



## بررسی تاثیر توان و زمان فرایند فراصوت بر استخراج ایزوله پروتئین از جوانه ماش

شهره واحد<sup>۱</sup>، حسین عباس تبار آهنگر<sup>۲،۳\*</sup>، مولود نورانی<sup>۴</sup>، سمیه تقیان دینانی<sup>۵</sup>، مجتبی نصر اصفهانی<sup>۶</sup>

۱- گروه علوم صنایع غذایی و فناوری، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران.

۲- گروه شیمی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران.

۳- مرکز تحقیقات محیط زیست انسانی و توسعه پایدار، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران.

۴- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۵ - دانشکده فنی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران.

۶- گروه شیمی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

#### تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷

در این تحقیق استخراج پروتئین از جوانه ماش با استفاده از پیش تیمار فراصوت در ترکیب با فرایندهای استخراج قلیایی و رسوب اسیدی انجام شد و اثر توان فراصوت (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ وات) و زمان فراصوت (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه) بر ویژگی های ساختاری و عملکردی ایزوله پروتئین جوانه ماش بررسی گردید. نتایج نشان داد که بیشترین راندمان استخراج، حلالیت پروتئین، ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت جذب روغن، و ظرفیت کف‌کنندگی مربوط به توان ۳۰۰ وات و زمان ۳۰ دقیقه فراصوت می‌باشد. طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه پروتئین‌های استخراج شده نشاندهنده عدم تخریب گروه‌های عملکردی طی فرایند فراصوت بود. به علاوه آنالیز گرماسنج روبشی تفاضلی نشان داد که زمان بیشتر و توان بالاتر فرایند فراصوت سبب دناتوره شدن پروتئین‌ها شد. بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی مشخص شد که در زمان‌های طولانی و توان‌های بالاتر فراصوت، فضاهای خالی و منافذ زیادی در یک جوانه ماش باقی‌مانده وجود داشت. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که استفاده از فراصوت به‌عنوان یک تکنولوژی سبز- سبب بهبود ویژگی‌های عملکردی پروتئین جوانه ماش برای استفاده در مواد غذایی شد.

#### کلمات کلیدی:

جوانه ماش،

فراصوت،

ایزوله پروتئینی،

ویژگی‌های عملکردی

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.283

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.16.5

\* مسئول مکاتبات:

abbastabar@pmt.iaun.ac.ir

## ۱- مقدمه

جوانه ماش به مقدار قابل توجهی در نواحی مختلف قاره آسیا استفاده می‌شود [۸].

برخی از روش‌های نوآورانه مانند آب فوق بحرانی، فراصوت، فشار بالا و میدان الکتریکی پالسی توسط بسیاری از محققان در تیمار پروتئین‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در بین این روش‌ها، فراصوت یک روش نوین و دوستدار محیط زیست برای استخراج، فراوری و اصلاح پروتئین‌هاست [۹]. در مقایسه با روش‌های حرارتی مرسوم، فراصوت مزایایی همچون استخراج سریعتر و با راندمان بالاتر، حفظ بهتر اجزای غذایی حساس به حرارت، کیفیت بالاتر غذاهای فراوری شده، اقتصادی بودن، مصرف انرژی کمتر، سادگی فرایند، آلودگی کمتر تجهیزات و شرایط فراوری اسپتیک را دارد [۳].

در سونیکاسیون با توان بالا از امواج فراصوت با فرکانس پایین (۱۶-۱۰۰ کیلوهرتز) و شدت توان در محدوده ۱۰-۱۰۰ وات بر سانتی‌متر مکعب استفاده می‌شود. هنگامی که فراصوت با توان بالا به یک محیط آبی اعمال می‌شود، حباب‌های کائیتاسیون تشکیل می‌شوند. فروپاشی این حباب‌ها باعث ایجاد دما و فشار بسیار بالا (به ترتیب ۵۰۰۰ کلوبین و ۱۰۰۰ اتمسفر) شده و انرژی برشی و آشفتنگی در ناحیه کائیتاسیون افزایش می‌یابد. کائیتاسیون ماتریس‌های سلولی را متلاشی کرده و به استخراج پروتئین از سلول‌های گیاهی کمک می‌کند. تحت تاثیر این فرایند اندازه ذرات تقریباً ۱۰ برابر کاهش یافته و به دلیل افزایش مساحت سطح، استخراج پروتئین از سوبسترا افزایش می‌یابد. علاوه بر افزایش راندمان استخراج، پیکربندی مولکولی پروتئین نیز توسط فرایند فراصوت با توان بالا، از طریق برهمکنش‌های آبگریز، تغییر می‌یابد [۱۰]. کیفیت و بازده استخراج به میزان زیادی تحت تاثیر پارامترهایی همچون قدرت یا شدت فراصوت، نوع ظرف واکنش، دما و زمان استخراج، نوع حلال، pH، غلظت و حجم قرار می‌گیرد [۱۱].

علی‌رغم ارزش غذایی و محتوای پروتئینی بالای جوانه‌ها و اهمیت استفاده از فناوری‌های جدید برای افزایش راندمان استخراج و بهبود ویژگی‌های پروتئینی، هیچ گزارشی مبنی بر استخراج پروتئین از جوانه‌های حبوبات با روش‌های استخراج جدید مانند فراصوت وجود ندارد. همچنین دان‌توره شدن پروتئین و تغییر خواص عملکردی جوانه حبوبات تحت تاثیر فراصوت

پروتئین‌ها از اجزای ضروری رژیم غذایی انسان هستند. افزایش مصرف پروتئین‌های گیاهی، به دلیل کمک به کاهش وزن و فشار خون، برای سلامتی قلبی-عروقی مفید است [۱ و ۲]. دانه‌های گیاهان خانواده لگومیناسه منابع خوبی از پروتئین‌های گیاهی با خواص تکنولوژیکی، عملکردی و زیست‌فعالی شناخته شده هستند. سلامت انسان با مصرف پروتئین‌های استخراج شده از دانه ماش، سویا، نخود و عدس، به دلیل کیفیت غذایی بالای آنها به طور قابل توجهی بهبود می‌یابد [۳].

دانه ماش به دلیل فراوانی و ارزش تغذیه‌ای بالا به عنوان یک منبع مهم پروتئینی شناخته می‌شود. میزان پروتئین دانه ماش ۲۵-۲۸ درصد است و مانند سایر حبوبات به دلیل خواص عملکردی متعددی همچون حلالیت، ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت جذب روغن، ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف، کاربردهای منحصر به فردی در سیستم‌های غذایی دارد [۳]. در این بین، مهمترین ویژگی پروتئین حلالیت آن می‌باشد که بر خواص امولسیون-کنندگی، کف‌کنندگی و ژل‌کنندگی تاثیرگذار است. با افزایش حلالیت، ترکیب ماده غذایی با پروتئین تسهیل شده و طعم، بافت و ارزش تغذیه‌ای تحت تاثیر قرار می‌گیرد. ظرفیت نگهداری آب بالا نیز یک ویژگی مهم در مواد غذایی ویسکوز مانند سوپ‌ها و همچنین در محصولات قنادی و نانویی است [۴]. از طرف دیگر، پایداری پروتئین و میزان کف تولیدی پارامترهای مهمی برای رسیدن به ویژگی‌های رئولوژیکی مطلوب در محصولات هم‌چون خامه همزده و بستنی است. ظرفیت جذب روغن نیز به دلیل افزایش ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون در فرمولاسیون‌های غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است [۵ و ۶].

به دلیل برهمکنش پروتئین‌های حبوبات با ترکیباتی همچون فیتات و پلی‌فنل‌ها، بخشی از آنها غیرقابل هضم می‌باشند. بنابراین افزایش میزان در دسترس بودن پروتئین مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. در این راستا، جوانه‌زنی به عنوان یک فرایند زیستی برای بهبود قابلیت هضم و افزایش میزان پروتئین، فیبر رژیمی و ترکیبات فنولیک پیشنهاد شده است [۷ و ۸]. جوانه‌ها مواد غذایی تازه، کاربردی و مغذی هستند. در این بین

۱۸ درجه سانتیگراد خیسانده شدند. نسبت بذر و آب (W/V) ۱:۵ بود [۷]. در مرحله بعد، بذرها روی کاغذ واتمن شماره ۲ مرطوب در ظروف پتری استریل پهن شده و به مدت ۳ روز در دمای اتاق ( $25 \pm 2$  درجه سانتیگراد) در مکانی تاریک نگهداری شدند. بذرها در طول نگهداری، ۳ بار در روز با آب مقطر اسپری شدند. پس از جوانه‌زنی دانه‌های ماش، جوانه‌ها به صورت دستی جدا و در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت در یک خشک‌کن هوای گرم (طراحی شده در گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد شهرضا، شهرضا، ایران) خشک شدند. نهایت جوانه‌های خشک شده با یک آسیاب خانگی (بلندر صنعتی سانپو، ژاپن) آسیاب و از الک با مش ۱۵۰ عبور داده شدند. پودر عبور کرده از الک، در کیسه‌های زیپ دار پلی اتیلنی بسته‌بندی شد و برای انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر (مدل REFST170، پارس، ایران) در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شد [۱۲].

### ۲-۳- استخراج پروتئین

شماطیک فرایند استخراج پروتئین از جوانه ماش در شکل ۱ نشان داده شده است. ابتدا پیش تیمار فراصوت با توان بالا انجام شد و سپس استخراج توسط فرآیندهای استخراج قلبایی و رسوب اسیدی صورت گرفت.

تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است. بنابراین، در این مطالعه جوانه ماش، به عنوان یک ماده غنی از پروتئین، برای استخراج پروتئین با استفاده از فراصوت استفاده شد. اهداف این مطالعه عبارتند از: (۱) ارزیابی اثر شدت و زمان فراصوت بر بازده استخراج ایزوله پروتئین ماش جوانه‌زده و (۲) ارزیابی ویژگی‌های عملکردی و ساختاری ایزوله پروتئین ماش جوانه‌زده پس از تیمار فراصوت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد شیمیایی

هیدروکسید سدیم، هیپوکلریت سدیم، معرف برادفورد، اسید هیدروکلریک و سرم آلبومین گاوی از شرکت مرک (دارمشتات، آلمان) تهیه شد. همچنین اتانول ۹۶ درصد از شرکت سینا فریمان (خراسان رضوی، ایران) خریداری شد.

### ۲-۲- آماده سازی نمونه

بذر ماش (*Vigna radiate* L.) از یک بازار محلی در اصفهان خریداری شد. بذرها با استفاده از اتانول (۹۶ درصد) به مدت ۲/۵ دقیقه و با محلول هیپوکلریت سدیم (۲/۵ درصد) به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. سپس چهار بار با آب مقطر شسته شده (بولیوار و همکاران، ۲۰۱۰) و به مدت ۱۷ ساعت در آب با دمای



Fig 1 Schematic diagram of production of SMPI by ultrasonic pretreatment/alkaline extraction and acid precipitation.

## ۲-۳-۱- پیش تیمار فراصوت با شدت بالا

پودر جوانه ماش خشک (۲۰ گرم) در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر غوطه ور شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام فراصوت (Model PULSE system, PULSE-300، ایتالیا) با فرکانس ثابت ۲۰ کیلوهرتز در سطوح مختلف توان (۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ وات) در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتیگراد قرار گرفت. دمای حمام فراصوت در طول فرایند با استفاده از یخ کنترل شد.

## ۲-۳-۲- فرآیند استخراج قلیایی و رسوب اسیدی

ایزوله پروتئین جوانه ماش با استفاده از روش گزارش شده توسط دو و همکاران [۴] با انجام برخی اصلاحات تهیه شد. به طور خلاصه، pH سوسپانسیون فراصوت شده با استفاده از هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتیگراد به ۹ رسانده شد. محلول با استفاده از یک همزن مغناطیسی (مدل Hp-840، آلفا، ایران) به مدت ۱ ساعت هم زده شد و سپس در  $4000 \times g$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (مدل CE148، شیمی فن، ایران). محلول رویی جمع آوری و pH با استفاده از اسید هیدروکلریک ۰/۱ مولار روی ۴/۵ تنظیم شد. سپس محلول سانتریفیوژ شد ( $4000 \times g$ ، ۱۵ دقیقه) و رسوب به دست آمده به مدت ۱۲ ساعت در آون (مدل E.O.155، شیمی فن، ایران) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. در نهایت، پروتئین خشک شده برای به دست آوردن یک پودر نرم آسیاب و در کیسه‌های پلاستیکی در یخچال (۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شد.

## ۲-۳-۳- بازده استخراج پروتئین

از معادله ۱ برای تعیین بازده استخراج ایزوله پروتئین جوانه ماش استفاده شد:

$$\text{Extraction yield (\%)} = \frac{m_p}{m_t} \quad (1)$$

که در آن  $m_p$  و  $m_t$  به ترتیب وزن پودر جوانه ماش و ایزوله پروتئین جوانه ماش هستند [۱۳].

## ۲-۴- خواص عملکردی

## ۲-۴-۱- حلالیت پروتئین

برای اندازه‌گیری حلالیت پروتئین، ابتدا ۰/۵ گرم از ایزوله پروتئین جوانه ماش به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و pH مخلوط با استفاده از هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال روی ۷/۳

تنظیم گردید. سپس مخلوط در  $4000 \times g$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد [۱۴] و میزان پروتئین با استفاده از روش برادفورد تعیین گردید. به این منظور، ۰/۲ میلی لیتر از محلول رویی و ۱/۸ میلی لیتر از معرف برادفورد ۳ برابر رقیق شده با یکدیگر مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط ( $25 \pm 2$  درجه سانتیگراد) در تاریکی نگهداری شد. جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Cary 60UV-Vis، Agilent، آمریکا) در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۵]. برای رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی به عنوان محلول استاندارد در محدوده غلظت ۰-۱۰۰ میلی گرم بر لیتر استفاده شد.

## ۲-۴-۲- ظرفیت نگهداری آب

برای اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب از روش گزارش شده توسط دو و همکاران [۴] استفاده شد. ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ( $V_1$ ) و ۰/۵ گرم پروتئین ( $W_{initial}$ ) در یک استوانه مدرج شیشه‌ای ۱۰۰ میلی لیتری مخلوط شدند. مخلوط حاصل به مدت ۸۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در  $4000 \times g$  سانتریفیوژ شد. در نهایت حجم مایع رویی ( $V_2$ ) ثبت و از معادله ۲ برای محاسبه ظرفیت نگهداری آب استفاده شد:

$$\text{WHC} \left( \frac{g}{ml} \right) = \frac{V_1 - V_2}{W_{initial}} \quad (2)$$

## ۲-۴-۳- ظرفیت جذب روغن

از روش گزارش شده توسط دو و همکاران [۴] برای اندازه‌گیری ظرفیت جذب روغن ایزوله پروتئین جوانه ماش استفاده شد. طبق این روش ۰/۵ گرم از ایزوله پروتئین ( $M_{initial}$ ) و ۵ گرم روغن سویا ( $M_1$ ) در یک بشر ۵۰ میلی لیتری مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت متوسط در دمای محیط هم زده شد. پس از ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ کردن در  $4000 \times g$ ، محلول رویی جدا شده و وزن شد ( $M_2$ ). از معادله ۳ برای تعیین میزان ظرفیت جذب روغن استفاده شد:

$$\text{OAC (g/g)} = \frac{M_1 - M_2}{M_{initial}} \quad (3)$$

## ۲-۴-۴- خواص کف‌کنندگی

(Netzsch، آلمان) برای محاسبه آنتالپی دانتوراسیون ( $\Delta H$ ): ناحیه زیر پیک منحنی حرارتی (بر حسب ژول بر گرم ایزوله پروتئین)) استفاده شد [۶].

## ۲-۷- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

پس از پیش‌تیمار فراصوت، نمونه‌ها فیلتر شده و کیک باقی‌مانده در دمای اتاق ( $25 \pm 25$  درجه سانتیگراد) خشک شد. به‌منظور بررسی تغییرات ساختاری کیک در اثر پیش‌تیمار فراصوت (توان فراصوت ۱۰ وات و زمان ۳۰ دقیقه، توان فراصوت ۳۰۰ وات و زمان ۳۰ دقیقه و توان فراصوت ۳۰۰ وات و زمان ۱۰ دقیقه)، تصاویر میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM، Quanta 200، FEI، آمریکا) در ولتاژ شتاب ۲۵ کیلوولت، پس از پوشش‌دهی با طلا در خلاء، با بزرگنمایی ۲۰۰۰ برابر ثبت شد [۱۸].

## ۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، برای تجزیه و تحلیل آماری اثر قدرت و زمان فراصوت بر پارامترهای وابسته (شامل بازده استخراج، حلالیت پروتئین، ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت جذب روغن و خواص کف‌کنندگی) از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۵، آمریکا) توسط آزمون چند دامنه-ای دانکن ( $p \leq 0.05$ ) تجزیه و تحلیل، و به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شدند. تمامی آزمایشات حداقل در دو تکرار انجام شدند.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- اثر توان فراصوت بر ویژگی‌های

#### عملکردی ایزوله پروتئین جوانه ماش

اثر شدت فراصوت (۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ وات) بر بازده استخراج، حلالیت پروتئین، ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت جذب روغن، ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف ایزوله پروتئین جوانه ماش مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به ترتیب در شکل‌های 2A-E نشان داده شده است.

از روش کاوشیک و همکاران برای اندازه‌گیری خواص کف-کنندگی پروتئین استخراج شده با انجام تغییرات جزئی استفاده شد. به‌طور خلاصه، ۵۰ میلی‌لیتر از محلول ایزوله پروتئین در آب (با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در یک استوانه مدرج شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و حجم آن ( $V_1$ ) ثبت گردید. سپس محلول به مدت ۱ دقیقه با استفاده از یک هموژنایزر (مدل KA-Werke GmbH & Co., T18، آلمان) در سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه همگن و حجم آن ( $V_2$ ) اندازه‌گیری شد. پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، مجدداً حجم آن ( $V_3$ ) ثبت شد و ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف به ترتیب با استفاده از معادلات (۴) و (۵) محاسبه شدند [۱۶]:

$$FC (\%) = \left[ \frac{V_2 - V_1}{V_1} \right] \times 100 \quad (4)$$

$$FS (\%) = \left[ \frac{V_3 - V_2}{V_2} \right] \times 100 \quad (5)$$

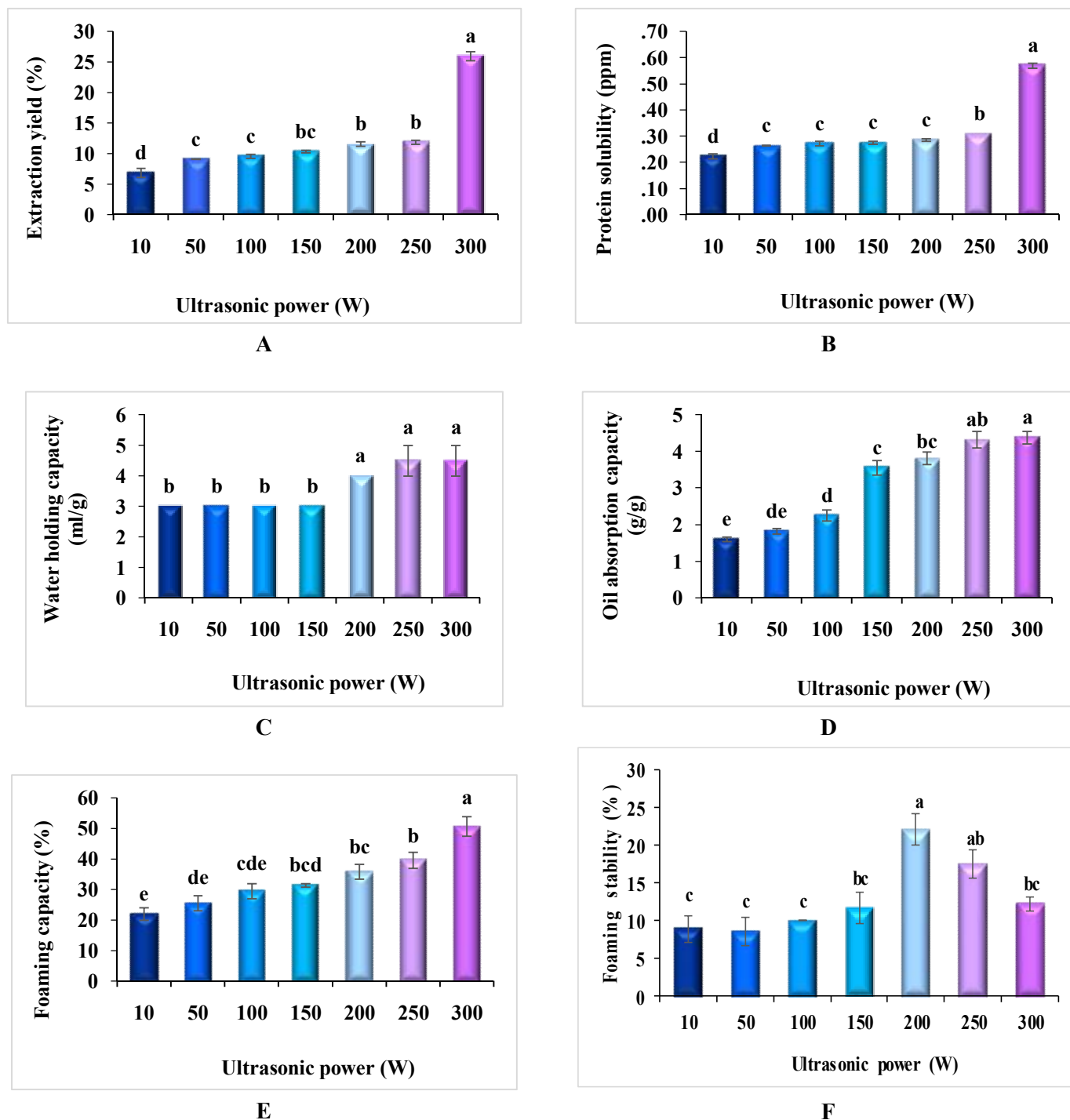
### ۲-۵- تجزیه و تحلیل طیف‌سنجی مادون قرمز

#### تبدیل فوریه (FTIR)

۱۰۰ میلی‌گرم برومید پتاسیم و ۲ میلی‌گرم پودر ایزوله پروتئین جوانه ماش مخلوط شده و برای تشکیل قرص در دمای محیط ( $25 \pm 25$  درجه سانتیگراد) فشرده شدند. سپس، طیف FTIR نمونه‌ها در محدوده عدد موج ۴۵۰-۴۰۰۰ (بر سانتی‌متر) با وضوح ۴ (بر سانتی‌متر) در دمای محیط ( $25 \pm 25$  درجه سانتیگراد) ثبت شد (مدل Spectrum 65، Perkin Elmer، آمریکا). طیف‌ها با استفاده از نرم‌افزار (Perkin Elmer) Spectrum نسخه ۱۰، آمریکا) آنالیز شدند. قبل از ثبت طیف هر نمونه، از طیف FTIR برومید پتاسیم خالص به عنوان پس‌زمینه استفاده شد [۱۷].

### ۲-۶- گرماسنج روبشی تفاضلی (DSC)

از یک دستگاه DSC (مدل STA 449 F3 Jupiter، آلمان) برای تعیین خواص حرارتی ایزوله پروتئین جوانه ماش استفاده شد. بدین منظور، ۴ میلی‌گرم از ایزوله پروتئینی در ظرف‌های آلومینیومی قرار داده شد و تحت نیروژن از دمای ۲۰ تا ۲۰۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۰ درجه سانتیگراد در دقیقه حرارت داده شد. از نرم‌افزار آنالیز پروتئوس



**Fig 2** Effect of ultrasonic power on the protein extraction yield (A), protein solubility (B), water holding capacity (C), oil absorption capacity (D), foaming capacity (E) and foaming stability (F) of SMPI. Error bars represent SE. The different letters above the bars show statistically significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

فراصوت یک پارامتر بسیار مهم در بهبود بازده استخراج پروتئین است [۹]. افزایش تخریب سلولی، نفوذ حلال و انتقال جرم ناشی از توان بالای فراصوت عامل افزایش راندمان استخراج هستند [۱۹]. فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون صوتی در نزدیکی و روی

### ۳-۱-۱- بازده استخراج

با توجه به شکل 2A، بازده استخراج پروتئین با افزایش قدرت فراصوت افزایش یافت و از  $6/85 \pm 0/70$  درصد در ۱۰ وات به  $25/99 \pm 0/73$  درصد در ۳۰۰ وات تغییر کرد. بنابراین، توان

فراصوت به  $400 \text{ W/cm}^2$  زیاد شد [۲۵]. افزایش حلالیت پروتئین با اعمال سطوح بالاتر توان فراصوت برای ایزوله پروتئین گردو نیز توسط ژو و همکاران گزارش شده است [۲۳].

### ۳-۱-۳- ظرفیت نگهداری آب

ظرفیت نگهداری آب نشانه‌ای کمی از مقدار آب باقی‌مانده در ساختار پروتئین است که می‌تواند منعکس کننده ساختار فضایی ژل‌های پروتئینی باشد [۲۶]. مطابق شکل 2C، توان فراصوت به طور قابل توجهی ظرفیت نگهداری آب ایزوله پروتئینی جوانه ماش را تحت تأثیر قرار داد ( $p \leq 0/05$ ). نتایج نشان داد که افزایش قدرت فراصوت ظرفیت نگهداری آب را بهبود بخشید. حداکثر ظرفیت نگهداری آب در سطوح توان ۲۵۰ و ۳۰۰ وات ( $0/5 \pm 4/5 \text{ mL/g}$ ) مشاهده شد. حداقل ظرفیت نگهداری آب نیز مربوط به توان فراصوت ۱۰-۱۵۰ وات ( $3 \text{ mL/g}$ ) بود که مقدار آن در این توان‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت ( $p > 0/05$ ). فراصوت با توان بالا پتانسیل زیادی برای کاهش اندازه ذرات پروتئین‌ها دارد و کاهش اندازه ذرات منجر به افزایش ظرفیت نگهداری آب می‌شود [۳ و ۲۷]. به نظر می‌رسد نیروهای برشی حفره‌ای و ریزجریان تولید شده در طول فراصوت، با تخریب پیوندهای بین یا درون مولکولی قادر به باز کردن ساختار محکم اگریگیت‌های پروتئینی در محیط‌های آبی هستند [۳]. بنابراین، هنگامی که توان فراصوت به ۲۰۰ - ۳۰۰ وات افزایش یافت، اندازه پروتئین کاهش یافت و در نتیجه ظرفیت نگهداری به بالاترین مقدار رسید.

### ۳-۱-۴- ظرفیت جذب روغن

ظرفیت جذب روغن به مقدار روغن جذب شده به ازای هر گرم پروتئین گفته می‌شود [۲۸]. شکل 2D نشان می‌دهد که تأثیر توان فراصوت بر ظرفیت جذب روغن ایزوله پروتئین جوانه ماش قابل توجه بود ( $p \leq 0/05$ ). نتایج نشان داد که بالاترین  $g/g$   $0/24 \pm 4/37$  و کمترین  $0/84 \pm 1/60$  میزان ظرفیت جذب روغن به ترتیب مربوط به توان‌های ۳۰۰ و ۱۰ وات بود. تفاوت معنی‌داری بین مقادیر ظرفیت جذب روغن در توان‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ وات وجود نداشت. برخی از عوامل محیطی و ساختاری می‌توانند ظرفیت جذب روغن را تحت تأثیر قرار دهند [۲۹]. عوامل محیطی شامل شرایط استخراج پروتئین و فاکتورهای ساختاری شامل ساختار ماتریس پروتئین، نوع لیپید [۲۸]، اندازه ذرات، مقدار پروتئین، نوع پروتئین و مقدار زنجیره جانبی آبگریز اسید آمینه در سطح مولکول پروتئین می‌باشند [۳۰]. مکانیسم جذب روغن توسط پروتئین‌ها اتصال فیزیکی

سطح مواد جامد، منجر به برخی اثرات فیزیکی می‌شود. این فروپاشی باعث تولید جت‌های پرسرعت مایعات و ایجاد آسیب‌های ناشی از موج ضربه‌ای می‌شود. چنین اثراتی می‌توانند باعث تکه‌تکه شدن مواد شکننده و فرسایش موضعی گردند. در مورد یک مخلوط مایع-جامد، کاویتاسیون صوتی و امواج ضربه‌ای سبب ماکروتوربولانس شدید، ریز اختلاط، برخورد‌های بین ذرات و در نتیجه افزایش کلی واکنش‌پذیری محیط می‌شوند. همچنین انتقال جرم ذرات جامد، به دلیل کاهش اندازه ذرات و انتشار بیشتر مواد جامد موجود در منافذ، افزایش یافته و مجموع این موارد سبب افزایش بازده استخراج می‌گردند [۲۰ و ۲۱]. مطابق با این نتایج، بلوال و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که با افزایش قدرت فراصوت از ۶۰ به ۲۰۰ وات، بازده استخراج آنتوسیانین‌ها از پوست میوه *pyrus communis* افزایش یافت [۱۱].

### ۳-۱-۲- حلالیت پروتئین

حلالیت یکی از ویژگی‌های مهم پروتئین است، زیرا می‌تواند سایر خواص عملکردی آن را تحت تأثیر قرار دهد [۲۲]. شکل 2B نشان می‌دهد که توان فراصوت تأثیر قابل توجهی بر حلالیت ایزوله پروتئین جوانه ماش دارد ( $p \leq 0/05$ ). بیشترین و کمترین حلالیت (به ترتیب  $0/100 \text{ ppm}$  و  $0/570 \pm 0/009 \text{ ppm}$ ) در توان فراصوت ۳۰۰ و ۱۰ وات به دست آمد. بنابراین، حلالیت پروتئین را می‌توان با افزایش توان فراصوت بهبود بخشید. افزایش مشاهده شده در حلالیت پروتئین احتمالاً به این دلیل است که امواج فراصوت با قدرت بالا برخی از نیروهای فیزیکی‌ای که سبب حفظ مولکول‌های پروتئین به صورت مجتمع می‌شوند را تخریب کرده و در نتیجه پروتئین‌های محلول کوچکتری ایجاد می‌کنند. علاوه بر این، فراصوت می‌تواند باعث ایجاد برخی تغییرات ساختاری در مولکول‌های پروتئین شده و شیمی سطح و در نتیجه حلالیت آنها در آب را تغییر دهد [۲۳]. حلالیت پروتئین‌ها با تشکیل پیوندهای الکترواستاتیک و هیدروژنی افزایش می‌یابد [۶ و ۲۴]. با کاهش اندازه ذرات و وزن مولکولی پروتئین‌ها در توان‌های بالاتر فراصوت، برهمکنش‌های پروتئین-آب بیشتری رخ می‌دهد [۳]. به‌طور کلی، نشان داده شده است که فراصوت با انرژی بالا می‌تواند حلالیت پروتئین استخراج شده از منابع غذایی مختلف را بهبود بخشد [۲۲]. این نتایج مشابه نتایج هو و همکاران (۲۰۱۵) در مورد استخراج ایزوله پروتئین سویا با استفاده از پیش تیمار فراصوت بود. آنها نشان دادند که حلالیت پروتئین با افزایش شدت

۲۰۰ وات، پایداری کف از  $2/53 \pm 8/915$  درصد به  $2/92 \pm 22/065$  درصد افزایش یافت. با بالا بردن توان از ۲۰۰ به ۳۰۰ وات، پایداری کف به طور قابل توجهی کاهش پیدا کرد. تفاوت معنی داری بین پایداری کف در توان‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ وات وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). پایداری کف با خواص رئولوژیکی پروتئین‌ها مرتبط است. محلول‌های پروتئینی که ویسکوزیته بالاتری دارند، می‌توانند یک لایه سطحی پایدار ایجاد کنند که باعث کاهش آب‌پس‌دهی می‌شود؛ بنابراین، پایداری کف بهبود می‌یابد. پایداری کف همچنین به توانایی تشکیل یک شبکه منسجم توسط برهمکنش‌های کووالانسی و غیرکووالانسی توسط پروتئین‌ها در سطح مشترک بستگی دارد. فراصوت با توان بالا به دلیل اثر کاویتاسیون موقت، ویسکوزیته را کاهش داده و برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین را از بین می‌برد که این مساله منجر به کاهش پایداری کف می‌شود. سطح بالای توان فراصوت به دلیل تخریب زنجیره‌های پروتئینی، وزن مولکولی را کاهش داده و باعث کم شدن دائمی ویسکوزیته می‌گردد. علاوه بر این، اگرگیتهای پروتئین نیز بر پایداری کف تأثیرگذارند. پس از جذب اگرگیتهای روی سطح مشترک مایع، ممکن است لایه‌های ویسکوالاستیک تشکیل شوند که به تثبیت کف کمک می‌کنند. اگر اگرگیتهای در فاز مایع بمانند می‌توانند شبکه‌های ژل ماندنی تشکیل دهند که از آب‌پس‌دهی جلوگیری کرده و باعث تثبیت کف می‌شوند. بنابراین، کاهش پایداری کف ایزوله پروتئینی در توان‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ وات ممکن است به دلیل ازهم‌گسیختگی اگرگیتهای نیز باشد [۳۵ و ۳۶]. نتایج مشابهی توسط تانگ و همکاران (۲۰۲۱) گزارش شده است. آنها نشان دادند که با افزایش توان فراصوت، پایداری کف پروتئین محلول در آب دانه *Moringa Oleifera* به طور قابل توجهی افزایش یافت و سپس با افزایش بیشتر توان فراصوت، پایداری کف کاهش پیدا کرد. آنها گزارش کردند که این مساله به دلیل افزایش حلالیت پروتئین توسط کاویتاسیون فراصوت است و پایداری کف با افزایش میزان پروتئین محلول بهبود می‌یابد؛ با این حال، کاهش فعالیت سطحی باعث کاهش پایداری کف می‌شود [۳۷].

به طور کلی، توان ۳۰۰ وات فراصوت منجر به بالاترین بازده استخراج، حلالیت، ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت جذب روغن و ظرفیت کف‌کنندگی شد. بنابراین، این توان به عنوان بهترین توان در نظر گرفته شد و بررسی اثر زمان پیش تیمار فراصوت در توان ۳۰۰ وات انجام شد.

روغن به اجزای پروتئین است و به تمایل زنجیره‌های پروتئینی غیرقطبی برای اتصال با چربی وابسته است [۳۱]. اتصال چربی همچنین تحت تأثیر اندازه پودر پروتئینی می‌باشد؛ به‌طوریکه پودرهای پروتئین کوچک و با چگالی کم در مقایسه با پودرهای پروتئینی با چگالی بالا روغن بیشتری را جذب کرده و به دام می‌اندازند [۳۲]. از آنجایی که توان بالاتر فراصوت اندازه ذرات پروتئین را کاهش می‌دهد [۳ و ۲۷]، در توان ۳۰۰ وات افزایش ظرفیت جذب روغن مشاهده شد. پاگلارینی و همکاران (۲۰۱۹) نتایج مشابهی را در رابطه با استخراج پروتئین ایزوله سویا با استفاده از فراصوت با شدت بالا گزارش کردند [۳۳].

### ۳-۱-۵- ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف

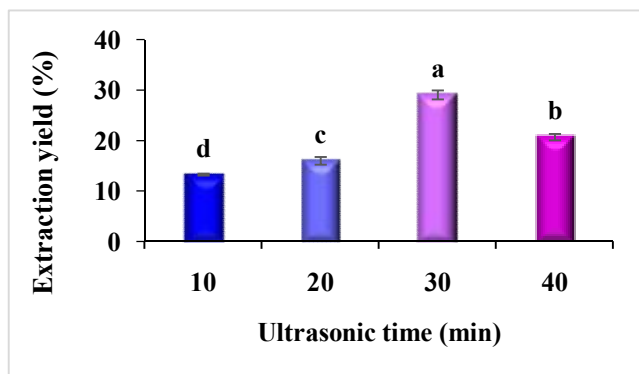
شکل 2E اثر توان‌های مختلف فراصوت بر روی ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئین جوانه ماش را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، با افزایش توان فراصوت از ۱۰ به ۳۰۰ وات ظرفیت کف‌کنندگی از  $2/82 \pm 22/00$  درصد به  $4/48 \pm 50/67$  درصد افزایش یافت ( $p \leq 0/05$ ). افزایش ظرفیت کف‌کنندگی پروتئین استخراج شده در اثر افزایش توان فراصوت می‌تواند با افزایش حلالیت پروتئین به دلیل افزایش پروتئولیز مرتبط باشد [۳۴]. تغییرات در ظرفیت کف‌کنندگی در سطوح مختلف توان، روندی مشابه با روند مشاهده شده در حلالیت پروتئین داشت که این فرضیه را تایید می‌کند. از طرف دیگر عوامل کنترل‌کننده تشکیل کف، که شامل انتقال، نفوذ و تشخیص مولکول‌ها در سطح مشترک هوا/آب هستند، تحت تأثیر اندازه مولکول‌ها بوده و با کاهش اندازه ذرات تشدید می‌شوند. بنابراین ظرفیت کف-کنندگی با کاهش اندازه ذرات افزایش می‌یابد [۲۷]. در نتیجه، بهبود ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئینی را می‌توان به کاهش اندازه ذرات به دلیل توان بالای فراصوت نسبت داد. مالک و همکاران (۲۰۱۷) نتایج مشابهی را برای ایزوله پروتئین استخراج شده از کنجاله آفتابگردان دی فنولیزه گزارش کردند.

پایداری کف، نشاندهنده توانایی یک پروتئین برای تشکیل کف پایدار در برابر تنش‌ها می‌باشد. کف‌های پایدار تمایل به مقاومت در برابر نفوذ گاز، آب پس‌دهی و نازک شدن مایع لاملای و شوک مکانیکی دارند. بر این اساس، کف‌های پروتئینی پایدار باید دارای لایه‌های بین سطحی باشند که با پیوند هیدروژنی و برهمکنش‌های الکترواستاتیک و آبریز منسجم شده‌اند [۲۸]. شکل 2F نشان می‌دهد که توان فراصوت به طور قابل توجهی بر پایداری کف ایزوله پروتئینی جوانه ماش تأثیر داشت ( $p \leq 0/05$ ). همانطور که مشاهده می‌شود، با افزایش توان فراصوت از ۱۰ به

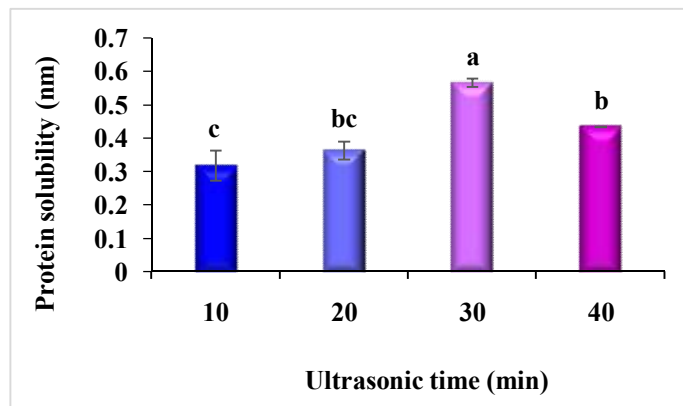


پروتئین جوانه ماش، پیش تیمار فراصوت در زمانهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه اعمال شد. شکل 3A-F تغییرات بازده استخراج و خواص عملکردی ایزوله پروتئینی را در زمانهای مختلف فراصوت نشان می‌دهد.

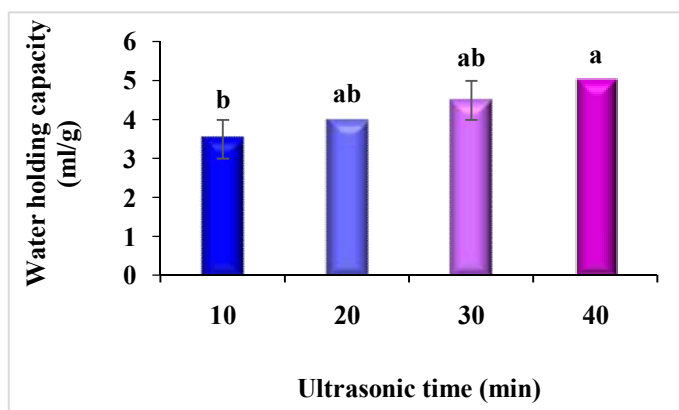
۳-۱- اثر زمان فراصوت بر ویژگی‌های عملکردی ایزوله پروتئین جوانه ماش  
برای بررسی اثر زمان فراصوت بر خواص عملکردی ایزوله



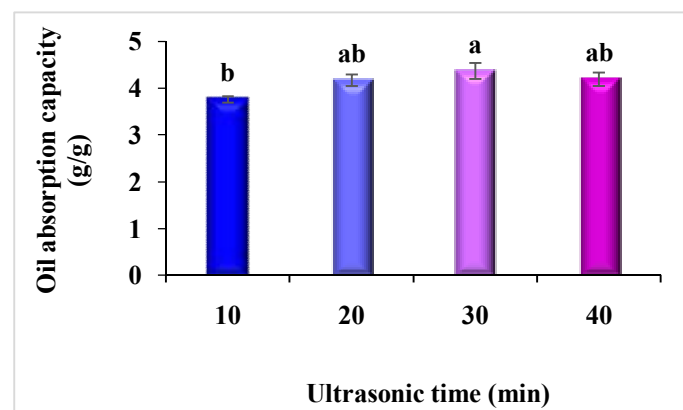
A



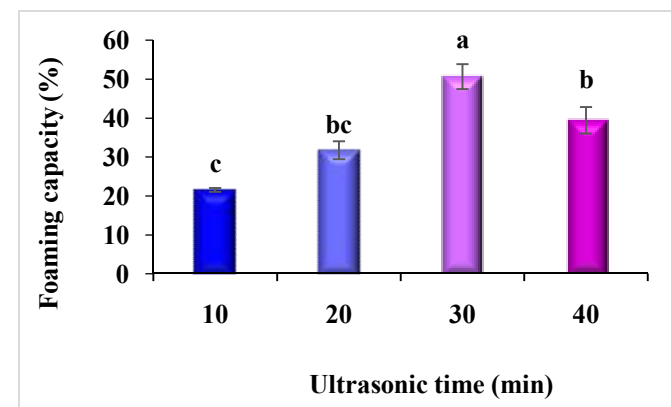
B



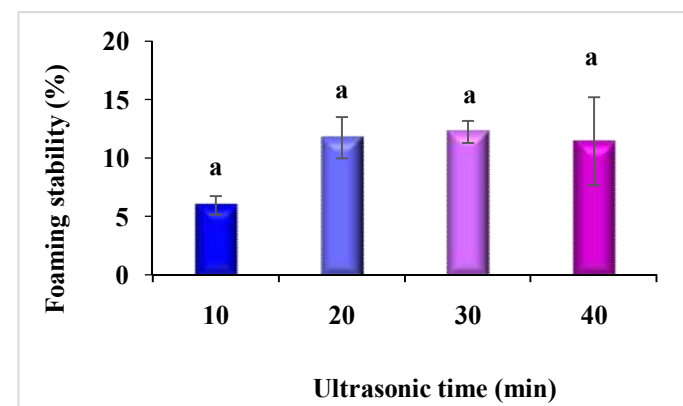
C



D



E



F

**Fig 3** Effect of ultrasonic time on the protein extraction yield (A), protein solubility (B), water holding capacity (C), oil absorption capacity (D), foaming capacity (E) and foaming stability (F) of SMPI. Error bars represent SE. The different letters above the bars show statistically significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

## ۳-۲-۱- بازده استخراج

به طور کلی، زمان استخراج نقش مهمی در بازده استخراج دارد [۱۳]. اثر زمان فراصوت بر بازده استخراج در شکل 3A نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، بازده استخراج پروتئین با افزایش زمان فراصوت به طور قابل توجهی افزایش یافت ( $p \leq 0/05$ ) و حداکثر بازده در زمان ۳۰ دقیقه به دست آمد. زمان کاویتاسیون طولانی سبب تجزیه کامل ذرات پروتئین شده و در نتیجه بازده استخراج را افزایش می‌دهد [۳۸]. با این حال، کاهش قابل توجهی در بازده استخراج پروتئین با افزایش زمان فراصوت به ۴۰ دقیقه مشاهده شد ( $p \leq 0/05$ ). کاهش بازده در این بازه زمانی احتمالاً به دلیل تغییرات شیمیایی ناشی از فراصوت در محیط آبی و تشکیل رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسیدها، یون‌های هیدروکسیل و هیدروژن‌های اتمی است که منجر به واکنش‌های اکسیداسیون و احیای ثانویه و کاهش بازده استخراج می‌شود [۱۹]. دلیل دیگر می‌تواند تخریب اجزای پروتئینی و تخریب ساختاری در طول سونیکاسیون طولانی مدت باشد [۳۹]. نتایج مشابهی توسط افتخار و همکاران (۲۰۲۰) در استخراج ترکیبات فنلی از سبوس چاودار گزارش شده است. آنها بیان کردند که با افزایش زمان فراصوت از ۱۰ به ۳۰ دقیقه، بازده استخراج افزایش یافت و سپس با افزایش زمان به ۵۰ دقیقه بازده کاهش پیدا کرد. این مشاهدات همچنین با یافته‌ها در رابطه با استخراج پروتئین بادام زمینی به کمک فراصوت مطابقت دارد. در تحقیق انجام شده در این رابطه مشاهده شد که بازده استخراج با افزایش زمان تا ۱۵ دقیقه زیاد شد و سپس با افزایش بیشتر زمان تا ۲۰ دقیقه، کاهش پیدا کرد [۳۸].

## ۳-۲-۲- حلالیت پروتئین

تغییرات حلالیت ایزوله پروتئین جوانه ماش با تغییر زمان فراصوت از ۱۰ تا ۴۰ دقیقه در شکل B3 نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، حلالیت پروتئین با افزایش زمان فراصوت از ۱۰ به ۳۰ دقیقه به طور قابل توجهی افزایش یافت، اما با افزایش بیشتر زمان فراصوت در محدوده ۳۰ تا ۴۰ دقیقه کاهش پیدا کرد. همانطور که پیش از این گفته شد، فراصوت اندازه ذرات پروتئین را کاهش داده و به دلیل افزایش سطح

برهمکنش بین پروتئین و مولکول‌های آب، حلالیت در آب را افزایش می‌دهد [۴۰]. از طرف دیگر مهم‌ترین تاثیر مخرب افزایش زمان فراصوت، دناتوره شدن کامل پروتئین، آسیب‌های ساختاری به آن در حین کاویتاسیون، تجمع مجدد آگریگت‌های تجزیه شده و در نتیجه افزایش جزئی اندازه ذرات است [۳]. در واقع افزایش زیاد زمان فراصوت می‌تواند به اندازه‌ای به پروتئین آسیب برساند که باعث از دست رفتن حلالیت آن شود [۲۲]. هاوونگ و همکاران (۲۰۱۹) نتایج مشابهی را در استخراج ایزوله پروتئین سویا با کمک فراصوت و اسید گزارش کردند. آنها نشان دادند که حلالیت با افزایش زمان فراصوت از ۰ تا ۱۰ دقیقه افزایش یافت. با این حال، زمان‌های طولانی‌تر فراصوت (۲۰ و ۳۰ دقیقه) تغییری در حلالیت پروتئین ایجاد نکرد [۴۱].

## ۳-۲-۳- ظرفیت نگهداری آب

ظرفیت نگهداری آب با افزایش زمان فراصوت از ۱۰ به ۴۰ دقیقه افزایش یافت (شکل 3C). تفاوت معنی‌داری بین ظرفیت نگهداری آب پروتئین‌های استخراج شده در زمانهای ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). برخی دیگر از محققان نیز گزارش کرده‌اند که فراصوت می‌تواند به طور قابل توجهی ظرفیت نگهداری آب را بهبود بخشد. این مساله به دلیل کاهش اندازه ذرات پروتئین و تشکیل ریزساختارهای متخلخل و یکنواخت است [۲۶ و ۴۲]. طی فرآیند فراصوت به دلیل کاویتاسیون، ساختارهای پروتئینی متخلخل تری تشکیل می‌شوند. آب از طریق این حفره‌ها نفوذ کرده و آب‌دوستی سطح پروتئین بیشتر می‌شود [۴۳]؛ بنابراین ظرفیت نگهداری آب افزایش می‌یابد. علاوه بر این، گرمای تولید شده توسط کاویتاسیون می‌تواند ساختار پروتئین را باز کرده، زنجیره‌های جانبی‌ای را که می‌توانند به آب متصل شوند در معرض آب قرار دهد و در نتیجه ظرفیت نگهداری آب را بهبود بخشد [۳۸]. کاهش اندازه پودر ایزوله پروتئینی جوانه ماش در زمان‌های مختلف فراصوت نشان می‌دهد که به دلیل تجمع ضعیف ذرات، فراصوت می‌تواند برای کاهش تجمع ذرات پودر اولیه استفاده شود [۴۴]. وو و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که با افزایش زمان فراصوت، اندازه پروتئین کاهش یافت و کاهش اندازه ذرات باعث افزایش ظرفیت نگهداری آب شد [۴۵].

## ۳-۲-۴- ظرفیت جذب روغن

نتایج آنالیز آماری نشان داد که زمان فراصوت به طور قابل توجهی بر ظرفیت جذب روغن تأثیر می‌گذارد (شکل 3D). با افزایش زمان فراصوت از ۱۰ به ۳۰ دقیقه ظرفیت جذب روغن از  $0.98 \pm 0.37$  g/g به  $4.37 \pm 0.24$  g/g افزایش و سپس اندکی کاهش یافت. تفاوت معنی داری بین مقادیر ظرفیت جذب روغن در زمان‌های فراصوت ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دقیقه وجود نداشت. مکانیسم جذب روغن توسط پروتئین‌ها پیوند روغن با اجزای پروتئین است و مرتبط با تمایل زنجیره‌های پروتئینی غیرقطبی به پیوند با چربی می‌باشد [۳۱]. باز شدن جزئی و دناتوره شدن پروتئین‌ها (همانطور که در تجزیه و تحلیل DSC در بخش ۳-۴ مورد بحث قرار خواهد گرفت)، تشکیل شبکه مناسب برای به دام انداختن قطرات روغن را تسهیل می‌کند [۳]. بنابراین، با افزایش مدت زمان فراصوت، مقدار ظرفیت جذب روغن افزایش می‌یابد.

## ۳-۲-۵- ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف

شکل 3E نشان می‌دهد که با افزایش زمان فراصوت از ۱۰ به ۳۰ دقیقه، ظرفیت کف‌کنندگی از  $0.60 \pm 21.57$  درصد به  $4.84 \pm 50.67$  درصد افزایش یافت. از سوی دیگر، روند تغییرات ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئینی استخراج شده در زمان‌های مختلف فراصوت مشابه روند تغییرات حلالیت بود. بنابراین زیاد شدن ظرفیت کف‌کنندگی پروتئین با افزایش زمان فراصوت می‌تواند با افزایش حلالیت پروتئین توسط پروتئولیز مرتبط باشد [۳۴]. علاوه بر این، افزایش ظرفیت کف‌کنندگی ممکن است با افزایش تاخوردگی جزئی ساختار پروتئین و کاهش اندازه پروتئین ارتباط داشته باشد [۳]. مشابه با این نتایج، تان و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش دادند که زمان طولانی‌تر فراصوت سبب افزایش ظرفیت کف‌کنندگی پروتئین آب پنیر شد [۴۶].

همانطور که در شکل 3F نشان داده شده است، پایداری کف به طور قابل توجهی تحت تأثیر مدت زمان فراصوت قرار نگرفت ( $p > 0.05$ ). پایداری کف به توانایی تشکیل یک شبکه منسجم توسط برهمکنش‌های کووالانسی و غیرکووالانسی توسط پروتئین‌ها در سطح مشترک بستگی دارد و زمان فراصوت بر این برهم‌کنش‌ها تأثیری ندارد [۳۵]. به گفته چیتاپالو و همکاران

(۲۰۰۹)، تیمار فراصوت اثر قابل توجهی بر پایداری کف پروتئین حاصل از سبوس برنج بدون چربی نداشت [۲۰]. با توجه به تأثیر مدت زمان فراصوت بر ویژگی‌های عملکردی ایزوله پروتئین جوانه ماش، زمان ۳۰ دقیقه به‌عنوان مدت زمان بهینه انتخاب شد.

## ۳-۳- تجزیه و تحلیل طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

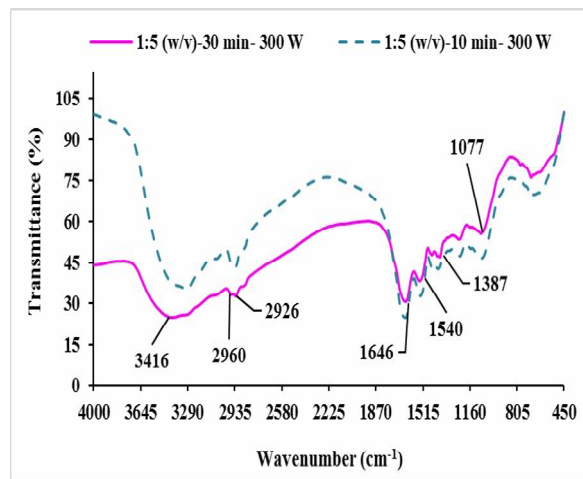
طیف سنجی FTIR یک ابزار مهم برای مطالعه ساختار ثانویه پروتئین‌ها است و برای ارائه اطلاعات در مورد ترکیب ساختاری آنها استفاده می‌شود [۴]. FTIR می‌تواند تخریب و تغییرات احتمالی در ساختار ایزوله پروتئین جوانه ماش به دلیل پیش‌تیمار فراصوت با شدت بالا را نشان دهد. طیف FTIR ایزوله پروتئینی استخراج‌شده در زمان‌های ۱۰ و ۳۰ دقیقه در توان فراصوت ۳۰۰ وات و در توان‌های فراصوت ۱۰ و ۳۰۰ وات در زمان ۳۰ دقیقه به ترتیب در شکل‌های 4A و 4B نشان داده شده است. پیوندهای پهن در  $3416 \text{ cm}^{-1}$  و  $3299 \text{ cm}^{-1}$  (شکل 3A) و  $3416 \text{ cm}^{-1}$  و  $3413 \text{ cm}^{-1}$  (شکل 3B) مربوط به امید A هستند [۴۷]. پیوندهای مشابهی در طیف FTIR بخش‌های پروتئینی دانه نیلوفر آبی و کنجاله کاملینا گزارش شده است [۴۸]. پیک‌های ضعیف در  $2960 \text{ cm}^{-1}$  (شکل 4A)،  $2960 \text{ cm}^{-1}$  و  $2959 \text{ cm}^{-1}$  (شکل 4B) را می‌توان به ارتعاش کششی نامتقارن  $\text{CH}_3$  نسبت داد [۴۹]. پیک‌های کوچک در  $2926$ ،  $2926 \text{ cm}^{-1}$ ،  $2928 \text{ cm}^{-1}$  و  $2927 \text{ cm}^{-1}$  (به ترتیب شکل 4A و 4B) به ارتعاشات نامتقارن  $\text{CH}_2$ -مربوطند [۴۹]. پیوندهای مربوط به گروه‌های  $\text{CH}_3$  و  $\text{CH}_2$ - در زنجیره آلیفاتیک پروتئین‌ها و لیپیدها یافت شده است [۵۰]. پیوندهای  $1641 \text{ cm}^{-1}$  و  $1644 \text{ cm}^{-1}$  (شکل 4A)،  $1646 \text{ cm}^{-1}$  و  $1641 \text{ cm}^{-1}$  (شکل 4B) به ترتیب با ارتعاشات کششی گروه‌های  $\text{C}=\text{O}$  و  $\text{C}-\text{N}$  مرتبط هستند که معمولاً به امید I اختصاص پیدا می‌کنند [۵۰ و ۵۱]. پیوند امید I در ساختار ثانویه پروتئین‌ها نشان داد که پیک‌های واقع در  $1638$ - $1645 \text{ cm}^{-1}$  و  $1645$ - $1662 \text{ cm}^{-1}$  به ترتیب مربوط به کوئل تصادفی و مارپیچ  $\alpha$  هستند [۴۷]. نتایج نشان داد که با افزایش توان و زمان فراصوت، ساختار مارپیچ  $\alpha$  به ساختار کوئل تصادفی تبدیل شد. ساختار

از خمش درون صفحه C-O و ارتعاش کششی C-C، نشاندهنده پیک جذبی آمید III می‌باشند [۵۲]. پیوندهای جذبی در  $\text{cm}^{-1}$  ۱۰۷۷،  $\text{cm}^{-1}$  ۱۰۷۷ و  $\text{cm}^{-1}$  ۱۰۶۸ (شکل 4A و 4B) ناشی از ارتعاشات پیوندهای OH، CO، CC، COH، CCH و POC لیپیدها و پروتئین‌ها هستند [۵۳].

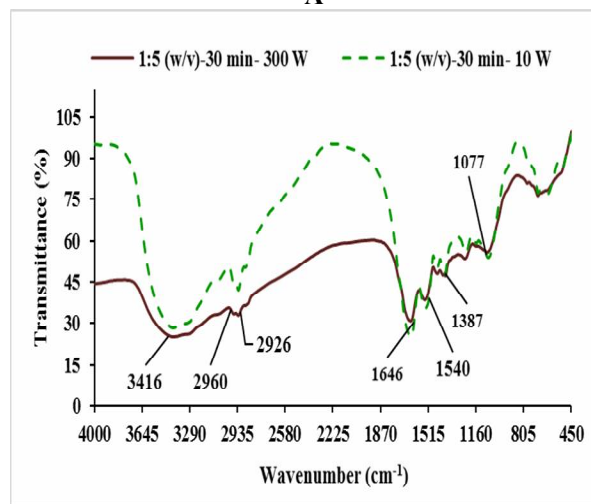
### ۳-۱- آنالیز گرماسنجی روبشی تفرقی (DSC)

خواص حرارتی ایزوله پروتئین جوانه ماش به شدت بر خواص عملکردی آن تأثیر می‌گذارد. بنابراین، اطلاعات مربوط به تغییرات حرارتی پروتئین در طول فرایند فراصوت با توان بالا می‌تواند در طراحی سیستم‌های پردازش مواد غذایی مفید باشد [۳]. پایداری حرارتی یک پروتئین، که مقاومت آن را در برابر تجمع پس از حرارت نشان می‌دهد، با آنتالپی دناوراسیون ( $\Delta H$ ) نشان داده می‌شود. به عبارت دیگر،  $\Delta H$  مقدار گرمای مورد نیاز برای دناوره شدن است [۶ و ۱۶]. مقادیر  $\Delta H$  ایزوله پروتئینی استخراج شده در توان‌های ۱۰ و ۳۰۰ وات- زمان ۳۰ دقیقه و در توان ۳۰۰ وات- زمان ۱۰ دقیقه با استفاده از ترموگرام‌های DSC محاسبه شد (شکل 5A-C). همه نمونه‌های ایزوله پروتئین جوانه ماش یک پیک گرماگیر را نشان دادند؛ زیرا دناوراسیون شامل جداسازی پیوندهای درون مولکولی (پیوندهای غیر کووالانسی و در برخی موارد، پیوندهای کووالانسی (دی سولفیدی)) است و بنابراین یک فرآیند گرماگیر است [۵۴]. بر اساس نتایج، ایزوله پروتئینی به دست آمده از ۳۰۰ وات- ۳۰ دقیقه نسبت به ۱۰ وات- ۳۰ دقیقه و ۳۰۰ وات- ۱۰ دقیقه  $\Delta H$  کمتری داشت. بنابراین،  $\Delta H$  در زمان فراصوت طولانی‌تر و توان شدیدتر کاهش می‌یابد. این مساله ممکن است نتیجه تغییرات ساختاری در پروتئین به دلیل شدت پدیده کاویتاسیون باشد [۵۵]. کارکی و همکاران (۲۰۰۹) نیز به این نتیجه رسیدند که در زمان‌های طولانی‌تر و قدرت فراصوت بالاتر دناوراسیون بیشتری رخ می‌دهد. آنها دریافتند که مقادیر  $\Delta H$  ایزوله پروتئین پرک سویای تیمار شده با فراصوت با قدرت بالا کاهش یافت. از سوی دیگر،  $\Delta H$  کمتر در تیمار ۳۰۰ وات- ۳۰ دقیقه ممکن است نتیجه برهمکنش‌های آب‌گیر/آب دوست مولکول‌های پروتئین باشد [۶].

کویل تصادفی با گروه‌ها و نواحی آبگریزتر در داخل مولکول‌ها که در معرض خارج قرار گرفته‌اند، مرتبط است [۱۰]. پیوندهای واقع در  $\text{cm}^{-1}$  ۱۵۳۷،  $\text{cm}^{-1}$  ۱۵۴۰،  $\text{cm}^{-1}$  ۱۵۳۵،  $\text{cm}^{-1}$  ۱۵۴۰ و  $\text{cm}^{-1}$  ۱۵۳۷ (شکل 4B) به خمش N-H در صفحه، ارتعاشات کششی C-N و ارتعاشات کششی C-C نسبت داده می‌شوند که منطقه آمید II را نشان می‌دهد [۵۱].



A



B

**Fig 4** The FTIR spectra of SMPI extracted at sonication times of 10 and 30 min at ultrasound power of 300 W (A) and sonication power of 10 and 300 W at sonication time of 30 min (B)

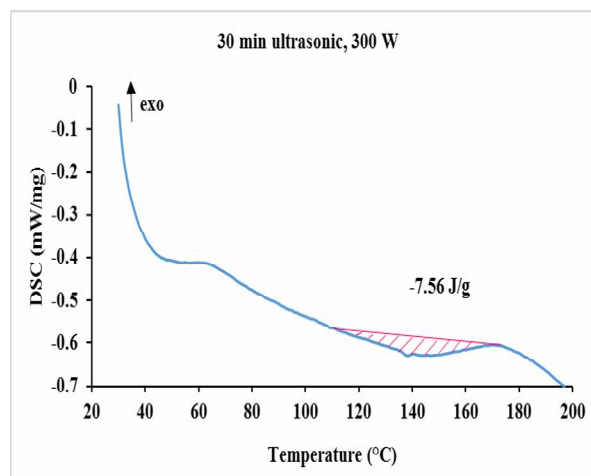
بیشتر پروتئین‌های گیاهی دارای مناطق پیوندی مشابه آمید I ( $\text{cm}^{-1}$  ۱۶۳۰-۱۶۶۰) و آمید II ( $\text{cm}^{-1}$  ۱۵۲۰-۱۵۵۰) هستند [۴۸]. پیوندهای واقع در  $\text{cm}^{-1}$  ۱۳۸۷ (شکل 4A) و  $\text{cm}^{-1}$  ۱۳۸۷ و  $\text{cm}^{-1}$  ۱۳۸۸ (شکل 4B) مربوط به حالت درون فازی همراه با خمش N-H و ارتعاشات کششی C-N با سهم کوچکی

پدیده کاویتاسیون باعث از بین رفتن بر همکنش‌های آبرگیز و در نتیجه کاهش آنتالپی می‌شود. گرمای ایجاد شده توسط کاویتاسیون برخی از نیروها را مختل می‌کند. این نیروها مسئول پایداری ساختارهای سوم و/یا ثانویه از جمله برهمکنش‌های هیدروژنی بین گروه‌های قطبی و برهمکنش‌های گروه‌های غیر-قطبی (آبرگیز) با مولکول‌های آب اطراف هستند که قفس‌هایی را در اطراف گروه‌های آبرگیز ایجاد می‌کنند. فرآیند دناتوراسیون به میزان کمتری شامل پیوندهای الکترواستاتیکی و برهمکنش‌های واندوالس نیز می‌باشد [۵۴].

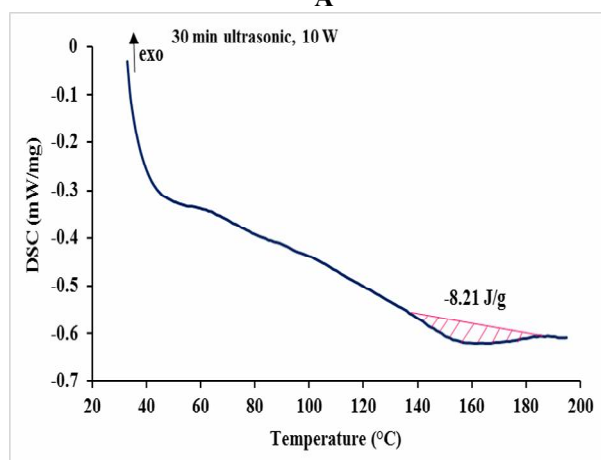
### ۳-۵- تجزیه و تحلیل تصاویر میکروسکوپ

#### الکترونی روبشی

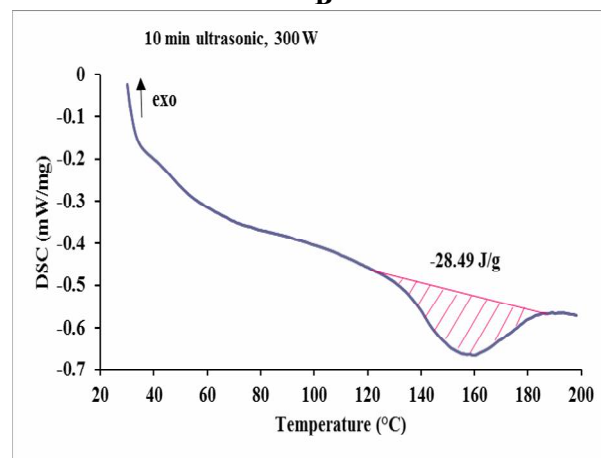
ریزساختار بافت پودر جوانه ماش پس از استخراج پروتئین با ضریب بزرگنمایی  $\times 1000$  در شکل 6A-D نشان داده شده است. تصاویر نشان می‌دهد که ساختار پودر باقیمانده پس از فراصوت در توان ۱۰ وات به مدت ۳۰ دقیقه با سایر تیمارها متفاوت بود و دیواره‌های سلولی تقریباً دست نخورده و یکپارچه باقی مانده بودند. شکل 6B نشان می‌دهد که تحت فراصوت ۳۰۰ وات، یکنواختی سطح مشاهده شده در شکل 6A از بین رفته است. برخی از ذرات در یک ردیف در کنار یکدیگر قرار دارند و در برخی نقاط سوراخ‌های بزرگی بین آنها ایجاد شده است. تخریب بافت‌های نمونه با افزایش قدرت فراصوت را می‌توان به افزایش تعداد حفره‌ها و فروپاشی قوی‌تر در سطوح توان بالاتر نسبت داد [۵۶]. مقایسه شکل‌های 6B و 6C نشان می‌دهد که در توان ۳۰۰ وات، ساختار باقیمانده پودر ماش جوانه زده پس از ۳۰ دقیقه سونیکاسیون در مقایسه با ۱۰ دقیقه متخلخل‌تر بود. این ساختار متخلخل به دلیل انفجار ناشی از کاویتاسیون فراصوت ایجاد شده است. تخریب شدید منجر به مهاجرت اجزای مورد نظر به داخل حلال شده و باعث بازده بیشتر استخراج پروتئین در زمان فراصوت ۳۰ دقیقه در مقایسه با ۱۰ دقیقه می‌گردد [۵۷]. این نتیجه مطابق با یافته‌های چمات و همکاران (۲۰۰۴) است. این محققین ساختار سلولی کارون و لیمونن دانه‌های زیره طی ۳۰ و ۶۰ دقیقه فراصوت را مقایسه کرده و گزارش دادند که پس از ۶۰ دقیقه، تمام دیواره‌های سلولی کاملاً آسیب دیده بودند [۵۸].



A

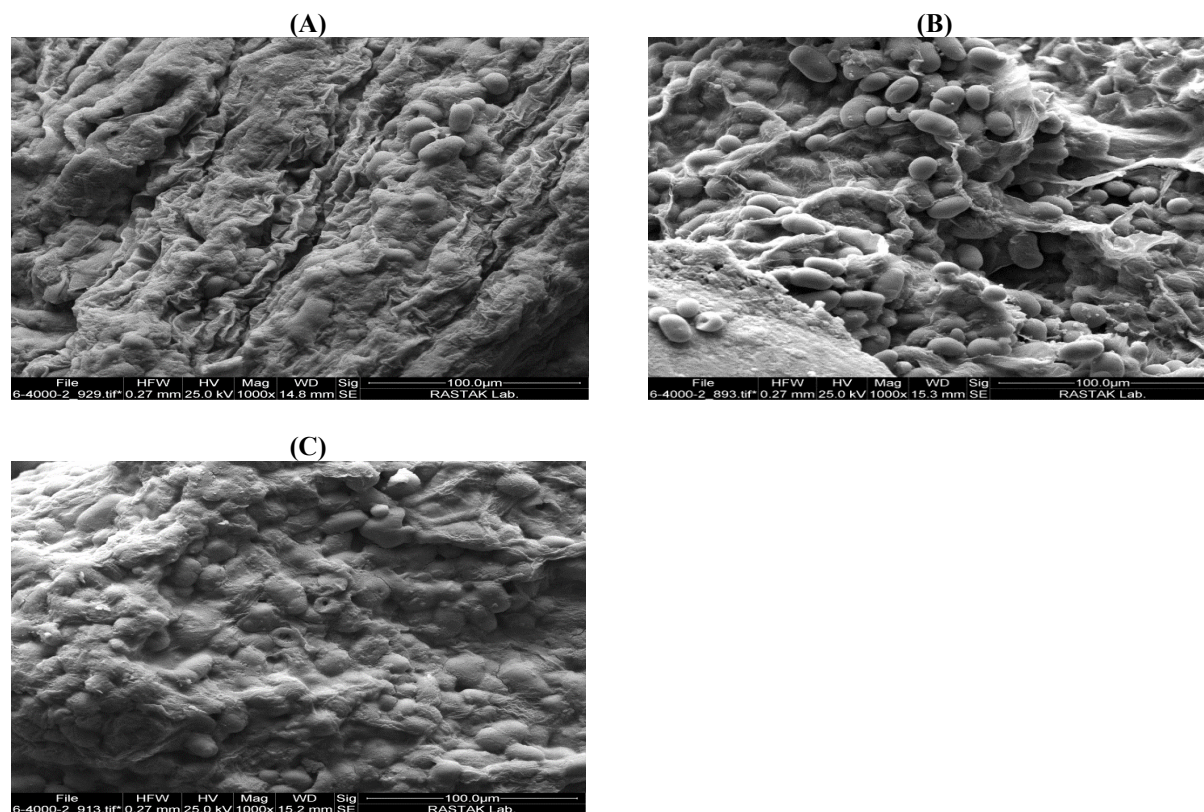


B



C

**Fig 5** DSC thermograms obtained from three different SMPI treatments of 30 min sonication at the power of 300 W (A), 30 min sonication at the power of 10 W (B), and 10 min sonication at the power of 300 W (C).



**Fig. 6.** SEM images of sprouted mung bean powder residues after 30 min sonication at the power of 10 W (A), 30 min sonication at the power of 300 W (B) 10 min sonication at the power of 300 W (C)

متخلخل بیشتری تشکیل می‌شوند. بر اساس نتایج به دست آمده، خواص عملکردی ایزوله پروتئینی جوانه ماش برای استفاده به عنوان یک ماده غذایی را می‌توان با پیش تیمار فراصوت با توان بالا، که یک فرآیند استخراج سبز است، افزایش داد.

#### ۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان از شرکت هرند آرد برای انجام برخی آزمایش‌ها و سیمین نان برای تهیه نمونه‌های آرد تشکر می‌کنند.

#### ۶- منابع

- [1] Ohanenye, IC, Tsopmo, A, Ejike, CECC, Udenigwe, CC. 2020. Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional prospects of legume proteins. *Trends Food Sci. Technol*; 101: 213–22. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.003>
- [2] Richter, CK, Skulas-Ray, AC, Champagne, CM, Kris-Etherton, PM. 2015. Plant protein and animal proteins: Do they differentially

#### ۴- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق از پیش تیمار فراصوت با شدت بالا برای استخراج پروتئین از ماش جوانه زده استفاده شد. اثر توان و زمان فراصوت بر بازده استخراج، حلالیت، ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت جذب روغن، ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف ایزوله پروتئین جوانه ماش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش توان فراصوت از ۱۰ به ۳۰۰ وات منجر به افزایش بازده استخراج پروتئین، حلالیت، ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت جذب روغن و ظرفیت کف‌کنندگی شد. علاوه بر این، افزایش مدت زمان فراصوت از ۱۰ به ۳۰ دقیقه، بازده استخراج پروتئین، حلالیت، ظرفیت جذب روغن و ظرفیت کف‌کنندگی را افزایش داد. بر اساس طیف FTIR، با افزایش توان و زمان فراصوت ساختار ماریچ  $\alpha$  به ساختار کوئیل تصادفی تبدیل شد. همچنین طبق نتایج DSC، قدرت بالاتر و زمان طولانی‌تر فراصوت باعث دنا توره شدن پروتئین شد. علاوه بر این، با توجه به تصاویر SEM، با زمان طولانی‌تر و قدرت فراصوت بالاتر ساختارهای پروتئینی



- [10] Byanju, B, Rahman, MM, Hojilla-Evangelista, MP, Lamsal, BP. 2020. Effect of high-power sonication pretreatment on extraction and some physicochemical properties of proteins from chickpea, kidney bean, and soybean. *Int. J. Biol. Macromol*; 145: 712–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.118>
- [11] Belwal, T, Huang, H, Li, L, Duan, Z, Zhang, X, Aalim, H, Luo, Z. 2019. Optimization model for ultrasonic-assisted and scale-up extraction of anthocyanins from *Pyrus communis* 'Starkrimson' fruit peel. *Food Chem*; 297(June): 124993. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124993>
- [12] Cevallos-Casals, BA, Cisneros-Zevallos, L. 2010. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chem*; 119(4): 1485–90. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.030>
- [13] Wali, A, Wubulikasimu, A, Mirzaakhmedov, S, Gao, Y, Omar, A, Arken, A, Yili, A, Aisa, HA. 2019. Optimization of scorpion protein extraction and characterization of the proteins' functional properties. *Molecules*; 24(22): 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules24224103>
- [14] Tsumura, K, Saito, T, Tsuge, K, Ashida, H, Kugimiya, W, Inouye, K. 2005. Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis. *LWT - Food Sci. Technol*; 38(3): 255–61. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.06.007>
- [15] Barba, FJ, Boussetta, N, Vorobiev, E. 2015. Emerging technologies for the recovery of isothiocyanates, protein and phenolic compounds from rapeseed and rapeseed press-cake: Effect of high voltage electrical discharges. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol*; 31: 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.06.008>
- [16] Kaushik, P, Dowling, K, McKnight, S, Barrow, C. J, Wang, B, Adhikari, B. 2016. Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate. *Food Chem*; 197: 212–20. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.106>
- affect cardiovascular disease risk? *Adv. Nutr*; 6(6): 712–28. <https://doi.org/10.3945/an.115.009654>
- [3] Gharibzahedi, SMT, & Smith, B. 2020. The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. *Trends Food Sci. Technol*; 98: 107–16. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.002>
- [4] Du, M, Xie, J, Gong, B, Xu, X, Tang, W, Li, X, Li, C, Xie, M. 2018. Extraction, physicochemical characteristics and functional properties of Mung bean protein. *Food Hydrocoll*; 76: 131–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.003>
- [5] Hoque, MS, Benjakul, S, Prodpran, T, Songtipya, P. 2011. Properties of blend film based on cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin and mungbean protein isolate. *Int. J. Biol. Macromol*; 49(4): 663–73. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.06.028>
- [6] Feyzi, S, Milani, E, Golimovahhed, QA. 2018. Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Protein Isolate: The Effect of Extraction Optimization and Drying Methods on the Structure and Functional Properties. *Food Hydrocoll*; 74: 187–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.031>
- [7] Paucar-Menacho, L. M, Peñas, E, Dueñas, M, Frias, J, Martínez-Villaluenga, C. 2017. Optimizing germination conditions to enhance the accumulation of bioactive compounds and the antioxidant activity of kiwicha (*Amaranthus caudatus*) using response surface methodology. *LWT - Food Sci. Technol*; 76: 245–52. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.038>
- [8] Ebert, AW, Chang, CH, Yan, MR, Yang, RY. 2017. Nutritional composition of mungbean and soybean sprouts compared to their adult growth stage. *Food Chem*; 237: 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.073>
- [9] Wen, C, Zhang, J, Yao, H, Zhou, J, Duan, Y, Zhang, H, Ma, H. 2019. Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication. *Ultrason. Sonochem*; 53(December): 83–98. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.12.036>

- Polym. Sci*; 265(10): 911–15. <https://doi.org/10.1007/BF0142182>
- [25] Hu, H, Cheung, IWY, Pan, S, Li-Chan, ECY. 2015. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties of aggregated soybean  $\beta$ -conglycinin and glycinin. *Food Hydrocoll*; 45: 102–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.004>
- [26] Wu, W, Hua, Y, Lin. 2014. Effects of oxidative modification on thermal aggregation and gel properties of soy protein by malondialdehyde. *J. Food Sci. Technol*; 51(3): 485–93. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0533-7>
- [27] Malik, MA, Sharma, HK, Saini, CS. 2017. High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties. *Ultrason. Sonochem*; 39: 511–19. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.05.026>
- [28] Lam, ACY, Can Karaca, A, Tyler, RT, Nickerson, MT. 2018. Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. *Food Res. Int*; 34(2): 126–47. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1242135>
- [29] Bamdad, F, Dokhani, S, Keramat, J. 2009. Functional assessment and subunit constitution of Lentil (*lens culinaris*) proteins during Germination. *Int. J. Agric. Biol*; 11(6): 690–94.
- [30] Du, S, kui, Jiang, H, Yu, X, Jane, lin, J. 2014. Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT - Food Sci. Technol*; 55(1): 308–13. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.001>
- [31] Ravaghi, M, Tehrani, MM Asudeh, A. 2010. Evaluation of the operational characteristics of four types of soy flour. *Iran J Sci Technol*; 6(3): 223–28.
- [32] Zayas, JF, Zayas, JF. Oil and Fat Binding Properties of Proteins. 1997. *Funct. Proteins Food*; 1: 228–59. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-59116-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-642-59116-7_5)
- [33] Paglarini, CS, Martini, S, Pollonio, MAR. 2019. Physical properties of emulsion gels formulated with sonicated soy protein isolate. *Int. J. Food Sci. Technol*; 54(2): 451–59. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13957>
- [34] Franzen, KL, Kinsella, JE. 1976. Functional Properties of Succinylated and Acetylated Soy
- [17] Shahram, H, Dinani, ST, Amouheydari, M. 2019. Effects of pectinase concentration, ultrasonic time, and pH of an ultrasonic-assisted enzymatic process on extraction of phenolic compounds from orange processing waste. *J. Food Meas. Charact*; 13(1): 487–98. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9962-6>
- [18] Maher, M, Taghian Dinani, S, Shahram, H. 2020. Extraction of phenolic compounds from lemon processing waste using electrohydrodynamic process. *J. Food Meas. Charact*; 14(2): 749–60. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00323-0>
- [19] Chukwumah, YC, Walker, LT, Verghese, M, Ogutu, S. 2009. Effect of frequency and duration of ultrasonication on the extraction efficiency of selected isoflavones and trans-resveratrol from peanuts (*Arachis hypogaea*). *Ultrason. Sonochem*; 16(2): 293–99. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2008.07.007>
- [20] Chemat, F, Rombaut, N, Sicaire, A, Meullemiestre, A, Abert-vian, M. 2016. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Ultrason. Sonochem*; <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- [21] Khadhraoui, B, Ummat, V, Tiwari, BK, Fabiano-tixier, AS, Chemat, F. 2021. Ultrasonics Sonochemistry Review of ultrasound combinations with hybrid and innovative techniques for extraction and processing of food and natural products. *Ultrason. Sonochem*; 76: 105625. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105625>
- [22] Higuera-Barraza, OA, Del Toro-Sanchez, CL, Ruiz-Cruz, S, Márquez-Ríos, E. 2016. Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. *Ultrason. Sonochem*; 31: 558–62. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.02.007>
- [23] Zhu, Z, Zhu, W, Yi, J, Liu, N, Cao, Y, Lu, J, Andrew, E, Julian, D. 2018. Effects of sonication on the physicochemical and functional properties of walnut protein isolate. *Food Res. Int*; 106: 853–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.060>
- [24] Makino, K, Ohshima, H, Kondo, T. 1987. Electrostatic interaction of ion-penetrable membranes. Effects of ionic solubility. *Colloid*



- Acid-induced gelation behavior of soybean protein isolate with high intensity ultrasonic pre-treatments. *Ultrason. Sonochem.*; 20(1): 187–195.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.011>
- [43] Kaji, R, Muranaka, Y, Otsuka, K, Hishinuma, Y. 1986. Water absorption by coals: effects of pore structure and surface oxygen. *Fuel*; 65(2): 288–91.  
[https://doi.org/10.1016/0016-2361\(86\)90023-2](https://doi.org/10.1016/0016-2361(86)90023-2)
- [44] Sompech, S, Srion, A, Nuntiya, A. 2012. The effect of ultrasonic treatment on the particle size and specific surface area of LaCoO<sub>3</sub>. *Procedia Eng*; 32: 1012–18.  
<https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.02.047>
- [45] Wu, C, Ma, W, Chen, Y, Navicha, WB, Wu, D, Du, M. 2019. The water holding capacity and storage modulus of chemical cross-linked soy protein gels directly related to aggregates size. *LWT - Food Sci. Technol*; 103: 125–30.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.064>
- [46] Tan, MC, Chin, NL, Yusof, YA, Abdullah, J. 2016. Effect of high power ultrasonic treatment on whey protein foaming quality. *Int. J. Food Sci. Technol*; 51(3): 617–24.  
<https://doi.org/10.1111/ijfs.13013>
- [47] Hou, F, Ding, W, Qu, W, Oladejo, AO, Xiong, O, Zhang, W, He, R, Ma, H. 2017. Alkali solution extraction of rice residue protein isolates: Influence of alkali concentration on protein functional, structural properties and lysinoalanine formation. *Food Chem*; 218: 207–15.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.064>
- [48] Rodsamran, P, Sothornvit, R. 2018. Physicochemical and functional properties of protein concentrate from by-product of coconut processing. *Food Chem*; 241: 364–71.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.116>
- [49] Palaniappan, PR, Vijayasundaram, V. 2008. FTIR study of arsenic induced biochemical changes on the liver tissues of fresh water fingerlings Labeo rohita. *Rom. J Biophysy*; 18(2): 135–44.
- [50] Su, JF, Huang, Z, Yuan, XY, Wang, XY, Li, M. 2010. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard Protein. *J. Agric. Food Chem*; 24(4): 788–95.  
<https://doi.org/10.1021/jf60206a036>
- [35] Ren, XLiC, Yang, F, Huang, Y, Huang, C, Zhang, K. 2020. Comparison of hydrodynamic and ultrasonic cavitation effects on soy protein isolate functionality. *J. Food Eng*; 265: 109697.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109697>
- [36] Sheng, L, Wang, Y, Chen, J, Zou, J, Wang, Q, Ma, M. 2018. Influence of high-intensity ultrasound on foaming and structural properties of egg white. *Food Res. Int*; 108, 604-10.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.007>
- [37] Tang, S, Du, Q, Fu, Z. 2021. Ultrasonics Sonochemistry Ultrasonic treatment on physicochemical properties of water-soluble protein from Moringa oleifera seed. *Ultrason. Sonochem*; 71(September 2020): 105357.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105357>
- [38] Nguyen, DQ, Mounir, S, Allaf, K, Allaf, K. 2019. Functional Properties of Water Holding Capacity, Oil Holding Capacity, Wettability, and sedimentation of swell-dried soy bean powder. *Sch. J. Eng. Tech*; 3: 402–12.
- [39] Iftikhar, M, Zhang, H, Iftikhar, A, Raza, A, Begum, N, Tahamina, A, Syed, H, Khan, M, Wang, J. 2020. Study on optimization of ultrasonic assisted extraction of phenolic compounds from rye bran. *LWT - Food Sci. Technol*; 134: 110243.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110243>
- [40] Martínez-Velasco, A, Lobato-Calleros, C, Hernández-Rodríguez, BE, Román-Guerrero, A, Alvarez-Ramirez, J, Vernon-Carter, EJ. 2018. High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrason. Sonochem*; 44: 97–105.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.007>
- [41] Huang, L, Ding, X, Li, Y, Ma, H. 2019. The aggregation, structures and emulsifying properties of soybean protein isolate induced by ultrasound and acid. *Food Chem*; 279(301): 114–119.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.147>
- [42] Hu, H, Fan, X, Zhou, Z, Xu, X, Fan, G, Wang, L, Huang, X, Pan, S, Zhu, L. 2013.

2009. Functional properties of soy protein isolates produced from ultrasonicated defatted soy flakes. *JAACS, JAACS, J. Am. Oil Chem. Soc*; 86(10): 1021–28. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1433-0>
- [56] Purohit, AJ, & Gogate, PR. 2015. Ultrasound-Assisted Extraction of  $\beta$ -Carotene from Waste Carrot Residue: Effect of Operating Parameters and Type of Ultrasonic Irradiation. *Sep. Sci. Technol*; 50(10): 1507–17. <https://doi.org/10.1080/01496395.2014.978472>
- [57] Chen, Z, Wang, J, Liu, W, Chen, H. 2017. Physicochemical characterization, antioxidant and anticancer activities of proteins from four legume species. *J. Food Sci. Technol*; 54(4): 964–72. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2390-x>
- [58] Chemat, S, Lagha, A, AitAmar, H, Bartels, PV, Chemat, F. 2004. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour Fragr. J*; 19(3): 188–95. <https://doi.org/10.1002/ffj.1339>
- reactions. *Carbohydr. Polym*; 79(1): 145–53. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.035>
- [51] Zeng, HY, Cai, LH, Cai, XL, Wang, YJ, Li, YQ. 2011. Structure characterization of protein fractions from lotus (*Nelumbo nucifera*) seed. *J. Mol. Struct*; 1001(1–3): 139–44. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.06.031>
- [52] Barth, A. Infrared spectroscopy of proteins. 2007. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg*; 1767(9): 1073–1101. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>
- [53] Kudre, TG, Benjakul, S, Kishimura, H. 2013. Comparative study on chemical compositions and properties of protein isolates from mung bean, black bean and bambara groundnut. *J. Sci. Food Agric*; 93(10): 2429–36. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6052>
- [54] Chandrapala, J, Zisu, B, Palmer, M, Kentish, S, Ashokkumar, M. 2011. Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate. *Ultrason. Sonochem*; 18(5): 951–57. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.12.016>
- [55] Karki, B, Lamsal, BP, Grewell, D, Pometto, AL, Van Leeuwen, J, Khanal, SK, Jung, S.



## The effect of ultrasonication power and time on extraction of protein isolate from sprouted mung bean

Vahed, Sh. <sup>1</sup>, Abbastabar Ahangar, H. <sup>2,3\*</sup>, Nourani, M. <sup>4</sup>, Taghian Dinani, S. <sup>5</sup>,  
Nasr-Esfahani, M. <sup>2</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran.
2. Department of Chemistry, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran.
3. Human Environment and Sustainable Development Research Center, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran.
4. Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
5. Department of Food Science, Shahreza Branch, Islamic Azad University, Shahreza, Iran.

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Article History:

Received 2022/ 01/ 21

Accepted 2022/ 06/ 07

#### Keywords:

Mung bean sprout,  
Sonication,  
Protein isolate,  
Functional properties.

**DOI:** 10.22034/FSCT.19.125.283

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.125.16.5

\*Corresponding Author E-Mail:  
[abbastabar@pmt.iaun.ac.ir](mailto:abbastabar@pmt.iaun.ac.ir)

In this research, the extraction of protein from sprouted mung bean was conducted by the combination of ultrasound pretreatment, alkaline extraction and acid precipitation processes and the effects of sonication power (0, 50, 100, 150, 200, 250 and 300 W) and sonication time (10, 20, 30 and 40 min) on the structural and functional properties of the sprouted mung bean protein isolate (SMPI) were investigated. The results showed that the maximum extraction yield, protein solubility, water holding capacity (WHC), oil absorption capacity (OAC) and foaming capacity (FC) were reached in sonication power and the extraction time of 300 W and 30 min, respectively. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of the extracted proteins showed no destruction of the functional groups of the extracts during the sonication process. In addition, differential scanning calorimeter (DSC) analysis showed that longer sonication time and higher power of sonication led to more denaturation of proteins. Scanning electron microscopy (SEM) images illustrated considerable inter space and pores in the remaining sprouted mung bean cake at longer time and higher power of sonication. Based on the results, the functional properties of SMPI for use as a food ingredient could be enhanced by sonication, which is a green extraction process.