب پروتئین با آب مقطر با نسبت ۱ به ۵ وزنی- حجمی طی دو مرحله به منظور افزایش خلوص شستشو داده شد و یک‌بار دیگر در سرعت ۴۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس پروتئین به‌دست آمده در آب دیونیزه حل شد و با استفاده از سدیم هیدروکسید ۱ مولار تا رسیدن به pH معادل ۷/۲ خنثی گردید. در نهایت پروتئین به‌دست آمده با استفاده از خشک‌کن انجمادی، خشک شد و تا زمان آزمایشات بعدی در مکان تاریک و دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. برای تعیین درصد پروتئین در نمونه از روابط زیر استفاده شد.

$$Y_N = \frac{V \times N_{acid} \times 1.401}{M}$$

$$Y_p = Y_N \times C_p$$

2. Internal diffusion mechanisms

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

در این روابط، Y_N درصد ازت، V حجم اسید مصرفی، N_{acid} نرمالیته اسید، M وزن نمونه، Yp درصد پروتئین و Cp ضریب پروتئین است و نرمالیته اسید مصرفی و ضریب پروتئین به ترتیب معادل ۰/۱ مول بر لیتر و ٦/۲۵ می‌باشد.

۲-۳- طیف‌سنجی ماوراء بنفش

برای انجام این آزمون، محلول آبی پروتئین با غلظت دو میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و میزان جذب در طول موج‌های ٤۰۰-۲۰۰ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج ماوراء بنفش- مرئی (Analytikjena, SPECORD 250, Germany) خوانده شد.

۲-٤- طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR)

جهت بررسی و تشخیص پیوند در پروتئین استخراج شده از دانه شنبلیله از آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه منطبق با روش چن و همکاران (۲۰۱۱) استفاده شد [۳۵]. بدین منظور ابتدا پروتئین شنبلیله با پتاسیم بروميد به نسبت ۱:۱۰ مخلوط شد. مخلوط حاصل به‌صورت قرص نازک درآورده شد و میزان جذب در محدوده‌ی ٤۰۰تا ٤۰۰۰ بر سانتی‌متر توسط دستگاه طیف‌سنج مادون قرمز(Nicolet IS10, Thermo scientific, USA) اندازه‌گیری شد.

۲-۵- حلالیت پروتئین[3]

در ابتدا محلول پروتئینی با غلظت ۱/۵ درصد با کمک آب دیونیزه تهیه گردید و pH آن توسط کلریدریک اسید و یا سدیم هیدروکسید ۰/۵ مولار تنظیم گردید. سپس محلول پروتئینی به مدت ۳۰ دقیقه به کمک یک هم‌زن مغناطیسی در دمای اتاق هم‌زده شد و به‌منظور جداسازی پروتئین غیرمحلول در سرعت۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید [۳٦]. میزان پروتئین در فاز رویی با اضافه کردن معرف بیورتو نگهداری به مدت ۲۰ دقیقه به کمک دستگاه طیف‌سنج ماوراءبنفش-مرئی (Analytikjena, SPECORD 250, Germany)در طول موج ٥٤۰ نانومتر تعیین گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون از محلول سرم آلبومین گاو در غلظت‌های صفر تا ۱۰ (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در معرف بیورت استفاده گردید و معادله به‌دست آمده به‌صورت y=0.0345x+0.3407 بود.لازم به ذکر است که بررسی میزان حلالیت پروتئین در pHهای معادل ۲، ٤/٥، ٦، ۸ و ۱۰ انجام شد [۳۷].

3. Protein solubility

۲-٦- ظرفیت جذب آب[4] و جذب روغن[5]

اندازه‌گیری ظرفیت جذب آب و روغن بر اساس روش بوچات (۱۹۷۷) انجام شد [۳۸]. بدین منظور ۲/٥ میلی‌لیتر روغن آفتابگردان یا آب دیونیزه (V_0) به ۲٥۰ میلی‌گرم پروتئین شنبلیله (W) اضافه و به مدت دو دقیقه توسط دستگاه ورتکس مخلوط شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقهبه مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ و فاز رویی شامل آب یا روغن (V_1) جدا و دور ریخته شد. به‌منظور حصول اطمینان از تخلیه کامل آب و یا روغن، لوله‌ها به مدت چند دقیقه روی کاغذ صافی به صورت واژگون نگه داشته شدند. ظرفیت جذب آب و روغن از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{WHC or OHC (ml/gr)} = V_0 - V_1 / W$$

۲-۷- تعیین ظرفیت کف‌کنندگی[6] و پایداری کف[7]

محلول ۲ درصد پروتئین شنبلیله با استفاده از آب مقطر تهیه شد وpH محلول پروتئینی در مقادیر ۲، ٤/٥، ٦، ۸ و ۱۰ با استفاده از کلریدریک اسید و یا سدیم هیدروکسید ۰/٥ مولار تنظیم شد. محلول‌های پروتئینی به مدت۵ دقیقه با استفاده از یک هم‌زن مغناطیسی به آرامی هم‌زدهو در نهایت به فالکون مدرج منتقل شدند. حجم محلول قبل از هم‌زدن (V_0) و بلافاصله پس از هم‌خوردن (V_1) به مدت۲ دقیقه با سرعت۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه توسط دستگاه هموژنایزر دور بالا (SR-30, MTOPS, Korea) ثبت شد [۳۹]. میزان ظرفیت کف‌کنندگی از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$FC\% = (V_1 - V_0) / V_0 \times 100$$

حجم کف (V_2) طی دوره زمانی ۳۰-۱۲۰ دقیقه پس از مخلوط کردن به‌منظور بررسی پایداری کف ثبت و از طریق رابطه زیرمحاسبه شد:

$$FS\% = (V_2 - V_0) / (V_1 - V_0) \times 100$$

4.Water holding capacity (WHC)
5. Oil holding capacity (OHC)
6. Foaming capacity (FC)
7. Foam stability (FS)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

۲-۸- ظرفیت امولسیون‌کنندگی[8] و پایداری حرارتی امولسیون[9]

بررسی ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون به‌روشنتووهمکاران (۲۰۰۱)با اندکی اصلاحات انجام شد [۴۰]. ابتدا محلول ۱ درصدپروتئین شنبلیله با استفاده ازآب مقطر تهیه شد.سپس pH محلول پروتئینی در مقادیر ۲، ۴/۵، ۶، ۸ و ۱۰ بااستفادهاز کلریدریک اسید ویا سدیم هیدروکسید ۰/۵مولار تنظیمشد. سپس روغن آفتابگردان به محلول پروتئینی اضافه و به مدت ۲/۵ دقیقه توسط یک همزن مغناطیسی به آرامی و پس از آن به مدت ۲/۵ دقیقه توسط دستگاه هموژنایزر دور بالا (SR-30, MTOPS, Korea) با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه همزده شد. در انتها امولسیون به دست آمده در سرعت ۱۰۰۰دور بر دقیقه به مدت۲دقیقه سانتریفیوژ شد. ارتفاع لایه امولسیون قبل (H_0) وبعد از سانتریفیوژ اندازهگیری شد (H_1). ظرفیت امولسیون‌کنندگی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$EC\% = H_1 / H_0 \times 100$$

جهت پایداری حرارتی امولسیون، نمونه‌ها دقیقا قبل از سانتریفیوژ در بنماری با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و پایداری امولسیون طی دوره زمانی ۳۰-۱۲۰ دقیقه درهر pH پس از پایان حرارت‌دهی اندازه‌گیری شد (H_2).

$$ETS\% = H_2 / H_1 \times 100$$

۲-۹- اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی به‌روش ۱،۱- دیفنیل-۲- پیکریل- هیدرازیل (DPPH)

فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPHتوسط پروتئین دانه شنبلیله طبق روش ژی و همکاران (۲۰۱۲) اندازه‌گیری شد[۴۱]. ابتدا یک میلی‌لیتر از محلول نمونه با غلظت‌های مختلف (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با یک میلی‌لیتر محلول اتانولی ۰/۱ میلی‌مولار DPPH مخلوط و ۳۰ دقیقه در دمای محیط و مکان تاریک قرار داده شد. سپس جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد. از آسکوربیک اسید در غلظت‌های مشابه به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

$$\text{DPPH freradicalscavenegingactivity\%} = 1 - (Ab_2 - Ab_1) / Ab_0 \times 100$$

در این رابطه Ab_0 میزان جذب محلول DPPH بدون اضافه کردن نمونه، Ab_1 میزان جذب نمونه بدون اضافه کردن محلول DPPH و Ab_2 میزان جذب محلول DPPH و نمونه می‌باشد.

۲-۱۰- بهینه‌سازی فرایند استخراج و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش، از نرم افزار آماری Design Expert 7.0.3 (Minneapolis, USA)برای اعمال روش شناسی سطح- پاسخ، بررسی روابط میان فراسنجه‌های مستقل و پاسخ، ایجاد نمودارهای سه بعدی و بهینه یابی استفاده شد. آزمایشات بر اساس طرح باکس- بنکن شامل۱۳تیمار با ۵ تکرار در نقطه مرکزی بود. فراسنجه‌های مورد مطالعه و سطوح بالا (۱+)، میانی (صفر) و پایینی (۱-) آنها بر اساس مطالعات اولیه انتخاب گردید (جدول ۱). از مدل چند جمله‌ای برای مدل‌سازی فرایند استفاده شد. مدل درجه دوم را می‌توان به‌صورت زیر نوشت:

$$Y(\%) = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

در این رابطه β_0 ، β_i ، β_{ii} وβ_{ij} ضرایب رگرسیونی به ترتیب برای عرض از مبدا، اثرات خطی، درجه دوم، اثرات متقابل و X_i و X_j فراسنجه‌های مستقل هستند. از آزمون ضعف برازش[10]، ضریب تغییرات (C.V.)، ضریب تبیین (R^2)، ضریب تبیین اصلاح شده (adj-R^2) و عددp درسطح اطمینان ۹۵ درصد برای بررسی صحت مدل و تاثیر فراسنجه‌ها استفاده شد.برای تعیین شرایط بهینه از روش بهینه‌سازی عددی[11] با هدف به حداکثر رساندن راندمان استخراج پروتئین از دانه شنبلیلهاستفاده شد.برای اعتبارسنجی مدل پیشنهادی، مقادیرراندمان استخراج پیشبینی شده با مقادیر تجربی به‌دست آمده تحت شرایط بهینه (حداقل ۵ تکرار) مقایسه گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایشگاهی از طریق مقایسه میانگین بر اساس آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد و با

8. Emulsion stability (ES)
9. Emulsion thermal stability (ETS)

10. *Lack-of-fit* test
11. Numerical optimization

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

استفاده از نرم افزارMinitab نسخه ۱۶ انجام شد. تمامی آزمون‌ها با سه تکرار انجام شدند و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی تاثیر فراسنجه‌های مستقل بر عملکرد استخراج پروتئین از دانه شنبلیله و بهینه‌سازی فرایند

مقادیر تجربی حاصل از انجام ۱۳ تیمار شامل ۵ تکرار در نقطه مرکزی در جدول ۱ نشان داده شده است محدوده عملکرد استخراج پروتئین شنبلیله در محدوده ٤/٤ تا ۸/٤ درصد قرار داشت. براساس جدول ۲، آزمون F برای مدل درجه دوم معنی‌دار بود (F-value=۷۱/۰۱، p<۰/۰۰۰۱). به علاوه، اثرات خطی، درجه دوم و متقابل تمامی فراسنجه‌های مستقل مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری بر پاسخ داشتند (جدول ۲). مدل چندجمله‌ای نهایی حاصل به شرح زیر بود:

$$Y=۸/۰۳+۱/۲۸A+۰/۷۵B+۰/۳۳AB-۱/۷۷A^2-۰/٤۷B^2$$

در این معادله، Y راندمان استخراج پروتئین از دانه شنبلیله (درصد)، Aقدرت امواج فراصوت (وات) وB زمان اعمال فراصوت (دقیقه) بود. علائم مثبت و منفی ضرایبه ترتیب نشان دهنده اثرات سینرژیستی و آنتاگونیستی فراسنجه‌های مستقل بر پاسخ می‌باشند. دقت و ارتباط بین پاسخ و متغیرهای مستقل به وضوح توسط ضریب تبیین (R^2=۰/۹۸۰۷) و ضریب تبیین تعدیل شده (adj-R^2=۰/۹٦٦۹) نشان داده شده است. تکرارپذیری و قابلیت اطمینان به مدل توسط مقدار کم ضریب واریانس (۳/۹۱) نیز تایید شد. شکل ۱ نیز مؤید انطباق مطلوب بین داده‌های تجربی و پیش بینی شده است. شکل ۲ نمودار پرشیدگی دو فراسنجه مستقل مورد مطالعه شامل قدرت امواج فراصوت و زمان اعمال فراصوت در فرایند استخراج پروتئین از دانه شنبلیله به کمک امواج فراصوت را نشان می‌دهد. از آنجایی‌که وجود انحناء در نمودار نشانگر حساسیت پاسخ به فراسنجه مورد مطالعه است لذا حساسیت عملکرد استخراج پرو تاثیر فراسنجه‌های مستقل مورد مطالعه بر عملکرد استخراج پروتئین از دانه شنبلیله به صورت سطح پاسخ سه بعدی در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود عملکرد استخراج پروتئین از دانه شنبلیله به ترتیب با افزایش زمان اعمال فراصوت و میزان قدرت امواج فراصوت به ترتیب تا ۲۵ دقیقه و ۸۰ وات افزایش یافت. با افزایش قدرت امواج فراصوت مقدار حفره‌سازی افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند با ایجاد شوک‌های مکانیکی شدید منجر به شکستن مؤثرتر غشاء سلول‌های گیاهی گردد. در نهایت این رخداد می‌تواند منجر به افزایش سرعت انتقال جرم به‌علت سرعت بالای انتشار حلال به داخل سلول‌ها و درنتیجه انتشار بیشتر مواد حل شونده به محیط اطراف شود [٤۲].

Table 1 Box-Behnken experimental design for detemination of ultrasound-assisted Fenugreek seed protein extraction yield

Independent variables		Levels		
		-1	0	+1
Ultrasonic power(W)		40	70	100
Sonication time (Min)		10	20	30
No	Ultrasonic power(W)	Sonication time (Min)	Experimental yield (%)	Predicted yield (%)
1	40	10	4.4	4.08
2	100	10	6.1	6.00
3	40	30	5.0	4.93
4	100	30	8.0	8.15
5	40	20	4.6	4.98
6	100	20	7.6	7.55
7	70	10	6.4	6.81
8	70	30	8.4	8.31
9	70	20	8.2	8.03
10	70	20	8.0	8.03
11	70	20	8.0	8.03
12	70	20	8.1	8.03
13	70	20	8.2	8.03

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

Table 2 Analysis of variance (ANOVA) for effect of independent variables on ultrasound-assisted extraction yield of Fenugreek seedprotein

Source	Sum of square	df	Mean square	F-value	*p*-value prob> F	
Model	26.58	5	5.32	71.01	<0.0001	Significant
A- Ultrasonic power	9.88	1	9.88	132.02	<0.0001	
B- Sonication time	3.37	1	3.37	45.09	0.0003	
AB	0.42	1	0.42	5.64	0.0492	
A^2	8.66	1	8.66	115.69	<0.0001	
B^2	0.61	1	0.61	8.18	0.0244	
Residual	0.52	7	0.07			
Lack-of-Fit	0.48	3	0.16	16.13	0.0106	Significant
Pure error	0.04	4	1.00E-002			
Cor total	27.10	12				

افزایش قدرت امواج فراصوت به بیش از ۸۰ وات موجب کاهش عملکرد استخراج پروتئین از دانه شنبلیله می‌شود. کاهش عملکرد استخراج در توان‌های بالاتر فراصوت به دلیل تخریب پروتئین می‌باشد.تئین از دانه شنبلیله بیشتر تحت تاثیر قدرت امواج فراصوت (A) قرار دارد.

همان‌طور که پیشتر اشاره شد زمان اعمال فراصوت تا یک حد آستانه بر عملکرد استخراج پروتئین نقش مثبت دارد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود افزایش زمان اعمال فراصوت به بیش از ۲۵ دقیقه تاثیر چشمگیری بر افزایش عملکرد استخراج پروتئین از دانه شنبلیله نداشت به این معنی که فرآیند استخراج به حالت تعادل می‌رسد [۴۳]. نتایج مطالعات **متعدد** نیز حاکی از آن است که استفاده از زمان‌های طولانی اعمال فراصوت تاثیر چشمگیری بر افزایش راندمان استخراج ندارد [۴۳-۴۵]. با توجه به نتایج بهینه‌سازی با استفاده از تکنیک عددی، برای به حداکثر رساندن عملکرد استخراج پروتئین از دانه شنبلیله به کمک فراصوت می‌توان از قدرت امواج فراصوت معادل ۸۰ وات و زمان اعمال فراصوت معادل ۲۸/۳۹ دقیقه استفاده نمود. تحت این شرایط میزان عملکرد کمی استخراج معادل ۸/۶۵ درصد بود. عدم وجود تفاوت چشمگیر بین مقادیر به‌دست آمده از مدل و مشاهدات تجربی به خوبی کارآیی مدل را اثبات می‌نماید (جدول ۳). فیضی و همکاران (۲۰۱۵) طی مطالعه‌ای به بهینه‌سازی فرایند استخراج قلیایی پروتئین از دانه شنبلیله پرداختند و نتایج نشان داد که تحت شرایط بهینه شامل pH معادل ۹/۲۵ و محلول نمکی سدیم کلرید ۰/۳۳ مولار در مدت زمان ۲ ساعت می‌توان به حدود ۱۹ درصد عملکرد کمی استخراج پروتئین دست یافت. آنها محتوای پروتئینی ایزوله به‌دست آمده را ۸۶/۹ درصد گزارش کردند در حالی‌که محتوای پروتئینی ایزوله پروتئینی استخراج شده به کمک امواج فراصوت در مطالعه حاضر ۸۷/۱ درصد بود. نتایج به دست آمده کارآیی فناوری فراصوت را کاهش زمان فرایند استخراج پروتئین از دانه شنبلیله را به اثبات می‌رساند [۱۱].

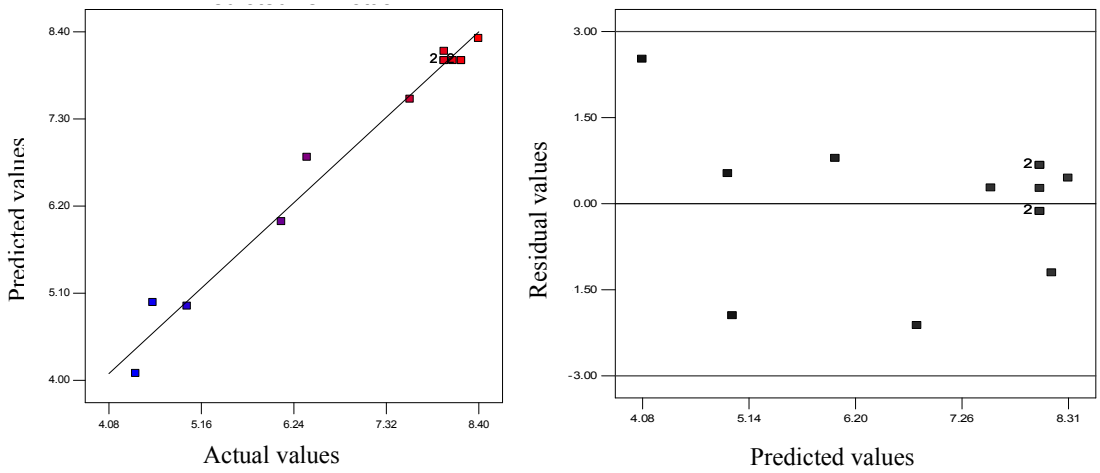

Fig 1 Relationship between actual vs. predicted values by proposed model

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

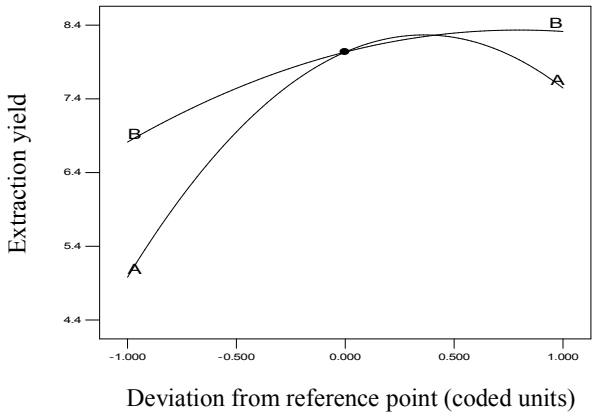

Fig 2 Perturbation plot of (A) ultrasonic power and (b) sonication time on extraction yield of Fenugreek seed protein

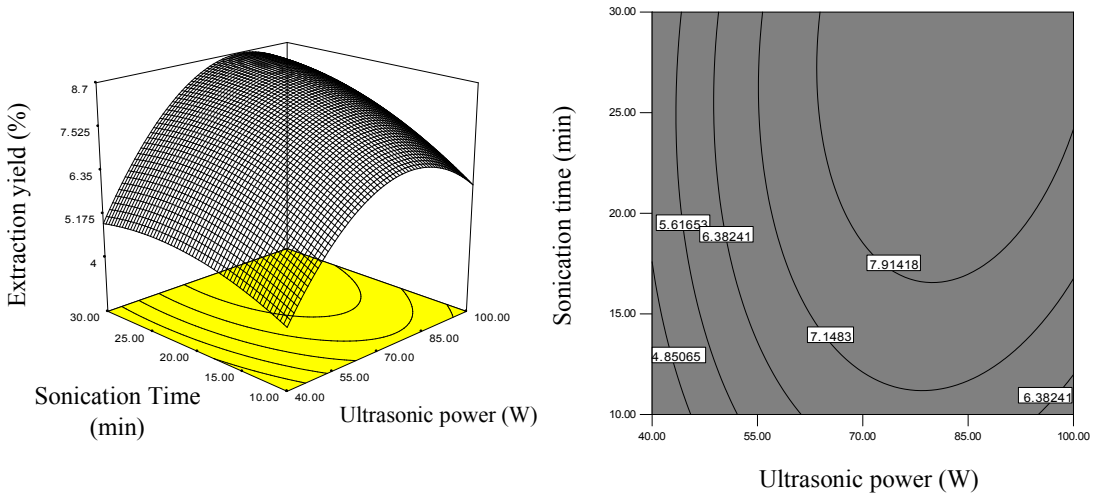

Fig 3 3D plot of the effect of ultrasonic power and sonication time on extraction yield of Fenugreek seed protein.

Table 3 Optimized conditions for ultrasound-assited extraction of Fenugreek seed protein

Ultrasonic power (W)	Sonication time (min)	Predicted extraction yield (%)	Experimental extraction yield (%)	Desirability
80	28.39	8.65	8.57±0.10	1.00

۳-۲- طیف‌سنجی ماوراء بنفش

وجود پیک در ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر بیانگر وجود اسید نوکلئیک یا پروتئین در نمونه است. در طیف به دست آمده از محلول مورد مطالعه یک پیک در حدود ۲۸۰ نانومتر قابل مشاهده است که تایید کننده وجود پروتئین می‌باشد (شکل ٤- الف).

۳-۳- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه

طیف سنجی مادون قرمز روشی کارآمد برای بررسی گروه‌های عاملی می‌باشد [٤٦]. وجود باند در محدوده cm^{-1} ۳۲۰۰-۳۵۰۰ مربوط به آمید A است که نشان‌دهنده ارتعاشات کششی NH– در ساختار پروتئین است. باند جذبی در $۲۹۲۵cm^{-1}$ بیانگر حالت کششی متقارن گروه متیلن (CH_2) است که معمولا در زنجیره خطی جانبی پروتئین‌ها دیده می‌شود [٤٧]. وجود سه باند در $۱٦٥٤cm^{-1}$، ۱٥٤٥ و ۱٤۰۱ به ترتیب مربوط به آمید I، آمید II و آمید III است

[۴۸]. باند مربوط به ناحیه آمید I ناشی از ارتعاشات کششی C=O، آمید IIعمدتاً ناشی از ارتعاشات کششی C–N یا خمشی N–H گروه‌های عاملی پروتئین است در حالی‌که آمید III توسط ارتعاشات کششی C–N حاصل می‌گردد. وجود پیک در ۱۲۴۲ cm^{-1} مربوط به حالت کششی C–N است در حالی که باند در محدوده ۱۰۶۸ cm^{-1} با ارتعاشات کششی نامتقارن C–O–C است (شکل ۴- ب)

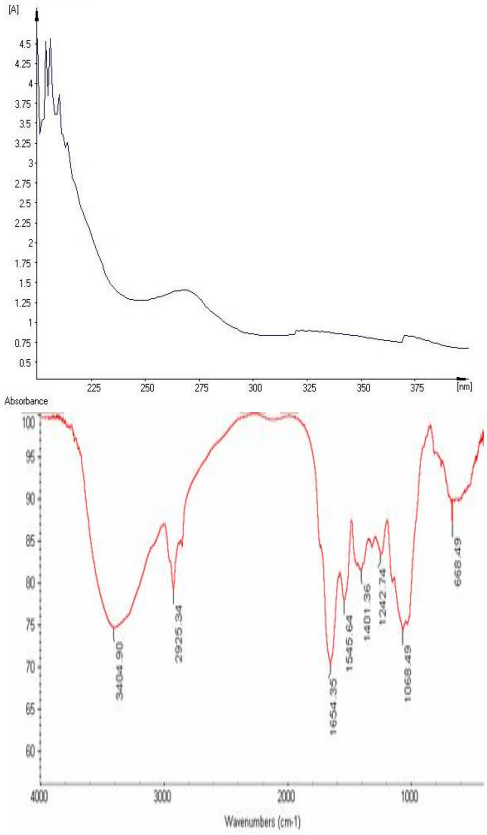

Fig 4 (a) UV spectrum between 200-400 nm (b) FTIR spectrum between 4000-400 cm^{-1} of Fenugreek seed protein

۳-۴- حلالیت پروتئین

حلالیت یکی از مهم‌ترین خواص عملکردی پروتئین‌ها است که کارآیی ترکیبات پروتئینی را در فرمولاسیون‌های غذایی کنترل می‌کند. این ویژگی با توجه به تاثیر بر سایر ویژگی‌های عملکردی پروتئین درشرایط مختلف از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. معمولاً میزان حلالیت پروتئین‌ها وابسته به تغییرات pH است و در pHهای بالاتر و پایین‌تر از نقطه ایزوالکتریک به ترتیب به دلیل افزایش بار منفی ناشی از گروه‌های کربوکسیل و بار مثبت گروه‌های آمینی، نیروی دافعه الکترواستاتیکی بین اسیدهای آمینه با بارهای هم‌نام افزایش و در نتیجه حلالیت بیشتر می‌شود [۴۹]. تغییرات حلالیت پروتئین شنبلیله در pHهای ۲، ۴/۵، ۶، ۸ و۱۰ در جدول ۴ نمایش داده شده است. تغییرات pH تاثیر معنی‌داری ($p<0/05$) بر حلالیت پروتئین شنبلیله داشت. کمترین و بیشترین میزان حلالیت پروتئین به ترتیب در pH معادل ۴/۵ و ۱۰ به‌دست آمد. نتایج به‌دست آمده در تحقیقات فیضی و همکاران (۲۰۱۵) و همچنینال نسری و ال تیبای (۲۰۰۷) نیز مؤید چنین نتیجه‌ای بود [۳، ۱۱]. دلیل کاهش حلالیت در pH معادل ۴/۵ را می‌توان به تعادل بارهای ناهمنام در نقطه pH ایزوالکتریک و در نتیجه کاهش نیروهای دافعه الکترواستاتیک نسبت داد که منجر به آگلومره شدن و رسوب پروتئین از طریق ایجاد پیوندهای آب‌گریز می‌گردد[۱۱]. همان‌طور که پیشتر نیز ذکر شد با فاصله گرفتن از نقطه pH ایزوالکتریک حلالیت افزایش می‌یابد. به‌طور کلی پروتئین استخراج شده به کمک فراصوت در مقایسه با روش استخراج قلیایی از حلالیت بالاتری برخوردار بود. در مطالعه دلیل حلالیت بیشتر پروتئین استخراج شده به کمک فراصوت را می‌توان به تغییر کنفورماسیونی به‌علت بازشدن ساختار پروتئین در حین تیمار فراصوت به‌دلیل وقوع پدیده حفره‌زایی نسبت داد که سبب می‌شود باندهای پپتیدی شکسته شده و اسیدهای آمینه قطبی به راحتی در دسترس آب قرار گرفته و سبب افزایش حلالیت پروتئین گردد [۵۳]. نتایج به دست آمده با نتایج جمبراک و همکاران (۲۰۰۹)، جین و آنال (۲۰۱۶) و مالیک و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت داشت [۵۰-۵۲].

۳-۵- ظرفیت جذب آب و روغن

مهم‌ترین خصوصیت فیزیکی پروتئین‌ها جذب آب است که بر بافت و گرانروی ماده غذایی حاوی پروتئین اثر می‌گذارد و به‌علاوه ازنظر فساد ماده غذایی نیز، به دلیل تأثیری که بر میزان فعالیت آب دارد بسیار حائز اهمیت است [۵۰]. نتایج ظرفیت جذب آب و روغن پروتئین استخراج شده از دانه شنبلیله به کمک امواج فراصوت در جدول ۴ آورده شده است. ظرفیت جذب آب پروتئین شنبلیله حدودا ۶/۲۴ میلی‌لیتر به ازاء هر گرم بود. فیضی و همکاران (۲۰۱۵) میزان جذب آب پروتئینی استخراج شده از دانه شنبلیله به روش استخراج قلیایی را تحت شرایط بهینه معادل ۲/۷ میلی‌لیتر به ازاء هر گرم گزارش کردند [۱۱]. نتایج جین و آنال (۲۰۱۶) نیز نشان داد اعمال فراصوت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

سبب افزایش ظرفیت جذب آب هیدرولیزات‌های پروتئینی حاصل از غشاء پوسته تخم مرغ شده است [۵۰]. به‌طور کلی دلیل افزایش ظرفیت جذب آب را می‌توان به تغییرات ریزساختار، کنفورماسیون پروتئین‌ها در اثر اعمال فراصوت [٥٤]، دناتوره شدن پروتئین‌ها [۵۵] و همچنین حضور کربوهیدرات‌های آب‌دوست و مقدار چربی نسبت داد [٥٦].

منظور از جذب روغن، محبوس شدن فیزیکی روغن در شبکه پروتئینی است که به شکل فضایی پروتئین وزنجیره‌های غیرقطبی پروتئین و نوع برهم‌کنش (پیوندهای غیرکووالانسی مانند پیوندهای آب گریز، الکترواستاتیک و هیدروژنی) با زنجیره‌های جانبی هیدروکربنی روغن بستگی دارد [۵۷]. قابلیت جذب روغن توسط پروتئین‌ها تاثیر بسزایی بر افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی فرآوری شده از طریق کاهش میزان رطوبت و چربی و بهبود ویژگی‌های حسی خصوصا ویژگی احساس دهانی و ویژگی عطر و طعم دارد [۵۰]. میزان جذب روغن پروتئین شنبلیله استخراج شده به کمک امواج فراصوت ۲/۷۲ میلی‌لیتر به ازاء هر گرم بود. در حالی‌که ال نسری و ال تیناری (۲۰۰۷) و فیضی و همکاران (۲۰۱۵) ظرفیت جذب روغن ایزوله پروتئینی شنبلیله را به ترتیب معادل ۱/٥٦ و ٦/٦ میلی‌لیتر به ازاء هر گرم ایزوله گزارش کرده‌اند [۳، ۱۱]. جین و آنال (۲۰۱٦) گزارش کردند که اعمال فراصوت تاثیری بر بهبود قابلیت جذب روغن هیدرولیزات‌ها پروتئینی استخراج شده از غشاء پوسته تخم مرغ ندارد [۵۰]. دلیل تفاوت در ظرفیت جذب روغن در پروتئین استخراج شده به کمک فراصوت و استخراج شده به‌روش قلیایی را می‌توان به نوع برهمکنش زنجیره‌های غیرقطبی پروتئین با زنجیره‌های جانبی هیدروکربنی روغن و شکل فضایی پروتئین [۵۸] و همچنین تعداد اسیدهای آمینه غیرقطبی در زنجیره جانبی پروتئین‌ها [۵۹] نسبت داد.

Table 4 Functional properties of ultrasound-assisted extracted Fenugreek seed protein

Functional properties		
Protein solubility* (mg/mL)	Water holding capacity (mL/g)	Oil holding capacity (mL/g)
8.92±0.48[ab]		
4.26±0.31[d]		
7.89±0.51[c]	6.24±0.18	2.72±0.10
8.14±0.24[bc]		
9.41±0.19[a]		

*Values represent protein solubility at pH of 2, 4.5, 6, 8 and 10, respectively.The values with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

۳-٦- ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف

کف نوعی دیسپرسیون است که در آن یک فاز آبی یا نیمه جامد به‌عنوان فاز پیوسته، فاز گازی را به‌عنوان فاز پراکنده در بر می‌گیرد و تاثیر بسزایی در تولید فراورده‌هایی نظیر انواع موس و نوشیدنی‌ها دارد [٦۰]. تشکیل کف به‌واسطه وقوع سه مکانیسم انتقال، نفوذ و بازآرایی مولکول‌ها در حد فاصل هوا و آب صورت می‌پذیرد. این فرایندها تحت تاثیر آب‌دوستی سطحی، اندازه و انعطاف ساختاری سورفکتانت است [٦۱]. ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف پروتئین شنبلیله به‌دست آمده به کمک امواج فراصوت در شکل ۵ (الف و ب) آورده شده است. بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری تغییرات pH تاثیر معنی‌داری بر ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف پروتئین شنبلیله داشت (p<۰/۰۵). کمترین ظرفیت کف‌کنندگی (٤٤/٦٦ درصد) در pH معادل٤/٥ و بیشترین ظرفیت کف‌کنندگی (۹۲/٤۹ درصد) در pH معادل ۱۰ مشاهده شد.

نتایج به‌دست آمده از تحقیقات فیضی و همکاران (۲۰۱۵) بر روی ایزوله پروتئین شنبلیله و همچنینال نسری و ال تیناری (۲۰۰۷) نیز مؤید نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش می‌باشد [۳، ۱۷]. pHهای قلیایی و اسیدی قابلیت کف‌کنندگی بیشتری نسبت به pH در نقطه ایزوالکتریک داشتند که دلیل این افزایش را می‌توان به افزایش بار الکتریکی مولکول‌های پروتئین که سبب افزایش انعطاف پذیری بین ملکول‌های پروتئین و تضعیف بر هم کنش‌های هیدروفوبی بین آن‌ها می‌شود، نسبت داد. روند تغییرات ظرفیت کف‌کنندگی با تغییرات pH تقریبا مشابه تغییرات حلالیت پروتئین در دامنه pH مشابه بود که این امر ارتباط بین میزان حلالیت پروتئین و ظرفیت کف‌کنندگی را تایید می‌نماید. فیضی و همکاران (۲۰۱۵) نیز حداقل ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئینی استخراج شده به روش قلیایی از دانه شنبلیله را در pH معادل ٤/٥ به میزان ۳۱ درصد گزارش کردند در حالی‌که بالاترین

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

ظرفیت کف‌کنندگی در pH معادل ۸ و به میزان ۱۳۶/۶۷ درصد مشاهده شد [۱۷]. وانی و همکاران (۲۰۱۵) و مالیک و همکاران (۲۰۱۷) گزارش نمودند که با افزایش فاکتور آب‌دوستی به علت وجود پروتئین‌های محلول در اثر اعمال فراصوت از طریق کاهش کشش سطحی ظرفیت کف‌کنندگی افزایش می‌یابد [۵۲، ۶۲]. از طرفی باز شدن ساختار پروتئین‌ها و تعامل آنها با یکدیگر در مقیاس بین سطحی به این امر کمک بسزایی می‌نماید.

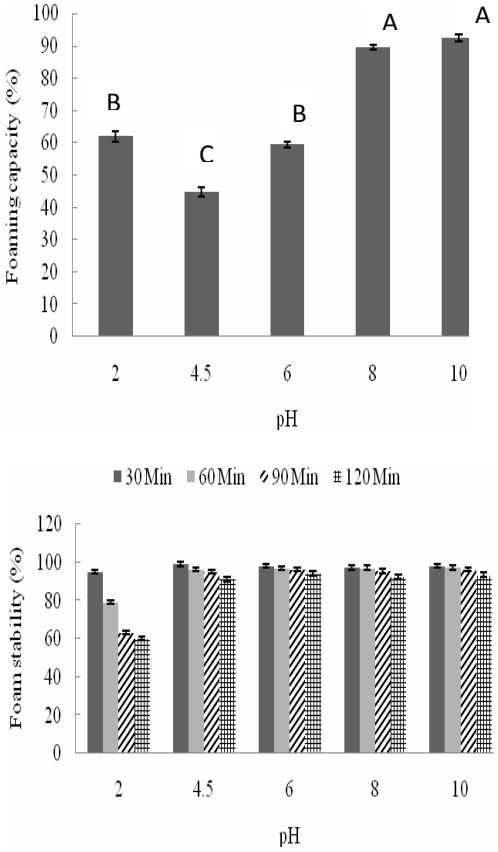

Fig 5 (a) Effect of pH changes on foaming capacity, (b) Effect of pH changes and time on foam stability of ultrasound - assisted extracted Fenugreek seed protein under optimized conditions.
The values with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

پایداری کف از طریق کاهش کشش بین سطحی مایع-گاز و یا تشکیل یک لایه پروتئین مقاوم با کشش پذیری بالا در اطراف حباب‌های گاز و یا تغییر گرانروی در فاز مایع حاصل می‌گردد [۶۳]. بدین منظور میزان پایداری کف در دامنه pH معادل ۲-۱۰ در زمان‌های ۳۰ تا ۱۲۰ دقیقه مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاکی از آن است که با ثابت در نظر گرفتن pHگذشت زمان سبب کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۵) پایداری کف می‌شود. بیشترین میزان پایداری کف مربوط به pH معادل ۴/۵ و زمان ۳۰ دقیقه بود. فیضی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که بیشترین مقدار پایداری کف با استفاده از ایزوله پروتئینی شنبلیله استخراج شده به روش قلیایی در pH معادل ۴/۵ قابل دستیابی (حدود ۸۸-۱۰۰ درصد در زمان‌های ۳۰ و ۱۲۰ دقیقه) است و دلیل آن را به صفر بودن بار الکتریکی در نقطه ایزوالکتریک، ایجاد تعاملات آب‌گریز بین مولکول‌های پروتئین و ایجاد یک لایه ویسکوز و پایدار اطراف مولکول‌های هوا بیان کردند [۱۷]. نتایج جین و آنال (۲۰۱۶) حاکی از آن است که اعمال فراصوت سبب افزایش معنی‌دار در ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف می‌گردد. آن دلیل این امر را انتقال سریع پروتئین‌ها به سطح بین هوا-آب و باز شدن تاخوردگی و قرارگیری آن در مابین دو سطح دانسته‌اند که اعمال فراصوت سبب افزایش انعطاف پذیری پروتئین‌ها از طریق در معرض قرار گرفتن بیشتر بخش‌های آب‌گریز می‌شود [۵۰].

۳-۷- ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون

پروتئین‌ها از آمینواسیدهای باردار، قطبی بدون بار و غیرقطبی تشکیل شده‌اند و از طرفی با داشتن هر دو خصوصیت آب‌دوستی و آب‌گریزی آنها را قادر ساخته تا بتوانند به حدفاصل اتصال آب و روغن در سیستم غذایی متصل شود[۶۴]. این عوامل باعث شده‌اند پروتئین‌هااز طریق کاهش تنش بین سطحی کارآیی مناسب به عنوان امولسیون کننده از خود نشان دهند [۶۵]. در حالی‌که پایداری امولسیون به ظرفیت پروتئین‌ها برای باقی ماندن در حدفاصل روغن و آب پس از نگهداری یا حرارت دیدن امولسیون اطلاق می‌شود. از آنجایی‌که ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین‌ها وابسته به حلالیت و آب‌دوستی می‌باشد و اعمال فراصوت بر این دو پارامتر تاثیرگذار است لذا می‌توان بهبود ظرفیت امولسیون کنندگی پروتئین استخراج شده به کمک امواج فراصوت را محتمل دانست. ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون پروتئین شنبلیله به‌دست آمده به کمک امواج فراصوت در شکل ۶ (الف و ب) آورده شده است. بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری تغییرات pH تاثیر معنی‌داری بر ظرفیت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون پروتئین شنبلیله داشت (p<۰/۰۵). این امر را می‌توان به تغییر تعادل آب‌دوستی-آب‌گریزی مولکول‌های پروتئین در pHهای مختلف مرتبط دانست. بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین شنبلیله استخراج شده به کمک امواج فراصوت درpHهای قلیایی خصوصا pH ۱۰، به میزان ۸٤/۵۳ درصد حاصل شد درحالی‌که کمترین میزان ظرفیت امولسیون کنندگی (۵٤/۸۲ درصد) به دلیل کاهش حلالیت پروتئین و انعطاف پذیری آن در pH نقطه ایزوالکتریک مشاهده شد (شکل ٦ – الف).

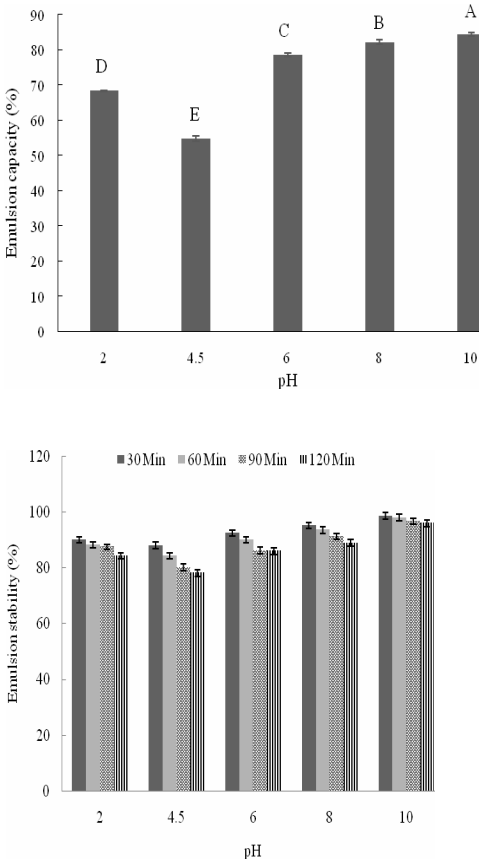

Fig 6 (a) Effect of pH changes on emulsion capacity, (b) Effect of pH changes and time on emulsion stability of ultrasound - assisted extracted Fenugreek seed protein under optimized conditions.
The values with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

این یافته با نتایج حاصل از پژوهش لاوال (۲۰۰٤) مطابقت دارد. بر خلاف نتایج این پژوهش، در مطالعه فیضی و همکاران (۲۰۱۵) بالاترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئینی شنبلیله استخراج شده به روش قلیایی در pH معادل ۳ به میزان ۳۹ درصد به‌دست آمد [۱۷]. جمبراک و همکاران (۲۰۰۹) و مالیک و همکاران (۲۰۱۷) افزایش پایداری امولسیون حاوی پروتئین‌های سویا و آفتابگردان تحت تاثیر فراصوت را کاهش اندازه پپتیدها و تا اندازه‌ای باز شدن تاخوردگی پروتئین‌ها بیان کردند که این امر باعث انتقال و اتصال سریع‌تر پروتئین در سطح بین آب و روغن و در نتیجه بهبود ظرفیت امولسیون‌کنندگی می‌شود [۵۱، ۵۲]. بیشترین پایداری امولسیون در pH برابر ۱۰ حاصل شد و با گذشت زمان از پایداری امولسیون به طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) کاسته شد (شکل ٦-ب). فیضی و همکاران (۲۰۱۵) بالاترین میزان پایداری امولسیون حاوی پروتئینی شنبلیله استخراج شده به‌روش قلیایی در pH معادل ۸ را به میزان حدودا ۱۰۰ درصد گزارش کردند در حالی‌که کمترین میزان پایداری در pHهای ٤/۵ و ۳ به دست آمد [۱۷]. آنها دلیل کاهش پایداری امولسیون در طول زمان را افزایش تماس بین قطرات روغن و بهم پیوستن آنها و دلیل کاهش پایداری امولسیون در pH نقطه ایزوالکتریک را کاهش نیروهای دافعه بین مولکول‌های پروتئین بیان کردند.

۳-۸- بررسی میزان فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

رادیکال‌های آزاد DPPH می‌توانند هیدروژن را برای تولید یک مولکول پایدار DPPH بپذیرند؛بنابراین رنگ محلول حاوی رادیکال‌های آزاد DPPHبه‌طورمعنی‌داری از بنفش به زرد روشن تبدیل شده و میزان جذب را در ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌دهد [٦٦]. فعالیت مهار رادیکال‌های آزادDPPH توسط پروتئین شنبلیله و آسکوربیک اسید به‌عنوان یک ضد اکسایندهٔ طبیعی در غلظت‌های مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. تمام نمونه‌ها دارای اثر مهارکنندگی در برابر رادیکال‌های آزاد DPPH بودند به طوری‌که با افزایش غلظت میزان فعالیت مهارکنندگی نیز افزایش یافت. بر اساس نتایج به دست آمده آسکوربیک اسید فعالیت مهار کنندگی قوی‌تری در مقایسه با پروتئین شنبلیله از خود نشان داد، بااین‌حال این پروتئین شنبلیله نیز به عنوان یک محصولات طبیعی دارای تواناییچشمگیری در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH می‌باشد. سازوکار احتمالی توانایی مهار رادیکال آزاد توسط نمونه‌های مورد مطالعه ممکن است با انتشار الکترون یا انتقال هیدروژن به رادیکال‌های آزاد از گروه‌های مختلف هیدروکسیل موجود در ساختار پروتئین مرتبط باشد و درنتیجه می‌تواند واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد را متوقف کند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

Table 5 DPPHradical scavenging activity (%) of Fenugreek seed protein and ascorbic acid

Concentration (mg/mL)			Source
1	0.5	0.25	
63.28±1.00	54.37±1.18	52.85±1.34	Fenugreek seed protein
98.05±0.89	92.15±1.02	90.05±0.91	Ascorbic acid

٤- نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف بهینه‌سازی متغیرهای مستقل شامل قدرت امواج فراصوت وزمان اعمال فراصوت موثر بر استخراج پروتئین از دانه شنبلیله، ارزیابی ساختار، ویژگی‌های عملکردی و فعالیت ضد اکسایشی پروتئین شنبلیله انجام شد. با توجه به نتایج بهینه‌سازی عددی، شرایط بهینه برای استخراج پروتئین شنبلیله به کمک فراصوت شامل قدرت امواج فراصوت معادل ۸۰ وات و زمان ۲۸/۳۹ دقیقه بود. در این شرایط حداکثر عملکرد پیش‌بینی شده ۸/٦٥ درصد بود. وجود پروتئین و ساختار پروتئین شنبلیله به ترتیب با روش طیف‌سنجی ماوراء بنفش و مادون قرمز مورد تأیید قرار گرفت. پروتئینی به دست آمده به کمک امواج فراصوت خصوصیات عملکردی مطلوبی از خود نشان دادند. به علاوه فعالیت ضد اکسایشی قابل قبولی برای پروتئین دانه شنبلیله مشاهده گردید که این امر به دلیل توانایی اهدای الکترون برای واکنش با رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در نتیجه از امواج فراصوت می‌توان برای جداسازی پروتئین از دانه شنبلیله در مدت زمان کوتاه‌تر و با خصوصیات عملکردی مطلوب‌تر جهت استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی استفاده نمود.

٥- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر حاصل سمینار کارشناسی ارشد خانم آلا قاسمی کیا دانش آموخته گرایش فناوری مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه زنجان می‌باشد. از دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان که با فراهم آوردن امکانات تحقیق ما را یاری کردند، سپاسگزاری می‌نماییم.

٦- منابع

[1] Vojdan, F. 1996. Methods of testing protein functionality. Solubility. pp.11- 27. In: G. M. Hall (Ed.). Blackie academic and Professional. London.

[2] Sikorski, Z. E. 2006. Chemical and functional properties of food components. CRC press.

[3] El Nasri, N.A. and El Tinay, A.H. 2007. Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. Food Chemistry. 103: 582-589.

[4] Oshodi, A.A. and Ojokan, E.O. 1997. Effect of salts on some of the functional properties of bovine plasma protein concentrate. Food Chemistry. 59(3): 333–338.

[5] Arogundade, L. A. 2006. Functional characterization of Tef (*Eragosticstef*) protein concentrate: Influence of altered chemical environment on its gelation, foaming, and water hydration properties. Food Hydrocolloids. 20: 831-838.

[6] Bakhshi. M.F., Milani, E., Mortazavi, S.A.andMeshkani, S.M. 2013. Effect of extraction methods on functional properties of chickpea protein isolated. Iranian Journal of Food Science and Technology. 10(38): 11-20.

[7] Du, M., Xie, J., Gong, B., Xu, X., Tang, W., Li, X., Li, C.andXie, M. 2018. Extraction, physicochemical characteristics and functional properties of Mung bean protein. Food Hydrocolloids. 76: 131–140.

[8] Feyzi, S., Milani, E.andGolimovahhed, Q.A. 2018. Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein isolate: The effect of extraction optimization and drying methods on the structure and functional properties. Food Hydrocolloids. 74: 187–196.

[9] Jarpa-Parra, M., Bamdad, F., Wang, Y., Tian, Z., Temelli, F., Han, J.andChen, L. 2014. Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality. LWT–Food Science and Technology. 57(2): 461–469.

[10] Ruiz, G.A., Xiao, W., Van Boekel, M., Minor, M.andStieger, M. 2016. Effect of extraction pH on heat–induced aggregation, gelation and microstructure of protein isolate from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). Food Chemistry. 209: 203–210.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

[11] Feyzi, S., Varidi, M., Zare, F.andVaridi, M.J. 2015. Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed protein isolate: extraction optimization, amino acid composition, thermo and functional properties. Journal of the Science of Food and Agriculture 5(15): 3165–3176.

[12] Srinivasan, K. 2006. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): a review of health beneficial physiological effects. Food-Reviews-International. 22: 203-224.

[13] Leela, N.K. and Shafeekh, K.M. 2008. Fenugreek, In V.A. Parthasarathy., Chempakam, B., and Zachariah, T. J, Chemistry of spices, CAB International. London.

[14] Wani, S.A. and Kumar, P. 2018. Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 17(2): 97–106.

[15] Fowler, M.J. 2007. Diabetes treatment, part 1: diet and exercise. Clinical Diabetes 25(3): 105–109.

[16] Gupta, A., Gupta, R.andLal, B. 2001. Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seeds on glycaemic control and insulin resistance in type 2 diabetes. Journal of The Association of Physicians of India. 49: 1057–1061.

[17] Feyzi, S., Varidi, M., Zare, F.andVaridi, M.J. 2015. Effect of pH changes on functional properties of fenugreek protein isolate. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 11(5): 521–534.

[18] Phongthai, S., Lim, S.T.andRawdkuen, S. 2016. Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties. Journal of Cereal Science. 70: 146–154.

[19] Sarkis, J.R., Boussetta, N., Blouet, C., Tessaro, I.C., Marczak, L.D.F.andVorobiev, E. 2015. Effect of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on polyphenol and protein extraction from sesame cake. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 29: 170–177.

[20] Álvarez, C., Lélu, P., Lynch, S.A.andTiwari, B.K. 2018. Optimised protein recovery from mackerel whole fish by using sequential acid/alkaline isoelectric solubilization precipitation (ISP) extraction assisted by ultrasound. LWT-Food Science and Technology. 88: 210–216.

[21] Safaryan, M.J., Ganjloo, A., Bimakr, M.andZarringhalami, S. 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction, preliminary characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from green pea pods. Foods. 5(4): 1-15.

[22] Bimakr, M., Ganjloo, A.andNoroozi, A. 2019. Effect of acoustic cavitation phenomenon on bioactive compounds release from *Eryngium caucasicum* leaves. Journal of Food Measurement and Characterization. 13(3): 1839 - 1851.

[23] Bimakr, M., Rahman, R.A., Ganjloo, A., Taip, F.S., Adzahan, N.M.andSarker, M.Z.I. 2016. Characterization of valuable compounds from winter melon (benincasa hispida (thunb.) cogn.) seeds using supercritical carbon dioxide extraction combined with pressure swing technique. Food and Bioprocess Technology. 9(3): 396 - 406.

[24] Bimakr, M., Ghoreishi, S.M., Ganjloo, A.andMousavi, M. 2019. Modified supercritical carbon dioxide extraction of biologically active compounds from*Feijoa Sellowiana* leaves. International Journal of Food Engineering. 15(7): 20180342.

[25] Luque-Garcıa, J.L. and De Castro, M.L. 2003. Ultrasound: A powerful tool for leaching TrAC Trends in Analytical Chemistry. 22(1): 41–47.

[26] Maran, J. P., Mekala, V.andManikandan, S. 2013. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from *Cucurbita moschata*. Carbohydrate Polymers. 92(2): 2018–2026.

[27] Pico, Y. 2013. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 43: 84–99.

[28] Vilkhu, K., Manasseh, R., Mawson, R.andAshokkumar, M. 2011. Ultrasonic recovery and modification of food ingredients. In Ultrasound technologies for food and bioprocessing (pp. 345–368). Springer, New York, NY.

[29] Preece, K. E., Hooshyar, N., Krijgsman, A., Fryer, P.J.andZuidam, N.J. 2017. Intensified soy protein extraction by ultrasound. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. 113: 94–101.

[30] Yu, X., Gouyo, T., Grimi, N., Bals, O.andVorobiev, E. 2016. Ultrasound enhanced aqueous extraction from rapeseed

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

green biomass for polyphenol and protein valorization. Comptes Rendus Chimie. 19(6): 766–777.

[31] Jiang, L.Z., Wang, J., Li, Y., Wang, Z.J., Liang, J., Wang, R., Ma, W., Qi, B., Zhang, M.andChen, Y. 2014. Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. Food Research International. 62: 595–601.

[32] Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E.C., Zhu, L., Zhang, F.andXu, X. 2013. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. Food Hydrocolloids. 30(2): 647–655.

[33] Higuera-Barraza, O.A., Del Toro-Sanchez, C.L., Ruiz-Cruz, S.andMárquez-Ríos, E. 2016. Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. Ultrasonics Sonochemistry. 31: 558–562.

[34] Amza, T., Amadou, I., Zhu, K.andZhou, H. 2011. Effect of extraction and isolation on physicochemical and functional properties of an underutilized seed protein: Gingerbread plum (*Neocarya macrophylla*). Food Research International. 44(9): 2843–2850.

[35] Chen, Y., Luo, H., Gao, A.andZhu, M. 2011. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) seed by response surface methodology and their structural characteristics. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 12(3): 305–309.

[36] Bera, M.B. and Mukherjee, M.R.K. 1989. Solubility, emulsifying, and foaming properties of rice bran protein concentrates. Journal of Food Science. 54: 142–145.

[37] Owusu-Apenten, R.K. 2002. Food protein analysis: quantitative effects on processing. Marcel Dekker, Inc: New York.

[38] Beuchat, L.R. 1977. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 25(2): 258–261.

[39] Coffmann, C.W. and Garciaj, V.V. 1977. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. International Journal of Food Science & Technology. 12(5): 473–484.

[40] Neto, V.Q., Narain, N., Silva, J.B.andBora, P.S. 2001. Functional properties of raw and heat processed cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) kernel protein isolates. Food/Nahrung. 45(4): 258–262.

[41] Xie, J.H., Shen, M.Y., Xie, M.Y., Nie, S.P., Chen, Y., Li, C., DF, H.andWang, Y.X. 2012. Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja polysaccharides. Carbohydrate Polymers. 89(1): 177–184.

[42] Tian, Y., Zeng, H., Xu, Z., Zheng, B., Lin, Y., Gan, C.andLo, Y. 2012. Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharides recovered from white button mushroom (*Agaricus bisporus*). Carbohydrate Polymers. 88(2): 522–529.

[43] Wei, F., Gao, G.Z., Wang, X.F., Dong, X.Y., Li, P.P., Hua, W., Wang, X., Wu, X.M.andChen, H. 2008. Quantitative determination of oil content in small quantity of oilseed rape by ultrasound-assisted extraction combined with gas chromatography. Ultrasonics Sonochemistry. 15: 938–942.

[44] Zhao, S., Kwok, K.C.andLiang, H.H. 2007. Investigation on ultrasound assisted extraction of saikosaponins from *Radix Bupleuri*.Separation and Purification Technology. 55: 307–312.

[45] Zhu, K.-X., Sun, X.-H.andZhou, H.-M. 2009. Optimization of ultrasound-assisted extraction of defatted wheat germ proteins by reverse micelles. Journal of Cereal Science. 50: 266-271.

[46] Yang, Y., Cui, S.W., Gong, J., Guo, Q., Wang, Q.andHua, Y. 2015. A soy protein-polysaccharides Maillard reaction product enhanced the physical stability of oil-in-water emulsions containing citral. Food Hydrocolloids. 48: 155–164.

[47] Chen, X., Ru, Y., Chen, F., Wang, X., Zhao, X.andAo, Q. 2013. FTIR spectroscopic characterization of soy proteins obtained through AOT reverse Micelles. Food Hydrocolloids. 31: 435–437.

[48] Silverstein, R. M., Bassler, G. C. andMorrill, T.C. 1981. Infrared spectroscopy. In Spectrometric identification of organic Compounds (pp. 95–137). New York: John Wiley and Sons.

[49] Dong, X., Guo, L., Wei, F., Li, J., Jiang, M., Li, G.M., Zhao, Y.D.andChen, H. 2011. Some characteristics and functional properties of rapeseed protein prepared by ultrasonication, ultrafiltration and isoelectric

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]

properties of bambarra groundnut (*Voandzeia subterranean*), jack bean (*Canavalia ensiformis*) and mucuna bean (*Mucuna pruriens*) flours. Food Research International. 37(4): 355–365.

[60] Nasrollahzadeh, F., Varidi, M., Koocheki, A.andHadizadeh, F. 2017. Effect of microwave and conventional heating on structural, functional and antioxidant properties of bovine serum albumin-maltodextrin conjugates through Maillard reaction. Food Research International. 100: 289–297.

[61] Wilde, P.J. and Clark, D.C. 1996. The competitive displacement of *β*-lactoglobulin by tween 20 from oil–water and air–water interfaces. Journal of Colloid and Interface Science. 155: 48–54.

[62] Wani, I.A., Sogi, D.S.andGill, B.S. 2015. Physico-chemical and functional properties of native and hydrolyzed protein isolates from Indian black gram (*Phaseolus mungo* L.) cultivars. LWT-Food Science and Technology. 60(2): 848–854.

[63] Aremo, M.O. and Olaofe, O. 2007. Functional properties of some Nigerian varieties of legume seed flours and flour concentration effect on foaming and gelation properties. Journal of Food Technology. 5(2): 109-115.

[64] Yu, J., Ahmedna, M.andGoktepe, I. 2007. Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. Food Chemistry. 103(1): 121–129.

[65] Sarkar, A., Goh, K.T.andSingh, H. 2010. Properties of oil-in-water emulsions stabilized by *β*-lactoglobulin in simulated gastric fluid as influenced by ionic strength and presence of mucin. Food Hydrocolloids. 24: 534–541.

[66] Feng, S., Cheng, H., Fu, L., Ding, C., Zhang, L., Yang, R.andZhou, Y. 2014. Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activities of polysaccharides from *Camellia oleifera* leaves. International Journal of Biological Macromolecules. 68: 7–12.

precipitation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 91(8): 1488–1498.

[50] Jain, S. and Anal, A.K. 2016. Optimization of extraction of functional protein hydrolysates from chicken egg shell membrane (ESM) by ultrasonic assisted extraction (UAE) and enzymatic hydrolysis. LWT–Food Science and Technology. 69: 295–302.

[51] Jambrak, A.R., Lelas, V., Mason, T.J., Krešic, G.andBadanjak, M. 2009. Physical properties of ultrasound treated soy proteins. Journal of Food Engineering. 93: 386–393.

[52] Malik, M.A., Sharma, H.K.andSaini, 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.

[53] Connolly, A., Piggott, C.O.andFitz Gerald, R.J. 2014. Technofunctional properties of a brewers' spent grain protein-enriched isolate and its associated enzymatic hydrolysates. LWT-Food Science and Technology. 59(2): 1061–1067.

[54] Bhaskaracharya, R.K., Kentish, S.andAshokkumar, M. 2009. Selected Applications of Ultrasonic in Food Processing. Food Engineering Reviews. 1: 31–49.

[55] Hu, H., Fan, X., Zhou, Z., Xu, X., Fan, G., Wang, L., Huang, X., Pan, S.andZhu, L. 2013. Acid induced gelation behavior of soybean protein isolate with high intensity ultrasonic pre–treatments. Ultrasonics Sonochemistry. 20: 187–195.

[56] Seena, S. and Sridhar, K.R. 2005. Physiochemical, functional and cooking properties of Canavalia. Food Chemistry. 32: 406–412.

[57] Kinsella, J.E. 1982. Relationships between structure and functional properties of food proteins. Food Proteins. 1: 51–103.

[58] Kaur, M. and Singh, N. 2007. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Food Chemistry. 102: 366–374.

[59] Adebowale, K.O. and Lawal, O.S. 2004. Comparative study of the functional

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Optimization of Ultrasound-assisted Extraction of Fenugreek Seed Protein and Evaluation of Its Structural, Functional Properties and AntioxidantActivity

Ghasemi Kia, A. [1], Ganjloo, A. [2*], Bimakr, M. [2]

1. MSc of Food Technology, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

ABSTRACT

Proteins are one of the most important food constituents due to their unique functional properties and health benefits. Among plant proteins, fenugreek seed protein is of great interest due to its high content of essential amino acids. The current study was carried out to optimize ultrasound-assisted extraction of fenugreek seed protein and evaluation of its functional, structural and antioxidant properties. The optimal conditions for protein extraction were ultrasonic power of 80 W and sonication time of 28.39 min which under these conditions, the predicted extraction yield was 8.65% which was in good agreement with the experimental value (8.57%). Amide A, amides type I, II, and III bands were observed in Fourier transform infrared spectrum. The solubility was pH-dependent. The water and oil absorption capacity was 6.24 and 2.72 mL/g, respectively. The lowest (44.66%) and highest (92.49%) foaming capacities were observed at pH 4.5 and 10, respectively. The highest emulsifying capacity (84.53%) was observed at pH 10, while the lowest (54.82%) was at isoelectric point. At the constant pH, the foam and emulsion stability decreased over time. The results revealed that ultrasound can be applied effectively to reduce the time of protein extraction process from fenugreek seeds. In addition, the fenugreek seeds extracted by using ultrasound have desirable functional and antioxidant properties that make it feasible for utilization in the food industry.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 11/ 24
Accepted 2022/ 05/ 23

Keywords:

Extraction,
Response surface methodology,
Fourier transform infrared spectroscopy,
Protein solubility,
Foaming capacity.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5

*Corresponding Author E-Mail:
aganjloo@znu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.14.5]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.126.39]