



بررسی ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن ایزوله‌ی پروتئین شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) استخراج شده به روش قلیایی

کیمیا صهبا^۱، نفیسه زمین دار^{۲*}

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی؛ دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمنداها؛ واحد اصفهان (خوراسگان)؛ دانشگاه آزاد اسلامی؛ اصفهان؛ ایران
- ۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی؛ دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمنداها؛ واحد اصفهان (خوراسگان)؛ دانشگاه آزاد اسلامی؛ اصفهان؛ ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

پروتئین‌ها هم در حفظ زندگی انسان و هم در محصولات غذایی نقش اساسی دارند و علاوه بر نقش مهمی که در سلامت و تغذیه دارند، دارای خواص عملکردی فراوانی هستند. پروتئین شاهدانه به عنوان منبع پروتئین گیاهی با ارزش غذایی عالی و خواص تکنولوژیکی- عملکردی متنوع شناخته می‌شود. حفظ تازگی و ظرفیت جذب روغن از عوامل کلیدی در کیفیت بسیاری از غذاها است. در این پژوهش تاثیر روش استخراج قلیایی بر پروتئین شاهدانه با استفاده از روش سطح پاسخ ارزیابی شد. اثر پارامترهای مستقل pH قلیایی (۱۰، ۱۱/۵، ۸/۵)، نسبت جامد به حلال (۱:۲۰، ۱:۱۵، ۱:۱۰)، pH ایزوالکتریک (۴، ۴/۵، ۵) و دمای سانتریفیوژ کردن (۴، ۱۴، ۲۴°C) بر پارامترهای ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدانه بررسی شد. بیشترین جذب آب و روغن در شرایط pH قلیایی (۱۱/۵)، نسبت جامد به حلال (۱:۱۲)، pH ایزوالکتریک (۴) و دمای سانتریفیوژ (۴ °C) به ترتیب با مقدار ۲/۹۸۵ و ۶/۰۳۶ (گرم/گرم) با مطلوبیت ۹۸٪ ملاحظه شد. تفاوت معنی داری بین داده های تجربی و پیش بینی شده با استفاده از آزمون student. مشاهده نشد ($p > 0.05$) که نشانه کاربردی بودن این شرایط بهینه برای صنایع غذایی است.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۸

تاریخ داوری: ۱۴۰۳/۱۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۹

کلمات کلیدی:

ظرفیت جذب روغن،
ظرفیت نگهداری آب،
ایزوله پروتئین شاهدانه،
استخراج قلیایی.

DOI: 10.48311/fsct.2026.83877.0

* مسئول مکاتبات:

n.zamindar@iau.ac.ir

۱-مقدمه

رژیم‌های غذایی حاوی پروتئین گیاهی به دلایل متعددی از جمله اثرات زیست محیطی، پرهزینه بودن تولید پروتئین حیوانی و افزایش گیاه‌خواری در حال افزایش هستند. استفاده از پروتئین‌های گیاهی مقرون به صرفه، پایدار و سازگار با محیط زیست است [۱]. پروتئین‌های گیاهی از نظر تغذیه و خواص عملکردی به منظور برآوردن خواسته‌های مصرف کنندگان با ترجیحات مختلف قومی، مذهبی، غذایی و اخلاقی نسبت به پروتئین‌های حیوانی و مصرف محصولات حیوانی برتری دارند. پروتئین‌های که از دانه‌های روغنی، غلات، ضایعات حبوبات و محصولات جانبی استخراج می‌شوند از نظراقتصادی جذاب، پایدار و جایگزین‌های تجدید پذیر برای پروتئین‌های حیوانی هستند [۲]. مواد تشکیل دهنده پروتئین‌های گیاهی نقش‌های عملکردی خاصی را در برنامه‌های غذایی ایفا می‌کنند [۳]. ویژگی‌های کاربردی مورد نظر در موارد مختلف متفاوت است به عنوان مثال ویژگی‌های عملکردی مهم برای تولید گوشت گیاهی با بافتی مطلوب شامل حلالیت، ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن است. از جمله ویژگی‌های اصلی عملکردی فعل و انفعالات پروتئین-آب و ظرفیت نگهداری آب و پروتئین-روغن و ظرفیت جذب روغن هستند [۴]. شاهدانه متعلق به خانواده گیاه *Cannabaceae* است و به دلیل ارزش غذایی آن در صنایع غذایی و دارویی نیز استفاده می‌شده است. شاهدانه‌ی صنعتی (*Cannabis sativa*.L) یک گیاه علفی یک ساله است که دارای روغن، پروتئین، کربوهیدرات، فیبرهای نامحلول، ویتامین‌ها و موادمعدنی مغذی است. به طور خاص پروتئین‌های شاهدانه به دلیل ارزش غذایی عالی و خواص تکنولوژیکی-عملکردی متنوع توجه قابل ملاحظه‌ای را در زمینه‌های علمی و صنعتی به خود جلب کرده است [۵]. پروتئین‌های شاهدانه به عنوان منبع پروتئینی خوب با اسیدهای آمینه ضروری مناسب و قابلیت هضم عالی شناخته می‌شوند. بنابراین درک عمیقی برای بهبود خواص عملکردی پروتئین شاهدانه با هدف گسترش استفاده از آن به عنوان مواد غذایی با ارزش در

صنایع غذایی مورد نیاز است [۶]. ظرفیت نگهداری آب (*Water Holding Capacity*) توانایی پروتئین‌ها را برای به دام انداختن و حفظ مولکول‌های آب در ماتریکس خود در برابر گرانش توصیف می‌کند [۷]. توانایی یک پروتئین برای تعامل با آب برای تسهیل حل شدن است و توانایی تعامل و به دام انداختن آب برای کاربرد پروتئین‌ها بسیار مهم است. زیرا سایر ویژگی‌های عملکردی مانند امولسیون و ژل شدن اغلب نیاز به حل شدن پروتئین در آب دارند [۶، ۸، ۹]. ظرفیت نگهداری آب در کاربردهای غذایی با رطوبت کم تا متوسط مهم است زیرا از دست دادن آب می‌تواند منجر به چسبندگی، خشک یا شکنندگی محصول شود [۱۰]. به دام انداختن آب در ماتریکس پروتئین احساس دهانی را بهبود می‌بخشد، تازگی را حفظ می‌کند و از دست دادن رطوبت نامطلوب در یک محصول غذایی را به حداقل می‌رساند [۶ و ۷]. ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدانه تا حد زیادی ناشناخته است و عملکرد آن به شدت تحت تأثیر ساختار پروتئین قرار می‌گیرد. ظرفیت جذب روغن *Fat Absorption Capacity*) اتصال روغن توسط بخش غیر قطبی پروتئین را اندازه‌گیری می‌کند [۱۱]. هدف از این مطالعه بهینه‌سازی ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن ایزوله‌های پروتئین شاهدانه (*Hemp Protein Isolates*) بود. از آنجایی که پروتئین شاهدانه در ابتدا یک محصول ثانویه در نظر گرفته می‌شد. روش‌های استخراج یا کیفیت پروتئین را در نظر نمی‌گرفتند و اغلب مراحل فراوری مورد استفاده برای کیفیت پروتئین مضر بودند. همچنین شاهدانه بیشتر برای تولید الیاف یا روغن به عنوان یک محصول مشترک کم ارزش بوده و پروتئین‌های آن با کیفیت بالا بهینه نشده‌اند و در نتیجه پتانسیل شاهدانه صنعتی توسعه نیافته باقی مانده است. در این پژوهش برای برجسته کردن نقش نویدبخش و نوظهور پروتئین شاهدانه به عنوان منبع ارزشمند برای صنایع غذایی ویژگی‌های عملکردی جذب آب و روغن پروتئین بهینه‌سازی شد.

۲- مواد و روش‌ها

و برای مطالعه بیش تر در فریزر (40°C -) نگهداری شد [۱۲ و ۱۳].

۲-۲- تعیین ظرفیت نگهداری آب

برای اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب، ۱ میلی لیتر آب مقطر به $0/1$ گرم از ایزوله‌ی پروتئین نمونه درلوله‌های سانتریفیوژ از قبل وزن شده اضافه شد. سوسپانسیون به دست آمده به مدت ۲ دقیقه با سرعت بالا با ورتکس همگن شد و ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفت. در نهایت با سرعت 3000g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی جداسازی شد و لوله‌ها دوباره وزن شدند. ظرفیت نگهداری آب مطابق معادله (۱) تعیین شد و به عنوان گرم آب متصل به یک گرم از نمونه پروتئین بیان شد [۱۴، ۱۵ و ۱۶].

معادله (۱)

$$\text{WHC} = (W_2 - W_1) / W_1$$

که در آن W_1 وزن (گرم) نمونه خشک و W_2 وزن (گرم) رسوب ژل مانند به دست آمده (خمیر هیدراته) است.

۲-۳- تعیین ظرفیت جذب روغن

ظرفیت جذب روغن به عنوان مقدار روغن قابل جذب در هر گرم پروتئین آزمایش شده تعریف می‌شود [۱۱]. برای اندازه‌گیری ظرفیت جذب چربی ۱ میلی لیتر روغن ذرت به $0/1$ گرم از ایزوله‌ی پروتئین نمونه درلوله‌های سانتریفیوژ از قبل وزن شده اضافه شد. سوسپانسیون‌های به دست آمده به مدت ۲ دقیقه با سرعت 3000 (rpm) با شیکر همگن شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفتند با سرعت 3000 به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی (روغن) جداسازی شد و لوله‌ها دوباره وزن شد. ظرفیت جذب روغن مطابق معادله (۲) به عنوان گرم روغن متصل به یک گرم از نمونه پروتئین بیان شد [۱۴، ۱۵ و ۱۶].

معادله (۲)

$$\text{FAC} = (W_2 - W_1) / W_1$$

نمونه‌های شاهدانه با پوست از مرکز تحقیقاتی جهاد کشاورزی اصفهان تهیه و تا زمان اجرای آزمایش در یخچال (4°C -) نگهداری شد. دانه‌های شاهدانه تمیز و عاری از ناخالصی اعم از کاه، کلشت و سنگ شد و با پوست به وسیله آسیاب خانگی پودر و با الک با مش 40 میکرومتر الک شد. سپس پودر شاهدانه با نسبت مشخص (۴:۱) با هگزان چربی زدایی و زیر هود در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت در جریان هوا خشک شد. آرد شاهدانه بدون چربی مخلوط و الک شدند تا همگن شوند. تمام آرد شاهدانه خشک و بدون چربی در دمای (4°C) برای استخراج پروتئین نگهداری شد [۱۲].

۲-۱- استخراج ایزوله‌های پروتئین شاهدانه

پودر شاهدانه آسیاب شده بدون چربی با استفاده از یک غربال آزمایشگاه مجهز به الک با اندازه مش با اندازه ذرات مختلف جدا شد. ماده خام برای استخراج و جداسازی پروتئین استفاده شد و برای تهیه تمام محلول‌های مورد استفاده در کار آزمایشی از آب مقطر دی یونیزه استفاده شد. پودر شاهدانه بدون چربی در آب مقطر با نسبت جامد به حلال (w/v) مطابق جدول (۱) مخلوط شد و pH با افزودن سود $1/10$ مولار (M) تحت هم زدن مداوم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط در بازه pH قلیایی مطابق جدول (۱) تنظیم شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در محدوده دما با توجه به جدول (۱) با سرعت 9000 دور بر دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع آوری شد، pH ایزوالکتریک آن با هیدروکلریک اسید 1 مولار (M) مطابق با جدول (۱) تنظیم شد و سپس سوسپانسیون مجدداً با سرعت 9000 (rpm) سانتریفیوژ شد تا رسوب پروتئین تسهیل شود. رسوب پروتئین جمع آوری شد و مجدداً در آب مقطر پخش و حل شد و با استفاده از سود $0/1$ مولار pH روی (۷-۸/۶) تنظیم شد. سوسپانسیون به مدت ۲۴ ساعت در خشک‌کن انجمادی خشک و تمام ایزوله‌ی پروتئین خشک و تهیه شده در کیسه‌های پلاستیکی ذخیره

محوری انجام شد. مقادیر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدانه در بهینه سازی حداکثر فرض شدند و پیش بینی مدل با مقادیر آزمایش شده به وسیله‌ی آزمون *t*. student در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شد. درصد خطا مقادیر پیش بینی شده و مقادیر بدست آمده مطابق معادله (۳) بدست آمد.

(۳)

معادله

$$100 * \left| \frac{\text{مقدار پیشنهادی} - \text{مقدار واقعی}}{\text{مقدار واقعی}} \right| = \text{درصد خطا}$$

۴- نتایج و بحث

که در آن W_1 نشان دهنده وزن اولیه (گرم) و W_2 نشان دهنده وزن نهایی (گرم) پس از دور ریختن مایع رویی است.

۳- تجزیه و تحلیل داده ها

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده طرح مرکب مرکزی (CCD) و توسط نرم افزار (Design, 11 version) Expert انجام شد. تاثیر پارامترهای مستقل pH قلیایی (۱/۵، ۱۰، ۸/۵)، نسبت جامد به حلال (۱:۱۰، ۱:۱۵، ۱:۲۰)، pH ایزوالکتریک (۵، ۴/۵، ۴)، دمای سانتریفیوژ کردن (۲۴، ۱۴، ۴) مطابق جدول (۲) بر پارامترهای ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن ایزوله پروتئین شاهدانه مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفت. طرح آزمایش در ۳۹ اجرا و ۷ تکرار در نقطه مرکزی و ۲ تکرار در نقاط

Table 1. Experimental design of independent and response variables

Treatment number	Solid to solvent ratio(g/ml)	Isoelectric pH	Alkaline pH	Centrifuge Temperature(°C)	Water holding capacity(g/g)	Fat absorption capacity(g/g)
1	15	4.5	10	14	2.3	5.3
2	10	4	8.5	24	1.6	5.5
3	10	4	11.5	24	2	5.3
4	15	4.5	10	14	2.3	5.3
5	10	5	11.5	4	2.5	5.5
6	15	4.5	8.5	14	2.6	5
7	20	4	11.5	24	1.4	5
8	20	4	8.5	4	2	5.2
9	15	4.5	10	14	2.3	5.3
10	20	4	8.5	24	1.8	5.5
11	15	4	10	14	2.2	5.4
12	15	5	10	14	2	5.9
13	15	4.5	10	14	2.3	5.4
14	20	4.5	10	14	2.3	4.9
15	20	5	8.5	24	3	5.7
16	15	4.5	10	4	2.1	5.4
17	20	5	11.5	24	2.6	6.3
18	15	4.5	11.5	14	3.4	4.9
19	10	5	11.5	24	1.5	6
20	15	4.5	11.5	14	3.4	4.9
21	10	4.5	10	14	1.8	5

22	15	4.5	10	14	2.3	5.3
23	15	4.5	10	4	2.2	5.3
24	15	4.5	10	24	1.5	5.8
25	10	4.5	10	14	1.8	5
26	10	5	8.5	4	0.7	5.4
27	10	5	8.5	24	1	5.1
28	20	5	11.5	4	3.3	5.3
29	15	5	10	14	2	5.9
30	15	4.5	8.5	14	2.6	5
31	15	4.5	10	14	2.3	5.4
32	15	4	10	14	2.2	5.4
33	15	4.5	10	14	2.2	5.3
34	20	4.5	10	14	2.3	4.9
35	10	4	8.5	4	2.1	5.6
36	20	4	11.5	4	3	4
37	20	5	8.5	4	2.3	5.4
38	10	4	11.5	4	4	4.8
39	15	4.5	10	24	1.5	5.8

Table 2. Independent variable ranges for hemp protein extraction

Factor	Name	Units	Minimum	Maximum	Coded Low	Coded High	Mean	Std. Dev.
A	Solid/Solvent	g/ml	10.00	20.00	-1 ↔ 10.00	+1 ↔ 20.00	15.00	3.63
B	Isoelectric pH		4.00	5.00	-1 ↔ 4.00	+1 ↔ 5.00	4.50	0.3627
C	Alkaline pH		8.50	11.50	-1 ↔ 8.50	+1 ↔ 11.50	10.00	1.09
D	Centrifuge temperature	Degree of celsius	4.00	24.00	-1 ↔ 4.00	+1 ↔ 24.00	14.00	7.25

Table 3. ANOVA of the quadratic model of the water holding capacity of hemp protein

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	16.04	13	1.23	1046.97	< 0.0001 significant
A-Solid/Solvent	1.25	1	1.25	1060.69	< 0.0001
B-Isoelectric pH	0.0980	1	0.0980	83.16	< 0.0001

C-Alkaline pH	2.74	1	2.74	2323.33	< 0.0001
D-Centrifuge temperature	1.98	1	1.98	1683.95	< 0.0001
AB	3.06	1	3.06	2598.69	< 0.0001
AC	0.7225	1	0.7225	613.08	< 0.0001
AD	0.1225	1	0.1225	103.95	< 0.0001
BD	0.8100	1	0.8100	687.33	< 0.0001
CD	1.96	1	1.96	1663.16	< 0.0001
A ²	0.2442	1	0.2442	207.21	< 0.0001
B ²	0.1455	1	0.1455	123.46	< 0.0001
C ²	2.71	1	2.71	2303.13	< 0.0001
D ²	1.00	1	1.00	850.91	< 0.0001
Residual	0.0295	25	0.0012		
Lack of Fit	0.0159	11	0.0014	1.49	0.2381 not significant
Pure Error	0.0136	14	0.0010		
Cor Total	16.07	38			
Std. Dev.	0.0343				
Mean	2.22				
C.V. %	1.54				
R ²	0.9982				
Adjusted R ²	0.9972				
Predicted R ²	0.9954				
Adeq Precision	161.9018				

Table 4. ANOVA of the quadratic model of the fat absorption capacity of hemp protein

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	6.16	13	0.4740	214.71	< 0.0001 significant
A-Solid/Solvent	0.0500	1	0.0500	22.65	< 0.0001
B-Isoelectric pH	1.15	1	1.15	521.80	< 0.0001
C-Alkaline pH	0.0980	1	0.0980	44.39	< 0.0001
D-Centrifuge temperature	0.8405	1	0.8405	380.70	< 0.0001
AB	0.3025	1	0.3025	137.02	< 0.0001
AC	0.0900	1	0.0900	40.77	< 0.0001
AD	0.2500	1	0.2500	113.24	< 0.0001
BC	1.10	1	1.10	499.38	< 0.0001
CD	0.4900	1	0.4900	221.94	< 0.0001
A ²	0.5129	1	0.5129	232.31	< 0.0001
B ²	0.7428	1	0.7428	336.47	< 0.0001
C ²	0.5129	1	0.5129	232.31	< 0.0001
D ²	0.4800	1	0.4800	217.41	< 0.0001
Residual	0.0552	25	0.0022		
Lack of Fit	0.0359	11	0.0033	2.37	0.0655 not significant

Pure Error	0.0193 14	0.0014
Cor Total	6.22 38	
Std. Dev.	0.0470	
Mean	5.32	
C.V. %	0.8836	
R ²	0.9911	
Adjusted R ²	0.9865	
Predicted R ²	0.9781	
Adeq Precision	81.3445	

با توجه به جدول (۳) و شکل‌های (۱a-d) تاثیر متقابل متغیرهای مستقل نسبت جامد به حلال × pH ایزوالکتریک، نسبت جامد به حلال × pH قلیایی، نسبت جامد به حلال × دمای سانتیگراد، pH ایزوالکتریک × دمای سانتیگراد، pH قلیایی × دمای سانتیگراد اثر معنی داری بر ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدهند داشت ($p \leq 0.0001$). نسبت جامد به حلال به عنوان یک متغیر مستقل مهم نه تنها بر میزان استخراج پروتئین اثر دارد بلکه در تعامل با سایر متغیرها نظیر pH و دما، بر ساختار و برهم کنش‌های مولکولی پروتئین نیز تأثیرگذار است. با توجه به شکل‌های (۱a-d) نسبت‌های بالاتر جامد به حلال (۱:۲۰) می‌توانند موجب افزایش تراکم پروتئین و تشدید برهم کنش‌های هیدروفوب یا تجمعات غیرقابل انحلال شوند در حالی که نسبت‌های پایین‌تر (۱:۱۰) منجر به رقیق شدن، تسهیل در انحلال و استخراج می‌گردند.

شکل ۱a اثر متقابل نسبت جامد به حلال با pH قلیایی را مشخص می‌کند. pH قلیایی بالا ساختار پروتئین را باز کرده، گروه‌های هیدروفیل بیشتر در معرض قرار می‌گیرند. pH قلیایی بالا (۱۱.۵) باعث باز شدن ساختار سوم و چهارم پروتئین شده، گروه‌های قطبی بیشتری در معرض آب قرار می‌گیرند. در ترکیب با نسبت‌های میانه (۱:۱۵ یا ۱:۱۷)، ویسکوزیته‌ی مناسب ایجاد شده و امکان نگهداری آب بدون تجمع زیاد فراهم می‌شود. نسبت‌های پایین (رقیق‌تر) در pH قلیایی پایین‌تر بازده کمتری دارند زیرا احتمال ساختارهای ناپایدار بیشتر است.

بر اساس نتایج آنالیز واریانس تأثیر متغیرهای وابسته بر ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدهند که در جدول (۳) و (۴) نشان داده شده است مقدار (p-value) برای مدل درجه دوم با ضریب تبیین (R^2) ۰.۹۹ کمتر از ۰/۰۰۰۱ حاکی از بسیار معنی دار بودن مدل است. مقدار (p-value) برای عدم برازش این مدل بیش تر از ۰/۰۵ بود که بیانگر آن است که عدم برازش آن نیز معنی دار نیست و مدل داده‌ها را برازش می‌کند. ضریب تبیین تعدیل شده (R^2_{adj}) و پیش‌بینی شده (R^2_{pre}) به ترتیب برابر ۰/۹۹۷۲ و ۰/۹۹۵۴ برای ظرفیت نگهداری آب و ۰/۹۸۶۵ و ۰/۹۷۸۱ برای ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدهند بود. هرچقدر ضرایب تبیین به ۱ نزدیک‌تر باشد نشان‌دهنده دقت بیشتر مدل است و هرچه ضریب تبیین تعدیل شده و پیش‌بینی شده به هم نزدیک‌تر باشند، توانایی مدل در تعمیم‌پذیری و پیش‌بینی داده‌های جدید بالاتر است. مقدار Adequate Precision بسیار بالاتر از مقدار مطلوب و برابر ۱۶۱/۹۰۱۸ و ۸۱/۳۴۴۵ برای ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن بود. این پارامتر بیانگر کارایی مدل برای پیش‌بینی پاسخ است. ضریب تغییرات (C.V. %) نیز با مقادیر پایین ۱/۵۴ و ۰/۸۸۳۶ پراکندگی کم و همگنی بیشتر داده‌ها نشان می‌دهد.

۴-۱- بهینه سازی ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدهند

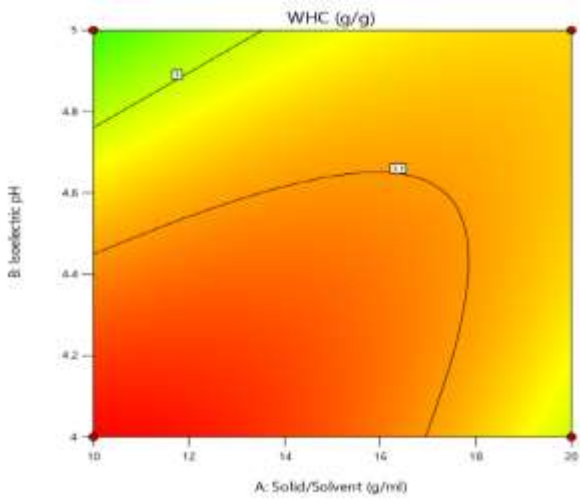
شکل ۱c اثر متقابل نسبت جامد به حلال با دمای سانتیفریوژ دیده می‌شود. دمای پایین‌تر باعث بهبود (WHC) می‌شود. در دمای پایین (۴°C)، ساختار پروتئینی حفظ می‌شود و از تخریب ماتریکس متورم‌شده جلوگیری می‌گردد. نسبت رقیق (۱:۲۰) در این دما باعث نگهداری یکنواخت‌تر آب در سراسر نمونه می‌شود. در دمای بالا آب به دلیل افزایش تحرک مولکولی آزاد شده و (WHC) کاهش می‌یابد به خصوص در نسبت‌های غلیظ‌تر که فضای ماتریکسی محدودتر است.

شکل ۱d اثر متقابل pH ایزوالکتریک و دمای سانتیفریوژ بر (WHC) پروتئین را نشان می‌دهد؛ به طوری که بیشترین (WHC) در pH های نزدیک به ۴ و دماهای پایین مشاهده می‌شود. (WHC) پروتئین‌ها در pHهایی که دورتر از pH ایزوالکتریک آن‌ها قرار دارند، افزایش می‌یابد. دلیل این امر، افزایش بار خالص روی مولکول‌های پروتئین است که منجر به دافعه الکترواستاتیک

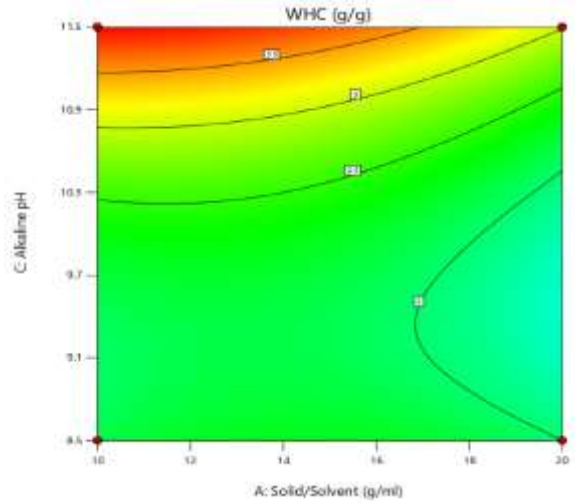
شکل ۱b اثر متقابل نسبت جامد به حلال و pH ایزوالکتریک بر (WHC) پروتئین را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از آن است که با کاهش نسبت جامد به حلال یعنی افزایش رقت سوسپانسیون مثلاً از (۱:۱۰ به ۱:۱۵) و افزایش pH ایزوالکتریک از ۴/۵ به ۵، (WHC) به طور معناداری کاهش می‌یابد. کاهش تجمع پروتئین در سیستم‌های رقیق‌تر باعث کاهش توانایی پروتئین در ایجاد شبکه‌های متقاطع می‌شود در نتیجه فضای داخلی ماتریکس محدود می‌گردد و (WHC) کاهش می‌یابد. در مقابل در نزدیکی نقطه ایزوالکتریک، بار خالص پروتئین‌ها نزدیک به صفر شده و دافعه الکترواستاتیک به حداقل می‌رسد؛ این امر تجمع پروتئین‌ها را تسهیل کرده و فضای در دسترس برای نگهداری آب را کاهش می‌دهد. بنابراین بالاترین ظرفیت نگهداری آب در شرایطی حاصل می‌شود که نسبت جامد به حلال رقیق‌تر باشد و pH به طور قابل توجهی از نقطه ایزوالکتریک فاصله داشته باشد که این یافته‌ها کاملاً با اصول شناخته شده فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها به ویژه حداقل حلالیت و ظرفیت نگهداری آب در نزدیکی نقطه ایزوالکتریک همخوانی دارد.

قوی‌ترین آن‌ها می‌شود؛ این دافعه از تجمع پروتئین‌ها جلوگیری کرده و ساختار شبکه‌ای بازتری ایجاد می‌کند که قادر به احتباس مقدار بیشتری آب است، در حالی که در نزدیکی pH ایزوالکتریک، بار خالص پروتئین‌ها به حداقل رسیده، دافعه کاهش یافته و تمایل به تجمع افزایش می‌یابد که WHC را پایین می‌آورد. این الگو کاملاً با اصول فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها در مورد حداقل حلالیت و WHC در نزدیکی نقطه ایزوالکتریک و تأثیر دما بر تعاملات پروتئین-آب همخوانی دارد.

شکل ۱e اثر متقابل pH قلیایی با دمای سانتیفریوژ را نشان می‌دهد. در pH قلیایی و دمای بالا، دناتوره شدن ساختار پروتئین (WHC) افزایش می‌یابد. pH قلیایی بالا موجب باز شدن ساختار پروتئین و آزادسازی گروه‌های هیدروفیل می‌شود. اگر این شرایط با دمای پایین همراه شود، بازآرایی ثانویه پروتئین مهار می‌گردد و آب بهتر نگهداری می‌شود. در دمای بالا (۲۴°C) حتی با pH بالا، بخشی از این اثر از بین می‌رود و (WHC) کاهش می‌یابد.

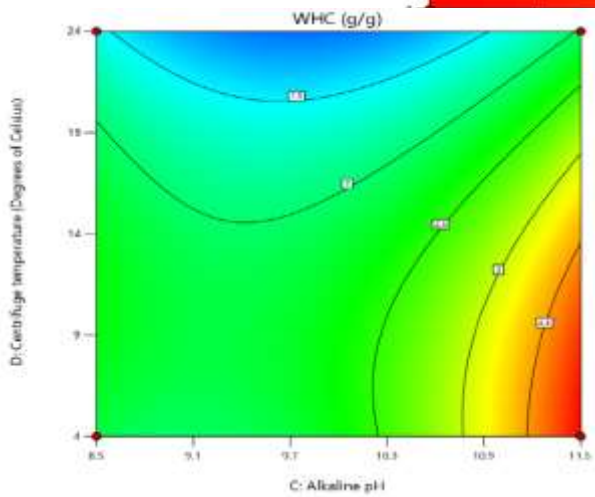
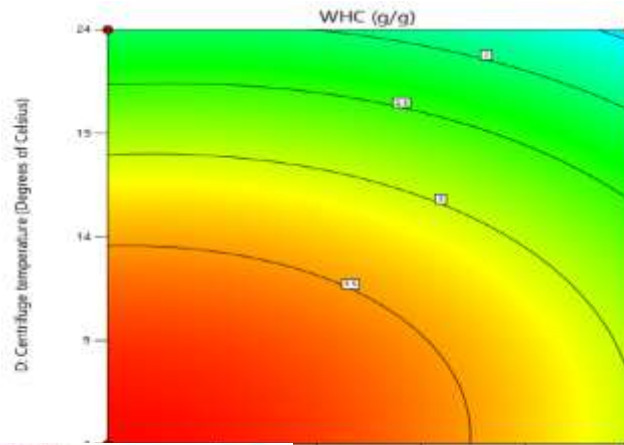


(b)

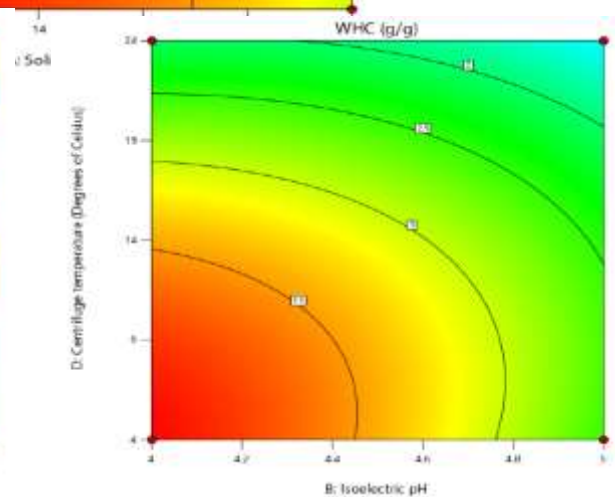


(a)

(c)



(e)



(d)

Fig 1. Two-dimensional contour diagrams a) The interaction effect of solid to solvent ratio and alkaline pH, b) The interaction effect of solid to solvent ratio and isoelectric pH, c) The interaction effect of solid to solvent ratio and centrifuge temperature, d) The interaction effect of isoelectric pH and centrifuge temperature, e) The interaction effect of alkaline pH and centrifuge temperature on water holding capacity of hemp protein

نیز مشخص شد که در نسبت‌های بالاتر (غلظت بیشتر)، افزایش دما منجر به کاهش FAC می‌شود در حالی که در نسبت‌های پایین‌تر، افزایش دما با افزایش تحرک مولکولی و دناتوره شدن جزئی پروتئین، جذب روغن را افزایش می‌دهد. شکل ۲a اثر متقابل نسبت جامد به حلال با pH ایزوالکتریک ملاحظه می‌شود. جذب روغن در pH ایزوالکتریک بالاتر بیشتر است. در نسبت‌های پایین جامد به حلال (رقیق‌تر)، شرایط برای رسوب‌گذاری مؤثر پروتئین در pH ایزوالکتریک بهبود می‌یابد. در این حالت ساختار پروتئین متورم‌تر و گسترده‌تر شده و گروه‌های آب‌گریز بیشتری در معرض تماس با روغن قرار می‌گیرند در نتیجه ظرفیت جذب روغن افزایش می‌یابد. در مقابل در نسبت‌های غلیظ‌تر (۱۰:۱)، به دلیل تراکم بالای پروتئین، تجمعات پروتئینی فشرده شکل می‌گیرند که ممکن است تماس سطحی با فاز روغنی را کاهش داده و FAC را محدود کنند. وقتی نسبت جامد به حلال در pH ایزوالکتریک بالا باشد، تجمع شدید پروتئین‌ها باعث می‌شود بخش بزرگی از گروه‌های هیدروفوب در دسترس روغن قرار نگیرند. در حالی که در نسبت‌های پایین، سطح تماس افزایش یافته و توانایی اتصال روغن بیشتر می‌شود.

شکل ۲b اثر متقابل نسبت جامد به حلال با pH قلیایی به چشم می‌خورد. pH قلیایی بالا ساختار پروتئین را باز کرده و گروه‌های هیدروفوب در معرض روغن قرار می‌گیرند. pH قلیایی بالا (۱۱/۵) باعث دناتوره شدن و باز شدن ساختار پروتئین می‌شود. این بازشدگی در نسبت‌های میانه (۱۰:۱۵-۱۱:۱۷) بسیار موثرتر است چون چگالی مناسب محیط امکان برقراری تماس مناسب بین گروه‌های غیرقطبی پروتئین و روغن را فراهم می‌سازد. در نسبت‌های پایین‌تر از ۱۰:۱۵ (رقیق‌تر)، هرچند دناتوره شدن بهتر رخ می‌دهد اما

با ارجاع به آنچه بیان شد، ظرفیت نگهداری آب طبق معادله (۴) حاصل می‌شود که در آن:

معادله (۴)

$$Y = 2.27529 + 0.25 A - 0.07 B + 0.37 C - 0.315 D + 0.4375 AB - 0.2125 AC + 0.0875 AD + 0.225 BD - 0.35 CD - 0.219202 A^2 - 0.169202 B^2 + 0.730798 C^2 - 0.444202 D^2$$

Y نشان دهنده ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدانه (گرم/گرم)، A نشان دهنده نسبت جامد به حلال (گرم/میلی لیتر)، B نشان دهنده pH ایزوالکتریک، C نشان دهنده pH قلیایی، D نشان دهنده دمای سانتیگراد (°C) است.

۴-۲- بهینه سازی ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدانه

با بررسی جدول (۴) و شکل‌های (۲a-d) تاثیر متقابل متغیرهای مستقل نسبت جامد به حلال × pH ایزوالکتریک، نسبت جامد به حلال × pH قلیایی، نسبت جامد به حلال × دمای سانتیگراد، pH ایزوالکتریک × pH قلیایی، pH قلیایی × دمای سانتیگراد اثر معنی داری بر ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدانه داشت (p ≤ ۰.۰۰۰۱). همچنین در نسبت‌های غلیظ‌تر (۱۰:۱) به دلیل افزایش غلظت و چگالی پروتئین در محلول، احتمال تجمع پروتئین و کاهش برهم‌کنش‌های هیدروفوبیک وجود دارد که می‌تواند FAC را محدود کند. اثر متقابل نسبت جامد به حلال و pH قلیایی نیز حاکی از آن بود که در شرایط قلیایی شدید pH (۱۱/۵) و نسبت‌های میانی (۱:۱۵ تا ۱:۱۷)، ساختار پروتئین بازتر شده و گروه‌های غیرقطبی بیشتری در معرض جذب روغن قرار گرفتند. این شرایط منجر به افزایش چشمگیر در ظرفیت جذب روغن شد. همچنین در نسبت‌های پایین‌تر، میزان انحلال بیشتر و پراکندگی بهتری از پروتئین ایجاد شد که در نهایت موجب تقویت FAC گردید. در اثر متقابل نسبت جامد به حلال و دمای سانتیگراد

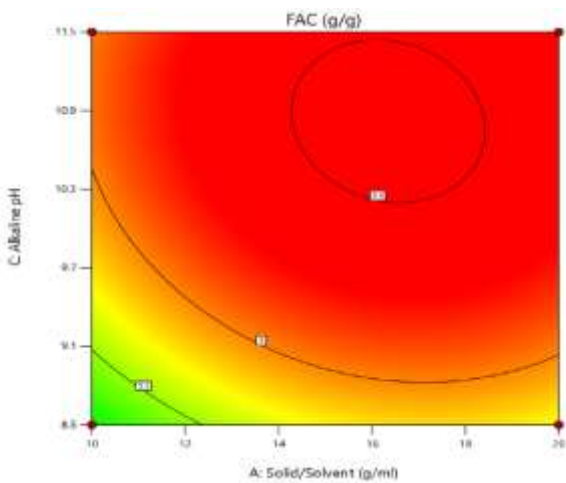
می‌کنند. در دمای سانتریفیوژ پایین (4°C)، حرکت مولکولی کندتر شده و تجمع مجدد پروتئین کاهش می‌یابد، بنابراین ساختار دناتور شده باز مانده و گروه‌های هیدروفوب در دسترس می‌مانند. این شرایط منجر به افزایش قابل توجه در FAC می‌شود.

شکل ۲e اثر متقابل pH ایزوالکتریک با pH قلیایی بر جذب روغن نشان داد در pH ایزوالکتریک پایین‌تر (۴) به دلیل تجمع پروتئین‌ها بسیاری از گروه‌های عملکردی در ساختار داخلی محبوس می‌شوند و تماس با فاز لیپیدی کاهش می‌یابد. این باعث کاهش ظرفیت جذب روغن می‌شود. در pH ایزوالکتریک بالاتر (۵) رسوب‌گذاری ملایم‌تر انجام می‌شود و ساختار پروتئین بازتر باقی می‌ماند. وقتی این حالت با pH قلیایی بالا (۱۱/۵) ترکیب شود، دناتور شدن بیشتر و آشکارسازی گروه‌های هیدروفوب تشدید شده و جذب روغن افزایش می‌یابد. اثر سینرژیستی دو pH زمانی که هر دو (قلیایی و ایزوالکتریک) در بالاترین سطوح باشند، پروتئین بیشترین پتانسیل برای تعامل با فاز لیپیدی را پیدا می‌کند. این نشان می‌دهد که کنترل همزمان این دو متغیر می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در بهبود FAC ایفا کند.

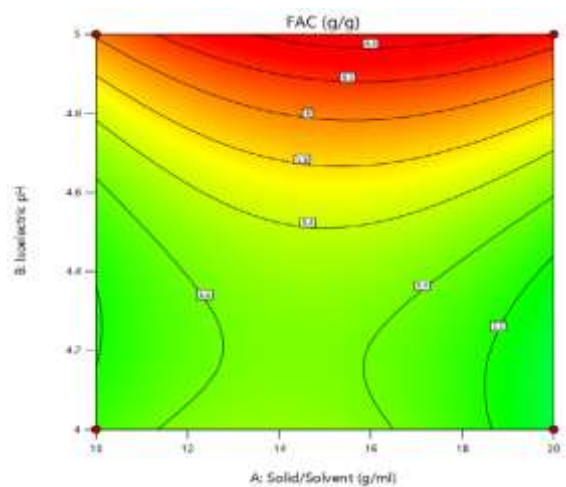
کاهش نسبی غلظت پروتئین ممکن است تماس مؤثر با روغن را کاهش دهد.

شکل ۲c اثر متقابل نسبت جامد به حلال با دمای سانتریفیوژ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود دمای بالاتر باعث باز شدن ساختار پروتئین و افزایش جذب روغن شد. در دمای پایین (4°C) و نسبت‌های رقیق، ساختارهای پروتئینی بیشتر حفظ می‌شوند و از تخریب بیش از حد جلوگیری می‌شود که برای حفظ ویژگی‌های هیدروفوب مؤثر است. اما در نسبت‌های پایین جامد به حلال و دماهای بالاتر ($14-24^{\circ}\text{C}$)، دناتور شدن جزئی و افزایش تحرک مولکولی باعث افزایش FAC می‌شود. این پدیده به ویژه در pH بالا تقویت می‌شود.

با توجه به شکل ۲d اثر متقابل pH قلیایی با دمای سانتریفیوژ مشخص شد که ترکیب pH بالا و دمای بالا تأثیر سینرژیستی داشت و ظرفیت جذب روغن را افزایش داد. تأثیر pH قلیایی بالا (۱۱/۵) در این حالت ساختار پروتئین دناتور شده باز می‌شود و گروه‌های هیدروفوب (غیرقطبی) بیشتری در معرض تماس با روغن قرار می‌گیرند. این گروه‌ها نقش کلیدی در جذب روغن ایفا



(b)



(a)

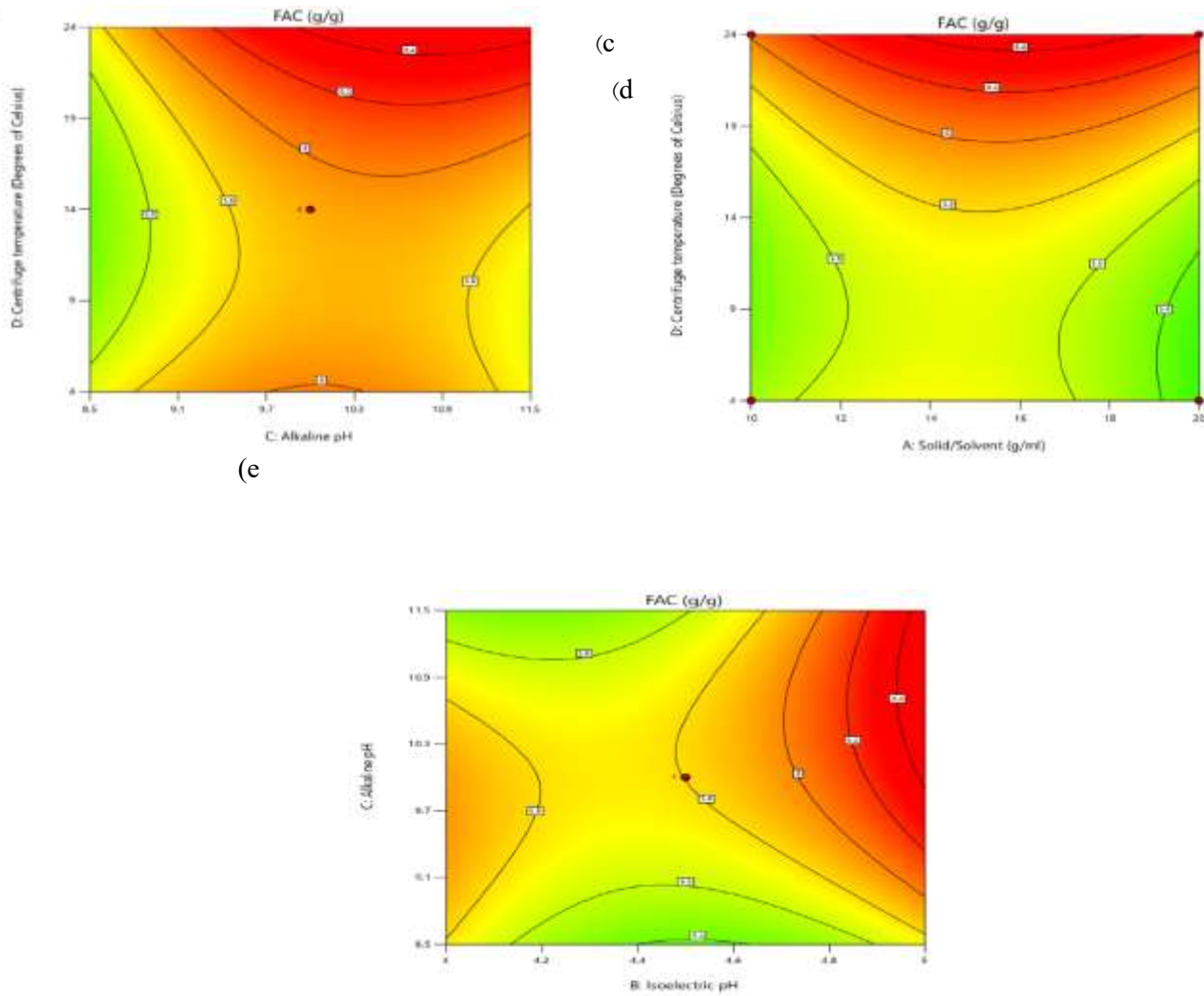


Figure 2. Two-dimensional contour diagrams a) Interaction of solid to solvent ratio and isoelectric pH, b) Interaction of solid to solvent ratio and alkaline pH, c) Interaction of solid to solvent ratio and centrifuge temperature, d) Interaction of alkaline pH and centrifuge temperature, e) Interaction of alkaline pH and isoelectric pH on fat absorption capacity of hemp protein

که در آن Y نشان دهنده ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدانه (گرم/گرم)، A نشان دهنده نسبت جامد به حلال (گرم/میلی لیتر)، B نشان دهنده pH ایزوالکتریک، C نشان دهنده pH قلیایی، D نشان دهنده دمای سانتریفیوژ (°C) است.

با ارجاع به آنچه بیان شد، ظرفیت نگهداری آب طبق معادله (5) حاصل می شود:

معادله (5)

$$Y=5.29011 - 0.05A + 0.24B - 0.07C + 0.205D + 0.1375AB - 0.075AC + 0.125AD + 0.2625 BC + 0.175CD - 0.317681A^2 + 0.382319B^2 - 0.317681C^2 + 0.307319D^2$$

Table 2. Comparison of experimental and predicted data

Parameters	Predicted data	The average of the	p- value	Δ
------------	----------------	--------------------	----------	---

**experimental
data**

Water-holding-capacity	۲.۹۸۵	2.866±0.04	۰.۹۸ ^{ns}	%4
Fat absorption capacity	۶.۰۳۶	۵.۹۶۶±0.04	۰.۹۲ ^{ns}	%1

Mean ±SD (n=3), ns: not significant

پروتئین گروه‌های هیدروفیل کمتر در معرض آب قرار می‌گیرند بنابراین ظرفیت نگهداری آب در pH های ایزوالکتریک نزدیک حد بالایی بالاتر است (شکل ۱a). اثر متقابل دما و pH قلیایی نیز (شکل ۱d) نشان دهنده آن است که در pH قلیایی و دمای بالاتر که امکان دناتورده و باز شدن ساختار پروتئین و در معرض قرار گرفتن گروه‌های هیدروفیل افزایش یافته و ظرفیت نگهداری آب نیز افزایش یافته است [۱۴]. در بررسی اثر متقابل نسبت جامد به حلال با pH ایزوالکتریک، مشاهده شد که در نسبت‌های رقیق‌تر مانند (۱:۲۰) و در pH ایزوالکتریک بالاتر (۵)، تجمع پروتئین کاهش یافته و گروه‌های قطبی بیشتری در معرض تماس با مولکول‌های آب قرار گرفتند. این شرایط منجر به افزایش (WHC) گردید. اثر همزمان نسبت جامد به حلال و pH قلیایی نیز نشان داد که در pH بالا (۱۱/۵) و نسبت‌های میانه تا پایین (۱:۱۵-۱:۲۰)، دناتورده شدن پروتئین‌ها موجب افزایش بازشدگی ساختار و افزایش دسترسی به گروه‌های هیدروفیل شد. همچنین دمای سانتریفیوژ پایین (۴°C) همراه با نسبت رقیق به‌گونه‌ای عمل کرد که از بازآرایی مجدد پروتئین‌ها جلوگیری کرده و ماتریکس پروتئینی متورم و پایدار برای نگهداری آب شکل گرفت. نتایج این پژوهش با نتایج نصرالله زاده و همکاران (۲۰۲۲) و استرویک و همکاران (۲۰۰۰) مشابهت داشت [۱۴] و [۲۰].

۴-۴ - ارزیابی ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدانه

نتایج این پژوهش نشان داد که اثرات متقابل متغیرهای مستقل بر ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدانه روند افزایشی داشته‌است. اثر متقابل متغیرهای مستقل نسبت جامد به حلال

۴-۳ - ارزیابی ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدانه

بر اساس نتایج این پژوهش متغیرهای مستقل تاثیر مثبتی بر ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدانه داشتند. با افزایش متغیرهای مستقل (نسبت جامد به حلال، pH ایزوالکتریک)، ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدانه افزایش یافت. همچنین اثر متقابل متغیرهای مستقل نسبت جامد به حلال × pH قلیایی، نسبت جامد به حلال × دمای سانتریفیوژ، pH ایزوالکتریک × دمای سانتریفیوژ اثر معنی داری بر ظرفیت نگهداری آب پروتئین شاهدانه داشتند. در مطالعه‌ای که ظرفیت نگهداری آب دانه‌کنان را بررسی کردند [۱۸ و ۱۹]. مشخص شد هیدراتاسیون پروتئین‌ها در pH قلیایی می‌تواند افزایش طول پروتئین و افزایش حجم هیدراتاسیون آن را بهبود بخشد و ظرفیت نگهداری آب آن را کاهش دهد. در مطالعه‌ای دیگر در pH قلیایی با بررسی تعداد بیش‌تر گروه‌های هیدروفیل در معرض پروتئین نخود نسبت به نمونه‌های شاهدانه نشان داد با تعداد بیش‌تر گروه‌های هیدروفیل پروتئین که به راحتی هیدراته می‌شوند (WHC) آن کاهش یافته است [۲۰]. پروتئین‌های شاهدانه در یک ماتریکس کروی با پیوندهای دی سولفیدی محکم می‌شوند که باعث می‌شوند گروه‌های قطبی بیش‌تری در ساختار آب جذب شوند در نتیجه (WHC) شاهدانه افزایش پیدا می‌کند. با توجه به اثر متقابل نسبت جامد به حلال و pH قلیایی نشان داد که در حدود pH قلیایی بالاتر چون ساختار پروتئین بیشتر باز می‌شود به دلیل در معرض آب قرار گرفتن گروه‌های هیدروفیل ظرفیت نگهداری آب افزایش می‌یابد همین روند در خصوص اثر متقابل با pH ایزوالکتریک نیز صادق است. در pH ایزوالکتریک پایین‌تر به دلیل تجمع شدید

نشان دهنده آن است که در pH بالاتر و دمای بالاتر که امکان دانوره و باز شدن ساختار پروتئین و در معرض قرار گرفتن گروه‌های هیدروفوب افزایش یافته جذب روغن نیز افزایش یافته‌است. در نتیجه اثر متقابل نسبت جامد به حلال با متغیرهای pH و دما نقش تعیین‌کننده‌ای در افزایش یا کاهش قابلیت جذب روغن ایزوله پروتئین شاهدانه دارد. انتخاب نسبت (۱:۱۷-۱:۱۵) در کنار pH قلیایی بالا و دمای سانتی‌گراد پایین شرایط بهینه‌ای برای دسترسی سطحی گروه‌های غیرقطبی و افزایش جذب روغن فراهم می‌آورد [۲۳ و ۲۴].

۴-۵- نتیجه گیری کلی

در این پژوهش ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدانه به کمک روش سطح پاسخ ارزیابی و بهینه سازی بر اساس حداکثر ظرفیت نگهداری آب و روغن انجام شد. براساس نتایج بدست آمده در این تحقیق می‌توان بیان داشت که روش استخراج قلیایی پروتئین بر خواص عملکردی ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن ایزوله پروتئین شاهدانه تأثیر گذاشت. ظرفیت نگهداری آب و ظرفیت جذب روغن ایزوله پروتئین شاهدانه به ترتیب با مقدار ۲/۹۸۵ و ۶/۰۳۶ (گرم/گرم) در نسبت جامد به حلال (۱:۱۷)، pH ایزوالکتریک (۵)، pH قلیایی (۱۱/۵) و دمای سانتی‌گراد (۱۹°C) بدست آمد. داده های پیشنهادی نرم افزار و داده های تجربی بدست آمده در سطح احتمال ۵٪ درصد از خود نشان نداد ($p > 0.05$). پروتئین شاهدانه استخراج شده به روش قلیایی معمولاً ظرفیت نگهداری آب نسبتاً بالایی به دلیل ساختار آمفیپاتیک و گروه‌های هیدروفیل آن داشت. این پروتئین همچنین ظرفیت جذب روغن بالایی به دلیل حضور گروه‌های هیدروفوب در ساختار آن داشت بنابراین بهینه‌سازی این ویژگی‌ها باعث می‌شوند که ایزوله پروتئین شاهدانه به عنوان یک ماده غذایی عملکردی در صنایع غذایی مورد توجه قرار گیرد.

\times pH ایزوالکتریک، نسبت جامد به حلال \times pH قلیایی، نسبت جامد به حلال \times دمای سانتی‌گراد، pH قلیایی \times pH ایزوالکتریک، pH قلیایی \times دمای سانتی‌گراد اثر معنی داری بر ظرفیت جذب روغن پروتئین شاهدانه داشتند. براساس نتایج بدست آمده، ظرفیت جذب روغن پروتئین تابع تغییرات pH بود که به دلیل اثر pH بر تعادل هیدروفوب - هیدروفیل پروتئین می‌باشد. با توجه به مطالعات مالومو و همکاران (۲۰۱۴) بر همکنش‌های پروتئین در pH ۷/۰ منجر به قرار گرفتن در معرض بیش تر گروه‌های ترکیبات فرار در مقایسه با pH ۹/۰ که پروتئین یک ترکیب بازتر با گروه‌های فرار کم‌تر است که باعث می‌شود (FAC) در مقایسه با (WHC) ایزوله‌ی پروتئین شاهدانه نسبتاً بالاتر باشد [۲۱]. به دلیل محتوای پروتئین بالا در ایزوله پروتئین شاهدانه مولکول‌های پروتئین بیش‌تر به جای پلی‌ساکاریدهای نامحلول منجر به افزایش بر همکنش‌های آبگریز با فاز لیپیدی و در نتیجه افزایش ظرفیت جذب روغن می‌شود [۲۴]. همچنین تأثیر شرایط استخراج بر (FAC) با نتایج جیانگ و همکاران (۲۰۱۰) و دیچاویک هادناجف (۲۰۱۹) که تأثیر شرایط استخراج بر FAC ایزوله پروتئین شاهدانه توسط آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفت مشابهت داشت. جیانگ و همکاران (۲۰۱۰) و دیچاویک هادناجف (۲۰۱۹) بیان کردند که ایزوله‌های پروتئینی شاهدانه استخراج شده با روش قلیایی (FAC) بیش‌تری داشتند. این ممکن است به دانوره شدن جزئی پروتئین (باز شدن) توسط استخراج قلیایی نسبت داده شود که باعث افزایش آبگریزی سطحی در نتیجه افزایش (FAC) شد با توجه به اثر متقابل نسبت جامد به حلال و pH قلیایی نشان داد که در حدود بالایی pH قلیایی چون ساختار پروتئین بیشتر باز می‌شود به دلیل در معرض قرار گرفتن گروه‌های هیدروفوب جذب روغن افزایش می‌یابد، همین روند در خصوص اثر متقابل با pH ایزوالکتریک نیز صادق است. در pH پایین به دلیل تجمع شدید پروتئین گروه‌های هیدروفوب کم‌تر در معرض قرار می‌گیرند و جذب روغن در pH های ایزوالکتریک نزدیک حد بالایی بالاتر است (شکل ۲a). اثر متقابل دما و pH قلیایی نیز (شکل ۲d)

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

کیمیا صهبا در جمع آوری و تحلیل داده ها، تامین مالی، روش شناسی، نگارش و بازنگری متن مقاله و نفیسه زمین دار در مفهوم سازی، مدیریت پروژه، معتبر سازی، مدلسازی نرم افزار و نگارش و بازنگری مقاله مشارکت داشته اند.

۵- منابع

- [۱] Pojić, M., Mišan, A., Sakač, M., Dapčević Hadnađev, T., Šarić, B., Milovanović, I., & Hadnađev, M. (2014). Characterization of byproducts originating from hemp oil processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(51), 12436–12442.
- [۲] Dapčević-Hadnađev, T., Hadnađev, M., Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2018). Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part II. Gelation properties at different ionic strengths. *Food Hydrocolloids*, 81, 481–489.
- [۳] Small, E. (2015). Evolution and classification of Cannabis sativa (Marijuana, Hemp) in relation to human utilization. *Botanical Review*, 81(3), 189–294.
- [۴] Singhal, A., Karaca, A. C., Tyler, R., & Nickerson, M. (2016). Pulse proteins: From processing to structure-function relationships. In *Grain Legumes* (pp. 55–78). IntechOpen.
- [۵] Chen, H., Xu, B., Wang, Y., Li, W., He, D., Zhang, Y., ... & Xing, X. (2023). Emerging natural hemp seed proteins and their functions for nutraceutical applications. *Food Science and Human Wellness*, 12(4), 929–941.
- [۶] Shen, P., Gao, Z., Fang, B., Rao, J., & Chen, B. (2021). Ferreting out the secrets of industrial hemp protein as emerging functional food ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 1–15.
- [۷] Wang, Q., & Xiong, Y. L. (2019). Processing, nutrition, and functionality of hempseed protein: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(3), 936–952.
- [۸] Gao, Z., Shen, P., Lan, Y., Fang, B., & Chen, B. (2020). Effect of alkaline extraction pH on structure properties, solubility, and beany flavor of yellow pea protein isolate. *Food Research International*, 136, 109473.
- [۹] Damodaran, S. (2017). Amino acids, peptides, and proteins. In S. Damodaran & K. L. Parkin (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* (5th ed., pp. 235–356). CRC Press.
- [۱۰] Galves, C., Stone, A. K., Szarko, J., & Nickerson, M. (2019). Effect of pH and defatting on the functional attributes of safflower, sunflower, canola, and hemp protein concentrates. *Cereal Chemistry*, 96(6), 1036–1047.
- [۱۱] Feyzi, S., Varidi, M., Zareb, F., & Varidi, M. J. (2015). Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed protein isolate: Extraction optimization, amino acid composition, thermo and functional properties. *Society of Chemical Industry*, 15, 3165–3176.
- [۱۲] Assadbeigi, M., Zamindar, N., & Goli, M. (2023). Optimizing the functional properties of the emulsion and foam kimia lentil protein isolate. *Iranian Journal Pulses Research*, 14(1), 133–145.
- [۱۳] Nasrollahzadeh, F., Roman, L., Swaraj, V. J. S., Ragavan, K. V., Vidal, N. P., Dutcher, J. R., & Martinez, M. M. (2022). Hemp (*Cannabis sativa* L.) protein concentrates from wet and dry industrial fractionation: Molecular properties, nutritional composition, and anisotropic structuring. *Food Hydrocolloids*, 131, 107755.

- [۱۴] Dehghani, M., & Zamindar, N. (2023). Optimization of water and oil absorption capacity of Bilesavar lentil protein by response surface method. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(133), 69–78.
- [۱۵] Tang, C. H., Ten, Z., Wang, X. S., & Yang, X. Q. (2006). Physicochemical and functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(24), 8945–8950.
- [۱۶] Kriese, U., Schumann, E., Weber, W. E., Beyer, M., Brühl, L., & Matthäus, B. (2004). Oil content, tocopherol composition and fatty acid patterns of the seeds of 51 *Cannabis sativa* L. genotypes. *Euphytica*, 137(3), 339–351.
- [۱۷] Rodríguez-Ambriz, S. L., Martínez-Ayala, A. L., Millán, F., & Dávila-Ortiz, G. (2005). Composition and functional properties of *Lupinus campestris* protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(3), 99–107.
- [۱۸] Struik, P. C., Amaducci, S., Bullard, M. J., Stutterheim, N. C., Venturi, G., & Cromack, H. T. H. (2000). Agronomy of fibre hemp (*Cannabis sativa* L.) in Europe. *Industrial Crops and Products*, 11(2–3), 107–118.
- [۱۹] Malomo, S. A., He, R., & Aluko, R. E. (2014). Structural and functional properties of hemp seed protein products. *Journal of Food Science*, 79(9), C1512–C1521.
- [۲۰] Yin, S.-W., Tang, C.-H., Cao, J.-S., & Zhang, L.-J. (2008). Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate. *Food Chemistry*, 106(3), 1004–1013.
- [۲۱] Ge, Z., & Wu, R. (2000). Hempseed protein drink and producing method thereof. China Patent No. 1054034 C.
- [۲۲] Malomo, S. A., & Aluko, R. E. (2015). A comparative study of the structural and functional properties of isolated hemp seed (*Cannabis sativa* L.) albumin and globulin fractions. *Food Hydrocolloids*, 43, 743–752.
- [۲۳] Ge, Z., & Wu, R. (2000). *Hempseed protein drink and producing method thereof* (China Patent No. 1054034 C).
- [۲۴] Malomo, S. A., & Aluko, R. E. (2015). A comparative study of the structural and functional properties of isolated hemp seed (*Cannabis sativa* L.) albumin and globulin fractions. *Food Hydrocolloids*, 43, 743–752.
- [۲۵] Dapčević-Hadnadev, T., Dizdar, M., Pojić, M., & Hadnadev, M. (2019). Emulsifying properties of hemp proteins: Effect of isolation technique. *Food Hydrocolloids*, 89, 912–920.
- [۲۶] Jiang, J., Xiong, Y. L., & Chen, J. (2010). pH shifting alters solubility characteristics and thermal stability of soy protein isolate and its globulin fractions in different pH, salt concentration, and temperature conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8035–8042.



Scientific Research

Investigating the Water Holding Capacity and Fat Absorption Capacity of Hemp Protein Isolate (*Cannabis sativa* L.) Extracted by Alkaline Method

Kimia Sahba¹, Nafiseh Zamindar^{2*}

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

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

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/11/28

Review: 2025/03/08

Accepted: 2025/11/10

Keywords:

Fat absorption capacity,
Water holding capacity,
Hemp protein isolate,
Alkaline extraction.

DOI: [10.48311/fsct.2026.83877.0](https://doi.org/10.48311/fsct.2026.83877.0)

*Corresponding Author E-
n.zamindar@iaau.ac.ir

Proteins play a crucial role both in human survival and food products. They have important roles in health and nutrition, and possess a wide range of functional properties. Hemp protein is considered a valuable plant protein source with excellent nutritional value and unique functional properties. It can be used in various food systems to create desirable textures. Maintaining freshness and enhancing oil absorption are key factors in the quality of many food products. The alkaline extraction method for hemp protein was evaluated using response surface methodology. In this study, the effects of various parameters such as alkaline pH (8.5, 10, 11.5), solid to liquid ratio (1:10, 1:15, 1:20), and centrifugation temperature (4, 4.5, 5 °C) were investigated on the water holding capacity and fat absorption capacity of isolated hemp protein. The highest value of water and fat absorption capacity were respectively 2.985 and 6.036 (g/g) with the desirability of 98%. The optimum point was obtained at alkaline pH of 11.5, isoelectric pH of 4, solid to liquid ratio of 1:12, and centrifugation temperature of 4 °C. The statistical analysis using t .test showed no significant difference between the experimental data and the predicted values ($p>0.05$), indicating the optimal functional properties of hemp protein for its potential application in the food industry.