مطالعه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ایزوله پروتئینی و آرد دانه آفتابگردان آجیلی تحت شرایط مختلف استخراج

لاله مهریار[۱]، محسن اسمعیلی[۲*]، مهدی ایمانی[۳]، فریبا زینالی[۴]، روح‌الله صادقی[۵]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اورمیه
۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اورمیه
۳- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه اورمیه
۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اورمیه
۵- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه

(تاریخ دریافت: ۹۴/۰۷/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۰۵)

چکیده

روش‌های مرسوم چربی‌گیری در فرآوری مواد غذایی بدلیل اعمال دماهای بسیار بالا (تا ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد) و زمان طولانی، منجر به تغییر ماهیت حرارتی، کاهش حلالیت و مشکلات عملگرایی پروتئین‌ها می‌گردد. در این تحقیق خصوصیات فیزیکوشیمیایی آرد و پروتئین استخراجی از دانه آفتابگردان آجیلی تحت شرایط معمول و با استفاده از کربن فعال مورد بررسی قرار گرفت. شاخص‌های مورد مطالعه شامل محتوای رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر، کربوهیدرات، فنل کل، آنتی‌اکسیدان، حلالیت پروتئین در آب، ژل الکتروفورز، دمای دناتوراسیون و رنگ می‌باشند. تمامی نمونه‌ها از لحاظ شاخص‌های مورد مطالعه با هم اختلاف آماری معنی‌داری داشتند. محدوده نتایج بدست آمده برای رطوبت ۱۱-۱/۹ (٪)، پروتئین ۹۰/۲۴-۳۱/۳۷ (٪)، چربی ۴۹/۱-۰/۰۱ (٪)، خاکستر ۱۰-۰/۷ (٪)، کربوهیدرات ۲۳/۵-۹/۳ (٪)، فنل کل ۱۸/۴۳-۰/۵۸۱ (*mg/g*)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۳۱-۰/۲ (٪)، حلالیت پروتئین ۸۶/۳-۸۲/۲ (٪)، دمای دناتوراسیون ۸۹/۸۶-۸۱/۸۲ (^{o}C)، شاخص روشنایی (L) ۸۷/۶-۴۱/۶، a ۹/۹-(۰/۸-) و b ۲۱/۱-۱۰/۲ برای نمونه‌های آرد و پروتئین بدست آمدند. نمونه‌های ایزوله پروتئینی، محتوای رطوبت، چربی، خاکستر، فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کمتر و پروتئین بیشتری را در مقایسه با نمونه‌های آرد نشان دادند. نمونه‌های پروتئینی بدست آمده با استفاده از کربن فعال محتوای رطوبت، چربی، خاکستر، فنل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پایین‌تر و محتوای پروتئین، حلالیت پروتئین، دمای دناتوراسیون و شاخص روشنایی بیشتری را در مقایسه با نمونه‌های پروتئینی استخراجی به روش معمول نشان دادند.

کلید واژگان: ایزوله پروتئینی آفتابگردان، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، دمای تغییر ماهیت، SDS-PAGE

* مسئول مکاتبات: m.esmaiili@urmia.ac.ir

۱- مقدمه

دانه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) یکی از منابع عمده روغن‌های گیاهی در سراسر دنیا شناخته شده است. طبق آمار فائو، روسیه، اکراین و آرژانتین سه کشور عمده تولید کننده دانه آفتابگردان می‌باشند [۱] و بر اساس آمار سازمان جهاد کشاورزی، آذربایجان غربی رتبه نخست کشوری را در تولید آفتابگردان آجیلی دارد [۲]. انواع غیر روغنی آفتابگردان (آجیلی) شامل پوسته (٤٧٪) و پروتئین(۳۰-۲۰٪) بیشتری از انواع روغنی بوده و چربی و پروتئین که از اجزای اصلی دانه آفتابگردان می‌باشند به ترتیب ٦٥-٤٧٪ و ٤٠-٢٠٪ از دانه پوست گیری شده را تشکیل می‌دهند [٥-٣]. گلوبولین‌ها بیشترین (٩٠-٤٠٪) و آلبومین‌ها ۳۰-۱۰ ٪ از کل پروتئین‌ها را به خود اختصاص داده و گلوتلین‌ها و بویژه پرولامین‌ها از اجزای جزئی می‌باشند [٤ و ٨-٦].

پروتئین‌های آفتابگردان طی فرآیند چربی‌گیری در کارخانه، بدلیل اعمال دماهای بسیار بالا (تا ١٤٠℃) دچار تغییر ماهیت حرارتی، کاهش حلالیت و ایجاد تغییرات نامطلوب در خواص عملگری می‌شوند، در نتیجه راندمان استخراج پروتئین ومزایای اقتصادی آن تغییر کرده و کاربرد عمده کنجاله آفتابگردان محدود به استفاده در خوراک دام می‌گردد [۹ و ۱۰]. با توجه به افزایش تقاضای جهانی برای پروتئین‌های با منشأ گیاهی در مقایسه با حیوانی، بدلیل قیمت بالای پروتئین‌های حیوانی و اثرات زیست محیطی، پروتئین‌های گیاهی اهمیت قابل توجهی پیدا کرده‌اند. توسعه دانه‌های آفتابگردان بعنوان یک منبع برای پروتئین‌های غذایی عمدتاً به دو دلیل محدود شده است [٤ و ۱۰]:

۱- حضور ترکیبات فنولی بویژه اسید کلروژنیک (CGA) بدلیل تشکیل کمپلکس با پروتئین‌ها و اثر روی عملکرد

۲- تغییر ماهیت پروتئین طی فرآیند چربی‌گیری.

دانه آفتابگردان دارای ترکیبات فنولی مانند اسید کافئیک، اسید کوئینیک و بویژه محتوای بالایی از اسید کلروژنیک می‌باشد که باعث اثرات نامطلوب از جنبه تغذیه‌ای، کاربردهای فنی [٥ و ۱۱] و تیرگی رنگ پروتئین می‌گردند. ترکیبات فنولی می‌توانند با پروتئین‌ها ترکیب شده و دسترسی آنها را دستخوش تغییرنموده و حلالیت پروتئین‌های کروی را کاهش دهند، همچنین قابلیت هضم پروتئین، زمان نگهداری، پایداری و خصوصیات ارگانولپتیکی آن تغییر خواهد نمود. از طرفی اکسیداسیون ترکیبات فنولی به کینون‌ها یک واکنش غیر قابل برگشت بوده [٤ و ۱۰] و کینون‌ها نیز بشدت واکنش پذیرند و علاوه بر تشکیل پلی‌مر، قادر به تشکیل پیوندهای کووالانسی با گروه‌های واکنش‌پذیر (سولفیدریل و آمینو) روی پروتئین‌ها هستند [۱۱ و ۱۲].

بر اساس آنچه گفته شد، می‌توان حذف ترکیبات فنولی را بعنوان یکی از موضوعات اصلی در ارتباط با تولید محصولات پروتئینی مطلوب از دانه آفتابگردان قلمداد نمود. تلاش‌های انجام شده در این راستا را می‌توان شامل حذف ترکیبات فنلی از طریق: استخراج با مخلوط‌هایی از حلال‌های آلی و آب، استخراج با محلول‌های آبی اسیدی، نمک‌ها ویا عوامل کاهنده، فیلتراسیون غشایی، حذف با ته نشینی یا رنگدانه‌های کمپلکس و سایر ترکیبات غیر پروتئینی و ترکیبی از آنها، دانست [٤].

روش‌های پیشنهادی فوق با افزایش حلالیت پروتئین‌ها باعث افزایش افت پروتئین می‌گردند و حلالیت اسید کلروژنیک در متانول بیشتر از سایر حلال‌ها می‌باشد و مخلوط‌های متانول/آب دارای کارایی استخراج بالایی برای ترکیبات فنولی بوده و منجر به افت پروتئین و تغییر ماهیت کمتر پروتئین می‌شوند [٤]. از طرف دیگر، با توجه به حضور ناخالصی‌های پروتئین شرح داده شده، و با در نظر گرفتن نقش مهمی که کربن فعال در چربی‌زدایی، حذف ناخالصی‌های پروتئینی [۱۳] و حذف ترکیبات فنولی [١٤] دارد، استفاده از این ماده در خالص‌سازی پروتئین و تولید ایزوله‌ای با درصد خلوص نسبی بالا می‌تواند بسیار سودمند باشد.

DSC[1] یکی از روشهایی است که به کمک آن می‌توان تغییرات حرارتی پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها را مطالعه نموده و اطلاعاتی در مورد گذارهای اولیه و ثانوی آنها بدست آورد [١٥]، بنابراین با استفاده از این روش می‌توان پایداری حرارتی پروتئین‌ها را بررسی نمود [۱۰ و ١٦ و ۱۷].

توسعه‌ی یک روش ممکن تجاری برای دستیابی به پروتئین‌های دناتوره نشده با محتوای پایین CGA و راندمان

[1] differential scanning calorimetry

پروتئین بالا همچنان یک چالش مهم و قابل توجهی می‌باشد. مطالعات بسیاری در رابطه با استخراج پروتئین از کنجاله دانه آفتابگردان روغنی انجام شده است [۱۰ و ۱۸]، اما تا کنون استخراج پروتئین از دانه آفتابگردان آجیلی چندان موضوع کار پژوهشگران نبوده است. در این مطالعه ضمن استفاده از کربن فعال، استخراج ایزوله‌ی پروتئینی تا حد ممکن عاری از ناخالصی‌ها از دانه آفتابگردان آجیلی و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری حرارتی آن مطالعه شده است. نتایج این مطالعه می‌تواند برای ارزیابی خواص عملکردی ایزوله پروتئینی دست نخورده و فراکسیون‌های گلوبولین و آلبومین خالص در پژوهش‌های آتی بسیار سودمند باشد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد

دانه آفتابگردان آجیلی از بازار محلی خریداری شده و به روش دستی پوست‌گیری گردید. نرمال هگزان، متانول، اتانول، استون، سدیم کربنات، اسید کلروژنیک و کربن فعال به ترتیب از شرکت‌های مرک (Darmstadt، آلمان) وErbeslöh آلمان تهیه گردید. واکنشگر فولین-سیوکالتو، پتاسیم پرسولفات،ABTSو آلبومین سرم گاوی (BSA[2]) از شرکت سیگما آلدریچ خریداری گردیدند. مارکر پروتئینی SM0431از شرکت فرمنتاز تهیه گردید.

۲-۲- روشها

۲-۲-۱- آماده سازی کنجاله آفتابگردان چربی گیری شده

دانه‌های پودر شده با استفاده از نرمال هگزان در یک دستگاه سوکسله دستی طراحی شده مجهز به یک مبرد جانبی در قسمت محفظه نمونه، چربی‌گیری شد. چربی‌گیری در محدوده دمایی ۲۵°C-۱۸ انجام گرفت. نمونه‌های چربی‌گیری شده پس از خارج شدن از دستگاه، به مدت یک شبانه روز در دمای محیط به منظور حذف کامل هگزان از نمونه نگه داشته شد. تمامی نمونه‌های حاصله حاوی کمتر از ۱٪ چربی بودند. به منظور چربی‌گیری و حذف ترکیبات فنولی بیشتر از پروتئین‌های آفتابگردان، تیمار با کربن فعال (در سطح ۵۰ ٪ از وزن نمونه) بعد از جداسازی کامل ترکیبات فنولی در مرحله استخراج پروتئین از کنجاله آفتابگردان انجام گرفت. روش کار بدین صورت بود که ۱۰ برابر وزن اولیه کنجاله، آب مقطر در دمای ۲۳ °C به آن اضافه شد و سپس کربن فعال بر اساس نوع تیمار به آن افزوده شده و مخلوط درpH برابر با ۳ (با اسید کلریدریک ۲ نرمال) به مدت یک ساعت در حمام آب یخ بصورت مغناطیسی هم زده شد. در نهایت کربن فعال با سانتریفیوژ کردن در دور ۱۴۰۰۰rpm با استفاده از یک سانتریفیوژ یخچال‌دار (Hettich universal 320r) در دمای ۴ °C به مدت ۱۵ دقیقه حذف گردید. pH محلول بعداً با افزودن سود ۲ نرمال به ۷ رسانیده شد و تا مرحله استخراج پروتئین در دمای ۴ °C نگهداری شد [۱۳].

۲-۲-۲- آماده سازی کنجاله آفتابگردان چربی گیری و فنول زدایی شده (DDSM[3])

کنجاله آفتابگردان چربی‌گیری و فنول‌زدایی شده از طریق استخراج سرد (۴ °C) و با استفاده از مخلوط ۸۰٪ متانول- آب (حجمی- حجمی) با نسبت کنجاله به حلال ۱ به ۲۰ (وزنی- حجمی) به همراه هم زدن به مدت ۴ ساعت بدست آمد. سوسپانسیون در دور g ×۸۰۰۰ در دمای ۴ °C به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. روند استخراج تا زمانی که بخش رویه مخلوط سانتریفیوژ شده با افزایش سود تشکیل رنگ زرد ندهد، ادامه یافت [۹]. این عمل بعد از ۶ بار استخراج با مخلوط متانول به منظور جداسازی کامل ترکیبات فنولی ادامه یافت.

۲-۲-۳- آماده سازی ایزوله پروتئین آفتابگردان (SPI[4])

دیسپرسیون آبی کنجاله آفتابگردان چربی‌گیری و فنول‌زدایی شده (نسبت ۲/۵g-۱/۵ کنجاله آفتابگردان فنول‌زدایی شده به ۴۰ میلی‌لیتر محلول NaCl ۲Mوزنی- حجمی) درpH معادل ۶ (با استفاده از سود و اسید کلریدریک ۲ نرمال) به همراه

[2] BSA: Bovine Serum Albumin

[3]Defatted and Dephenolized Sunflower Meal (DDSM)
[4]Sunflower Protein Isolate

کربن فعال (۵۰٪ وزنی) به مدت نیم ساعت هم زده شد و در دور ۲۰۰۰۰g در دمای ۲۰ ^{o}C به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بخش رویی آن جمع‌آوری گردید. بخش رسوب سانتریفیوژ مجدداً مانند آنچه که گفته شد، استخراج پروتئین گردید. بخش رویی هر دو مرحله استخراج با هم ادغام شده و در معرض ترسیب ایزوالکتریک با تنظیم pH در ٤/٥ (با استفاده از اسید کلریدریک ۲ نرمال) قرار گرفت. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شده سپس در دور ۲۰۰۰۰ g در دمای ٤ ^{o}C به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پروتئین حاصله مجدداً با آب در pH ٤/٥ به منظور دستیابی به پروتئین خالص مخلوط شده و سانتریفیوژ گردید. پروتئین نهایی بدست آمده با آب مخلوط و بهpH مساوی ۹ رسانیده شد و سپس در ^{o}C ۸۰- منجمد گردیده و توسط یک خشک کن انجمادی (Operon, OPR-FDCF-12012, Korea) خشک گردید [۱۰].

۲-۲-٤- محتوای رطوبت

محتوای رطوبت نمونه‌های آفتابگردان مطابق با روش استاندارد AOAC 935.29 انجام گرفت. بدین صورت که پس از آسیاب کردن کامل نمونه و یکنواخت نمودن آن، حدود ۱mg از نمونه را وزن کرده و در آونی که قبلاً به دمای استاندارد رسیده بود، قرار داده شد. به مدت ۳ ساعت در دمای استاندارد حرارت داده و سپس از آون خارج نموده و وارد دسیکاتور شد و تا دمای اتاق سرد گردید و در نهایت نمونه وزن و درصد رطوبت محاسبه گردید. تمامی آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد.

۲-۲-۵- محتوای پروتئین

محتوای پروتئین آفتابگردان توسط روش کجلدال (AOAC 920.53) با استفاده از ضریب تبدیل نیتروژن به پروتئین ٦/٢٥توسط یک دستگاه کجلدال تمام اتوماتیک (Gerhardt, Germany) در سه تکرار اندازه‌گیری گردید.

۲-۲-٦- محتوای چربی

محتوای چربی آفتابگردان توسط روش سوکسله (AOAC 920.39) با استفاده از نرمال هگزان بعنوان حلال استخراج کننده توسط یک دستگاه سوکسله تمام اتوماتیک (Gerhardt, Germany) در سه تکرار تعیین گردید.

۲-۲-۷- محتوای خاکستر

محتوای خاکستر مطابق با روش استاندارد AOAC 923.03 صورت گرفت. به طور خلاصه، مقدار ۵-۳ گرم از نمونه بخوبی آرد و یکنواخت شده به یک بوته نسبتاً پهن و کم ارتفاع که قبلاً مشتعل شده و در دسیکاتور به وزن ثابت رسیده بود، انتقال داده شد. وزن اولیه بوته بلافاصله پس از خروج از دسیکاتور یادداشت گردید. بوته حاوی نمونه در دمای ۵۵۰^{o}C در داخل کوره تا رسیدن به یک خاکستر خاکستری رنگ متمایل به سفید یا رسیدن به یک وزن ثابت قرار داده شد. سپس نمونه در دسیکاتور گذاشته شده و بلافاصله پس از رسیدن به دمای محیط توزین گردید. تمامی آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد.

۲-۲-۸- محتوای کربوهیدرات

محتوای کربوهیدرات بر اساس روش استاندارد AOAC 14023/24 صورت گرفت. در این روش، نمونه مورد نظر به مدت ۲ ساعت در محیط اسیدی قوی هیدرولیز شد. این آزمون در ۳ تکرار انجام شد.

۲-۲-۹- محتوای فنلی کل

محتوای فنلی کل بر اساس روش انجام شده توسط سینگلتون و روسی (۱۹٦۵) اندازه‌گیری گردید. به طور خلاصه، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره (تهیه شده از حل کردن ۰/۱۵ گرم از نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر از استون ۷۰٪ حجمی- حجمی و مخلوط کردن آن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط و سانتریفیوژ کردن محلول در ۲۰۰۰۰×g(Hettich universal 320r)برای مدت ۲۰ دقیقه) با ۰/۲۵ میلی‌لیتر از معرف فولین و ۱/۲۵ میلی‌لیتر از سدیم استات مخلوط شده و سپس ۰/٤ میلی‌لیتر آب دیونیزه به مخلوط اضافه گردید. بعد از ٤۰ دقیقه نگهداری محلول در محلی تاریک در دمای محیط، جذب نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط یک اسپکتروفتومتر UV- 4050 Visible(سیگما-آلمان) در مقابل نمونه شاهد اندازه‌گیری گردید. سپس مواد فنلی کل بصورت معادل کلروژنیک اسید از روی منحنی کالیبراسیون (R^2=0.9965) ترسیم شده از

محلول‌های استاندارد، محاسبه و گزارش گردید. نتایج بصورت میلی‌گرم کلروژنیک اسید به ازای ماده خشک بیان گردیدند. این آزمون در ۳ تکرار انجام شد.

۲-۲-۱۰- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت مهار رادیکال $ABTS^{+\cdot}$(۲و ۲- آزینوبیس -(۳-اتیلبنزوتیازولین-۶-سولفونیکاسید)[5] توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تعیین گردید. رادیکال $ABTS^{+\cdot}$ با افزودن ۲/۴۵ میلی‌مولار از پتاسیم پرسولفات به ۷ میلی‌مولار از ABTS و اکسیداسیون آن و قرار دادن در محیط تاریک به مدت ۱۶-۱۲ ساعت، تشکیل شد [۱۰]. سپس این محلول پایه با افزودن آب مقطر تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر رقیق شد. نمونه مورد نظر حل شده در بافر سدیم فسفات ۰/۰۱ مولار و pH ۷/۴ (۱ میلی‌گرم پروتئین بر میلی‌لیتر، ۵۰ میکرولیتر) به ۹۵۰ میکرولیتر از محلول حاوی $ABTS^{+\cdot}$اضافه شده، مخلوط به شدت به مدت یک دقیقه هم زده شده و جذب آن در ۷۳۴ نانومتر (Abs_s) بعد از ۱۰ دقیقه از زمان افزودن رادیکال پیش ساخته در سه تکرار خوانده شد. رادیکال $ABTS^{+\cdot}$ در برابر ترکیبات دهنده هیدروژن کاهش می‌یابد که به موجب آن، جذب آن نیز در ۷۳۴ نانومتر کاهش می‌یابد. نمونه شاهد (Abs_{rb}) به مانند روش توضیح داده شده تهیه گردید. فقط به جای محلول پروتئینی، ۵۰ میکرولیتر از بافر سدیم فسفات استفاده گردید. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی طبق معادله زیر محاسبه گردید.

$$AC = \frac{Abs_{rb} - Abs_s}{Abs_{rb}} \times 100$$

۲-۲-۱۱- حلالیت پروتئین در آب

مقدار ۱ mg/ml از نمونه در آب مقطر پخش شده و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد. سپس pH محلول با استفاده از سود ۱ نرمال به ۸ رسانده شد و مجدداً به مدت یک ساعت با همزن ثابت هم زده شد. سوسپانسیون در دور ۲۰۰۰۰× g (Hettich universal 320r) برای ۱۵ دقیقه در ۲۰°C سانتریفیوژ گردید. پروتئین‌های محلول در قسمت رویه با روش براد فورد با استفاده از آلبومین سرم گاوی بعنوان استاندارد بدست آمدند.

5. 2, 2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonic acid)

نتایج بصورت درصد محتوای پروتئینی اولیه بیان گردیدند. آزمون در سه تکرار انجام گردید [۱۰].

۲-۲-۱۲- الکتروفورز ژل سدیم دودسیل سولفات پلی آکریل آمید (SDS-PAGE[6])

ترکیب پلی‌پپتیدی نمونه‌های پروتئین توسط الکتروفورز ژل سدیم دودسیل سولفات پلی‌آکریل آمید (SDS-PAGE) مورد آنالیز قرار گرفت. ژل جداکننده[7] (۱۲٪) همراه با ژل متراکم کننده[8] (۴٪) برای این منظور استفاده گردید. مقدار ۲-۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از پروتئین در بافر تریس-گلیسین (Tris-Gly) (pH ۸/۳) حل شده و مقدار ۲۰ میکرولیتر از آن بر روی صفحه ژل تزریق گردید. الکتروفورز در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۴-۳ ساعت انجام گرفت. ژل با ۳۰٪ متانول بعلاوه ۱۲/۵ ٪ وزنی-حجمی اسید تری کلرو استیک تثبیت شده و با کوماسی بلو[9] (۰/۱ ٪) رنگ آمیزی و با متانول - استیک اسید-آب (۸:۱:۱) رنگ زدایی گردید. باندهای پروتئینی در یک دانسیتومتر (ATAGO) خوانده شد.

۲-۲-۱۳- گرماسنجی پویشی تفاضلی (DSC)[10]

به منظور تعیین دماهای دناتوراسیون (تغییر ماهیت) و آنتالپی نمونه‌ها، از یک کالریمتر روبشی افتراقی تجاری (DSC-60, SHIMADZU, Japan) استفاده شد. کروزه‌های آلومنیومی کاملاً مهر و موم شده حاوی ۲ میلی‌گرم از نمونه تهیه شده و پویش در سرعت ۱۰°C/min در محدوده دمایی ۲۰۰-۲۰ °C برای پروتئین‌ها صورت گرفت [۱۰]. دماهای بیشینه (T_m) بصورت °C) و آنتالپی‌ها از روی ترموگرام‌های مربوطه استخراج گردیدند. هر آزمون، دو بار تکرار گردید.

۲-۲-۱۴- رنگ

مقادیر رنگ (شاخص‌های L، a و b) ایزوله‌های پروتئینی آفتابگردان با استفاده از یک رنگ‌سنج Minolta (Chroma Meter CR-410, Japan) اندازه‌گیری گردید. پارامترهای رنگ با استفاده از مقیاس رنگ CIE Lab بدست آمدند

6. Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)
7. Separating gel
8. Stacking gel
9. Coomassie blue
10. Differential Scanning Calorimetry (DSC)

[۱۰]. مقادیر شاخص L (روشنایی) از سیاه (۰) تا سفید (۱۰۰)، مقادیر شاخص a از سبز (۶۰-) تا قرمز (۶۰+) و مقادیر شاخص b از آبی (۶۰-) تا زرد (۶۰+) متغیر می‌باشند. برای اندازه‌گیری پارامترهای رنگ، هر نمونه پروتئین به طور یکنواخت بر روی سطحی سفید و روشن پخش گردید.

۲-۲-۱۵- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج آماری این تحقیق بر پایه تجزیه واریانس (ANOVA) صورت گرفته و نتایج آن بصورت انحراف معیار ± میانگین ۳ تکرار گزارش گردیده‌اند. مقایسات میانگین با استفاده از آزمون توکی[11] در سطح احتمال ۵ درصد توسط نرم افزار آماری SAS انجام گرفت. تجزیه و تحلیل عکس ژل الکتروفورز توسط نرم افزار توتال لب (TotalLab Quant) انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی

نتایج آنالیز فیزیکوشیمیایی نمونه‌های پروتئین و آرد دانه آفتابگردان آجیلی در جداول ۱ و ۲ آورده شده‌اند. در نتیجه چربی‌گیری از آرد آفتابگردان، مقدار چربی به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت به طوری که به میزان ۱ ٪ و در اکثر نمونه‌ها به زیر ۱ ٪ رسید (جدول ۱). فرآیند چربی‌گیری که در دمای ^{o}C ۲۵-۱۸ به مدت ٤ ساعت صورت گرفت، تأثیر منفی روی دمای دناتوراسیون پروتئین‌ها نشان نداد که نشان دهنده دما و زمان مناسب برای چربی‌گیری می‌باشد. در مطالعه‌ای که سالگادو و همکاران (۲۰۱۱) بر روی پروتئین آفتابگردان انجام دادند، کنجاله آفتابگردان مورد مطالعه نیز حاوی کمتر از ۱٪ چربی بود. در مقایسه کنجاله آفتابگردان با سایر منابع پروتئین‌های گیاهی (مانند سویا)، این کنجاله حاوی مقدار زیادی از ترکیبات فنلی عمدتاً اسید کلروژنیک و اسید کافئیک می‌باشد. همانطور که در جداول نیز دیده می‌شود، اختلاف معنی‌داری از لحاظ شاخص‌های مورد مطالعه بین نمونه‌ها وجود دارد. نمونه‌های آرد آفتابگردان چربی‌گیری نشده در مقایسه با نمونه‌های آرد آفتابگردان چربی‌گیری شده مقادیر محتوای رطوبت، پروتئین، خاکستر، کربوهیدرات، فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتری را نشان دادند. دلیل این امر را می‌توان به حذف چربی و بالا رفتن درصد سایر شاخص‌ها نسبت داد. حذف ترکیبات فنلی به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های فنل‌زدایی شده می‌گردد. به طوری که این مقدار از ۶/۸ و ۳۱ به ترتیب در نمونه‌های آرد چربی‌گیری نشده و چربی‌گیری شده به مقدار ۲ در نمونه‌های فنل‌زدایی شده کاهش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ایزوله‌های پروتئینی بدلیل برهمکنش شدید ترکیبات فنلی با پروتئین‌ها همچنان به مقدار جزئی وجود داشت. درصد پروتئین در ایزوله پروتئینی به روش معمول کمتر از درصد پروتئین در ایزوله استخراجی به کمک کربن فعال می‌باشد. این اختلاف را می‌توان به اثر حذف کنندگی ناخالصی‌ها و چربی‌های اضافی در پروتئین توسط کربن فعال و به دنبال آن افزایش درصد پروتئین نسبت داد. به همین دلیل درصد ترکیبات فنلی ایزوله پروتئینی استخراجی به روش معمولی بیشتر از درصد ترکیبات فنلی ایزوله استخراجی به کمک کربن فعال می‌باشد. همین امر منجر به پایداری حرارتی بیشتر ایزوله استخراجی به کمک کربن فعال می‌گردد. از طرفی، بدلیل حذف ناخالصی‌ها از ایزوله توسط کربن فعال، حلالیت پروتئین به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در همین راستا، در چند سال اخیر تمایل به نگهداری ترکیبات فنلی و حتی افزودن آنها به فورمولاسیون‌های غذایی بدلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنهاو مزایای آنها در پیشگیری از بیماری‌ها و تأخیر پیری افزایش یافته است.

۳-۲- رنگ

شاخص‌های رنگ هانترلب برای پروتئین استخراجی از دانه آفتابگردان و آرد آفتابگردان در جدول ۲ آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های مورد مطالعه وجود داشت. شاخص روشنایی (L) در آرد چربی‌گیری شده بیشتر از آرد چربی‌گیری نشده و فنول زدایی شده می‌باشد. ایزوله پروتئینی استخراجی توسط کربن فعال، شاخص روشنایی بسیار بیشتری را در مقایسه با سایرنمونه ها

11. Tukey test

نشان داد که بیانگر تأثیر کربن فعال در حذف ناخالصی‌های بیشتر و در نتیجه روشن‌تر شدن رنگ می‌باشد.

Table1 Physicochemical characteristics of sunflower flour and the protein extracted from sunflower meal

Sample	Moisture	Protein	Fat	Ash	Carbohydrate	Total phenol	AH	Protein solubility	T_m
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(mg/g)	(%)	(%)	℃
nD	6.22±0.29^{b}	31.371±0.062^{e}	49.12±0.05^{a}	4.23±0.61^{c}	9.33±0.41^{c}	10.25±0.53^{b}	6.8±0.6^{b}	-	-
D	10.39±1.22^{a}	59.682±0.123^{d}	1.01±0.20^{b}	8.62±0.54^{b}	21.24±0.72^{b}	18.43±0.31^{a}	31.0±1.2^{a}	-	-
DD	11.20±0.80^{a}	61.043±0.152^{c}	0.80±0.11^{b}	10.01±0.42^{a}	23.52±0.51^{a}	1.47±0.22^{c}	2.1±0.5^{c}	-	-
P	2.51±0.42^{c}	84.561±0.610^{b}	0.22±0.12^{c}	2.11±0.44^{d}	-	1.35±0.07^{c}	1.1±0.2^{cd}	82.2±0.3^{b}	81.82±0.81^{b}
PC	1.91±0.51^{c}	90.242±0.554^{a}	0.01±0.01^{c}	0.73±0.05^{e}	-	0.581±0.023^{d}	0.21±0.04^{d}	86.3±0.2^{a}	89.86±1.52^{a}

nD: non-Defatted flour; D: Defatted flour; DD: Defatted and Dephenolized flour; P: Protein (normal method); PC: Protein (activated carbon); AH: Antioxidant capacity; T_m: Denaturation temperature
Results are reported as mean±standard deviation. Different letters in each column shows significant difference at *p<0.05.*

Table 2 Hunterlab color parameters for sunflower flour and sunflower protein isolate

Color			Sample
b	*a*	*L*	
12.1±0.2^{d}	3.9±0.3^{c}	42.7±0.5^{d}	non-Defatted flour
10.2±0.4^{e}	-0.8±0.4^{d}	61.2±0.4^{b}	Defatted flour
15.4±0.3^{b}	5.2±0.2^{b}	41.6±0.5^{d}	Defatted and Dephenolized flour
21.1±0.4^{a}	9.9±0.4^{a}	49.2±0.6^{c}	Protein (normal method)
13.9±0.3^{c}	-0.5±0.1^{d}	87.6±0.3^{a}	Protein (activated carbon)

Results are reported as mean±standard deviation. Different letters in each column shows significant difference at *p<0.05.*

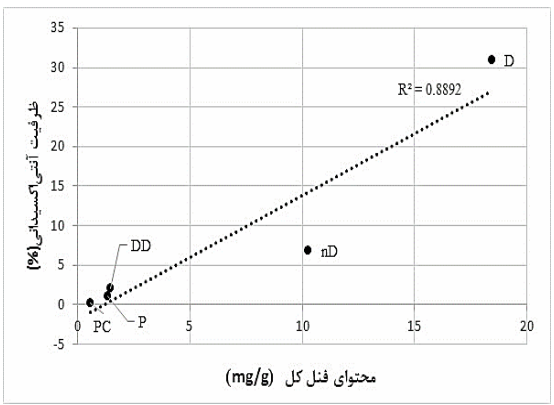


Fig 1 Linear correlation between antioxidant capacity (radical scavenging capacity of $ABTS^{+\cdot}$) and total phenol content of sunflower flour and sunflower protein isolate

۳-۳- خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ایزوله پروتئین وآرد آفتابگردان

امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به منظور پیشگیری از انواع سرطان‌ها و بیماری‌های مربوط به سن، توصیه می‌شود [۱۰]. ظرفیت مهار رادیکال $ABTS^{+\cdot}$ با مقدار ترکیبات فنلی محلول همبستگی مستقیم (R^2=۰/۸۹) داشته که در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که از شکل نیز معلوم است، نمونه‌های پروتئین آفتابگردان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتری را در مقایسه با نمونه‌های آرد آفتابگردان نشان می‌دهند. این یافته‌ها حاکی از آن می‌باشند که حضور ترکیبات فنلی (که بدلیل برهمکنش بسیار شدید خود با پروتئین‌ها قابل حذف نمی‌باشند) به نمونه‌های پروتئین آفتابگردان خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌بخشند.

۳-٤- دمای دناتوراسیون

فرآیند تغییر ماهیت از نقطه‌ای که منحنی ترموگرام شروع به انحراف از خط پایه می‌کند، آغاز می‌گردد. با توجه به اینکه مشخص کردن این دما مشکل می‌باشد، عرض از مبدأ شیب برون یابی شده نقطه پیک و خط پایه بعنوان شروع دمای تغییر ماهیت در نظر گرفته می‌شود. اما از آنجایی که بیوپلیمرهایی مانند پروتئین‌ها دامنه وسیعی از دماهای گذار حرارتی را نشان می‌دهند، دما در نقطه پیک، عموماً بعنوان دمای تغییر ماهیت معرفی می‌گردد [۱۷].با توجه به ترموگرام‌های DSCحاصله از نمونه‌های ایزوله پروتئینی استخراجی، محدوده دمایی تغییر ماهیت ایزوله پروتئین‌ها مشخص می‌گردد.سالگادو و همکاران (۲۰۱۱)[۱۰]،دمای تغییر ماهیت ایزوله پروتئینی آفتابگردان استخراجی توسط متانول را$۱۱۰/۷^{o}C$ گزارش کردند که مقدار بالای آن را در مقایسه با نتایج این مطالعه می‌توان به نوع واریته، روند استخراج پروتئین و فرآوری‌های مربوطه نسبت داد. بر اساس نتایج گونزالز-پیرز و همکاران [۹] نیز مقدار دمای تغییر ماهیت ایزوله پروتئین استخراجی^{o}C ۹۹/۷ گزارش شده است.

اشکال منومری هلیانتینین دارای دماهای تغییر ماهیت تقریبی ٦٥ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشند و آلبومین‌های آفتابگردان دارای دمای تغییر ماهیت بالای $۱۰۰^{o}C$ (تا $۱۱۸^{o}C$) می‌باشند [٤]. از آنجایی که گلوبولین‌ها بیشترین مقدار ایزوله پروتئینی آفتابگردان را به خود اختصاص می‌دهند، از این رو دمای تغییر ماهیت کل ایزوله پروتئینی نزدیک به دمای تغییر ماهیت گلوبولین‌ها خواهد بود.

بر اساس گزارش محققین [۱٥]، انتقال پروتئین از حالت طبیعی به یک حالت تغییر یافته بدلیل تخریب پیوندهای درون و بین مولکولی می‌باشد و به عوامل مختلفی بستگی دارد که در این مطالعه عامل دما و مدت زمان تماس دلیل این پدیده می‌باشند.

بر اساس نتایج وولف و تامورا (۱۹٦۹) [۱۹]،۱۱S گلوبولین‌ها در اثر حرارت به یک توده سریع رسوب و یک فراکسیون کُند رسوب تبدیل می‌گردند. بیشترین سرعت توده‌ای شدن در pH ٤ تا ٦ طی حرارت دهی دیده شده و ترکیب پیوندهای یونی و هیدروفوبی اساس تشکیل توده پیشنهاد گردیدند.تغییر ماهیت حرارتی همواره علی‌رغم pH و قدرت یونی، غیر قابل برگشت می‌باشد [۲۰].

تأثیر منفی دما بر پایداری ایزوله پروتئینی امری طبیعی است که در سایر مطالعات نیز به آن اشاره شده است [۱٦، ۲۱ و ۲۲] زیرا دماهای بالاتر، سست شدن و تخریب برهمکنش‌های بین و درون مولکولی را تسریع می‌کنند. پیک‌های اندوترمیک در ترموگرام‌های DSC، غالباً مربوط به تجزیه پیوندهای هیدروژنی می‌باشند. در مطالعه‌ای که بر روی پروتئین‌های گلوبولار یا کروی صورت گرفته بود، سهم پیوندهای هیدروژنی برای تمامی پروتئین‌ها یکسان بوده و تفاوت در دماهای تغییر ماهیت پروتئین‌ها بیشتر توسط برهمکنش‌های هیدروفوب غیرقطبی و نوعی مشارکت بین گروه‌های قطبی و غیر قطبی کنترل می‌گردد [۱٦].

افزایش پایداری ایزوله پروتئینی را تحت تأثیر کربن فعال می‌توان به حذف ناخالصی‌های اضافی ایزوله و تولید ایزوله‌ای با درجه خلوص نسبی بالا مربوط دانست، زیرا ناخالصی‌های موجود در پروتئین منجر به تجزیه، تجمع و برهمکنش در پروتئین می‌گردند [۲۳]. تیمار با کربن فعال نه تنها باعث تغییر ماهیت پروتئین نمی‌گردد [۱۳] بلکه بدلیل خالص‌تر کردن آن، پایداری را تا حدودی افزایش می‌دهد [۲٤]. بطوریکه نمونه‌های تیمار شده با کربن فعال در مقایسه با نمونه‌های تیمار نشده در دما و زمان یکسان، پایداری حرارتی بیشتری را نشان می‌دهند.

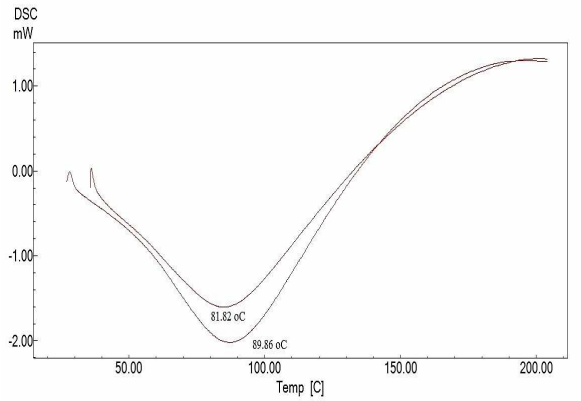
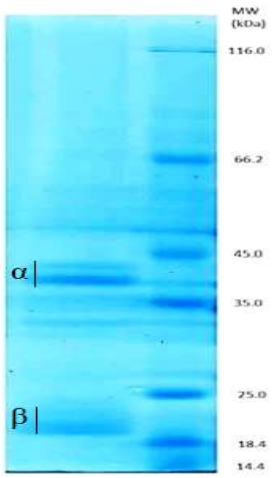


Fig 2 DSC thermograms for extracted sunflower protein isolates

۳-۵- الکتروفورز ایزوله پروتئین آفتابگردان

به منظور بررسی ترکیب پلی‌پپتیدی ایزوله پروتئینی استخراجی از آفتابگردان با استفاده از کربن فعال، در شرایط احیا کننده ژل گذاشته شد. نتیجه ژل مربوطه در شکل ۳ آورده شده است.بر اساس آنالیزهای انجام یافته توسط نرم افزار توتال لب، ۱۱ باند پروتئینی در ایزوله پروتئینی آفتابگردان شناسایی گردید که عمدتاً شامل ۱۱s گلوبولین‌ها با زیر واحدهای α و βمی‌باشد و بدلیل شرایط احیا کننده، تجمعات با وزن مولکولی بالا در آن دیده نمی‌شود. باندهای مربوط به ۲s آلبومین‌ها (وزن مولکولی بین ١٤ و ١٨ کیلودالتون) در ایزوله دیده نمی‌شود که احتمالاً بدلیل حلالیت بسیار بالای این پروتئین‌ها در آب و استخراج آن در طول مراحل حذف ترکیبات فنولی می‌باشد. حضور باندهای با وزن مولکولی بین ٣٥-٤٥kDa و ١٨/٤-٢٥kDa در ایزوله پروتئینی قابل توجه (دارای سطح زیر منحنی و درصد باند بیشتر) می‌باشند که به ترتیب متعلق به زیرواحدهای اسیدی (α) و بازی (β) می‌باشند. نتایج بدست آمده از این ژل تقریباً مشابه با کار گنزالز پرز و همکاران (۲۰۰۲) در مورد ایزوله پروتئین آفتابگردان می‌باشد.



۲

Fig 3 SDS-PAGE electrophoresis pattern for sunflower protein isolate under reducing conditions (ladder1: sunflower protein isolate, ladder 2: standard)

٤- نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آرد چربی‌گیری نشده، چربی‌گیری شده فنول زدایی شده و پروتیئن آفتابگردان با هم اختلاف معنی‌دار داشتند. عامل کربن فعال نیز که بعنوان عاملی موثر در خالص سازی پروتئین استفاده گردید، نه تنها تأثیری بر تغییر ماهیت ایزوله پروتئینی نداشت، بلکه بدلیل حذف ناخالص‌های احتمالی موجود، تا حدودی باعث پایداری بیشتر آن شد.

٥- منابع

[1] FAO. 2013. Faosta Tdata. Agriculture [Online]. Available: http://faostat.fao.org [Accessed 25 September 2013 2013].

[2] W.A. A. Organization.
West Azerbaijan Agricultural Organization [Online]. Available: http://waaj.ir/ [Accessed 21 May 2014.

[3] Badwalk, L., Prasad, K. and Deka, S. 2012. Optimization of extraction conditions by response surface methodology for preparing partially defatted peanut. International Food Research Journal 19(1), 341-346.

[4] Gonzalez-Perez, S. & Vereijken, J. M. 2007. Sunflower proteins: overview of their physicochemical, structural and functional properties. Journal of the Science of Food and Agriculture,87, 2173-2191.

[5] RAPHAEL, M., Rohani, S. & Sosulski, F. 1995. Isoelectric precipitation of sunflower protein in a tubular precipitator. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 73, 470-483.

[6] GHEYASUDDIN, S. 1970. Studies of the proteins and the polyphenols of sunflower seed (Helianthus annuus). Dissertation Abstracts International [Section] B: The Sciences & Engineering 31, 2451–2452.

[7] Perez, S. G., Vereijken, J. M., Vankoningsveld, G. A., Gruppen, H. & Voragen, A. G. J. 2005. Physicochemical Properties of 2S Albumins and the Corresponding Protein Isolate from Sunflower (Helianthus annuus). Journal of Food Science, 70, C98-C103.

[8] Schwenke, K. D. & Raab, B. 1973. Über Samenproteine 1. Mitt. Fraktionenverteilung der Proteine aus Sonnenblumensamen. Food / Nahrung, 17, 373-379.

[9] Gonzalez-Perez, S., Merck, K. B., Vereijken, J. M., Van Koningsveld, G. A., Gruppen, H. & Voragen, A. G. 2002. Isolation and characterization of undenatured chlorogenic acid free sunflower (Helianthus annuus) proteins. J Agric Food Chem, 50, 1713-1719.

[10] Salgado, P. R., Ortiz, S. E. M., Petruccelli, S. & Mauri, A. N. 2011. Sunflower protein concentrates and isolates prepared from oil cakes have high water solubility and antioxidant capacity. Journal of the American Oil Chemists' Society, 88, 351-360.[11] Shamanthaka Sastry, M. C. & Subramanian, N. 1984. Preliminary studies on processing of sunflower seed to obtain edible protein concentrates. Journal of the American Oil Chemists Society, 61, 1039-1042.

[12] Sen, M. & Bhattacharyya, D. 2000. Nutritional quality of sunflower seed protein fraction extracted with isopropanol. Plant Foods for Human Nutrition, 55, 265-278.

[13] CHEN, R. F. 1967. Removal of fatty acids from serum albumin by charcoal treatment. Journal of Biological Chemistry, 242, 173-181.

[14] Shawabkeh, R. A. & Abu-Nameh, E. S. M. 2007. Absorption of Phenol and Methylene Blue by Activated Carbon from Pecan Shells. Colloid Journal, 69, 355–359.

[15] Sandra Sanchez Del Angel, MARTÍNEZB, E. M. & LÓPEZ, M. A. V. 2003. Study of denaturation of corn proteins during storage using differential scanning calorimetry. Food Chemistry, 83, 531–540.

[16] Arntfield, S. D. & Murray, E. D. 1981. The Influence of Processing Parameters on Food Protein Functionality I. Differential Scanning Calorimetry as an Indicator of Protein Denaturation. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal, 14, 289-294.

[17] Koshiyama, I., Hamano, M. & FUKUSHIMA, D. 1980-81. A Heat Denaturation Studu Of The 11S Globulin In Soybean Seeds. Food Chemistry 6 (1980-81) 6, 309-322.

[18] Pickardt, C., Hager, T., Eisner, P., Carle, R. & Kammerer, D. 2011. Isoelectric protein precipitation from mild-acidic extracts of de-oiled sunflower (Helianthus annuus L.) press cake. European Food Research and Technology, 233, 31-44.

[19] Wolf, W. J. & Tamura, T. 1969. Heat denaturation of soybean 11S protein. Cereal Chemistry, 46, 331-344.

[20] Giancola, C., De Sena, C., Fessas, D., Graziano, G. & Barone, G. 1997. DSC studies on bovine serum albumin denaturation Effects of ionic strength and SDS concentration. International Journal of Biological Macromolecules, 20, 193-204.

[21] Graziano, G., Catanzano, F. & Barone, G. 1998. Prediction of the heat capacity change on thermal denaturation of globular proteins. Thermochimica Acta, 321, 23-31.

[22] Tan, S. H., Mailer, R. J., Blanchrad, C. L. & Agboola, S. O. 2011. Canola Proteins for Human Consumption: Extraction, Profile, and Functional Properties. Journal of Food Science, 76, R16-R28.

[23] WANG, W., IGNATIUS, A. A. & Thakkar, S. V. 2014. Impact of Residual Impurities and Contaminants on Protein Stability. Journal of Pharmaceutical Sciences, 103, 1315-1330.

[24] Noritomi, H., Kai, R., Iwai, D., Tanaka, H., Kamiya, R., Tanaka, M., Muneki, K. & Kato, S. 2011. Increase in thermal stability of proteins adsorbed on biomass charcoal powder prepared from plant biomass wastes. Journal of Biomedical Science and Engineering, 4, 692-698.

Study of the physiochemical properties of sunflower protein isolate and sunflower flour under different conditions of extraction

Mehryar, L. [1], Esmaiili, M. [2*], Imani, M. [3], Zeynali, F. [4], Sadeghi, R. [5]

1. Ph.D student of Food Technology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia-Iran
2. Associate professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia-Iran
3. Assistant professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia-Iran
4. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia-Iran
5. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Kermanshah Branch, Kermanshah, Iran

(Received: 2015/10/01 Accepted: 2016/06/25)

Applying very high temperatures (up to 140oC) during the defatting process in food processing, causes sunflower proteins undergo heat denaturation, low solubility and undesirable changes in functional properties. In this research, the physicochemical properties of sunflower flour and sunflower protein isolate under normal conditions and by using of activated carbon were evaluated. The amount of moisture, protein, fat, ash, carbohydrates, total phenol content and antioxidant capacity, protein solubility in water, gel electrophoresis, denaturation temperature and color were evaluated. All the studied samples were significantly ($P<0.05$) different in the mentioned parameters. The obtained results showed that the studied parameters for sunflower flour and protein isolate were including moisture content (1.9-11 %), protein content (31.37-90.24 %) , fat content (0.01-49.1 %) ash content, (0.7-10 %), carbohydrates content (9.3-23.5 %), total phenol content (0.581-18.43 mg/g), antioxidant capacity (0.2-31 %), protein solubility (82.2-86.3%), denaturation temperature (81.82-89.86 oC), lightness (L) (41.6-87.6), a (-0.8)-9.9) and b (10.2-21.1). Protein isolate samples showed lower amounts of moisture, fat, ash, total phenol content, antioxidant capacity and higher protein content compared to flour samples. The obtained protein samples treated with activated carbon also showed lower moisture, fat, ash, and phenol content, antioxidant capacity and higher protein content, protein solubility, denaturation temperature and lightness values compared to the other protein samples

Keywords: Sunflower protein isolate, Physicochemical properties, Denaturation temperature, SDS-PAGE

* Corresponding Author E-Mail Address: m.esmaiili@urmia.ac.ir