Wadi Alshatti University Journal of
Pure and Applied Sciences

مجلة جامعة وادي الشاطئ
للعلوم البحتة والتطبيقية

The First International Online Conference on Sustainability- May 12-14 , 2026, Al 'Ajalat - Libya

RESEARCH ARTICLE **NATURAL FOOD**

Efficiency of Protein Extraction and Characterization from Selected Plant Sources in Misrata and their Applications in the Food Industry

Huda S. Elgubbi[1], Mona S. Khalil[2], Nizer A. Dabre[3] Siham M. Elskandi[2]

[1]Enverimental Department, Environmental and natural resource Faculty, Misurata University, Libya
[2]Botany Department, Science Faculty, Misurata University, Libya
[3]College of Engineering Technology, Hoon University, Libya

ARTICLE HISTORY
Received 07 March 2026
Revised 12 April 2026
Accepted 23 April 2026
Online 22 May 2026

KEYWORDS
Plant protein;
Isoelectric point-IEP;
Alklaine extract;
Electrophorsis (SDS_PAGE).

A B S T R A C T

Proteins are a fundamental pillar for achieving sustainable food security and can serve as a biological alternative to animal proteins. This study aims to evaluate and compare the efficiency of protein extraction and characterization methods from four plant sources: sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) and peas (*Pasium sativum*), sider fruits (Ziziphus lotus), and oats grain (*Avena sativa*). The methodology employed alkaline and aqueous extraction techniques, followed by precipitation at the isoelectric point (IEP) using precipitating agents such as ammonium sulfate, trichloroacetic acid (TCA), and acetone. Analyses were conducted at the laboratories of the Faculty of Natural Environmental and Natural resource, University of Misurata, between 2022 and 2024. Methods were evaluated based on purity and yield criteria. Results indicated that alkaline extraction at pH 10-12 was the most efficient, with sesame seeds achieving the highest purity and yield, where the yield of the isolated protein ranged from 72-73 mg/g (wet weight). Furthermore, precipitation using TCA and acetone yielded higher protein productivity compared to ammonium sulfate ($p<0.05$). The study concludes that the efficiency of extraction and the functional properties of the protein isolate are closely linked to the plant source and extraction conditions, which enhances the potential for integrating these proteins into broad industrial and food applications.

تقييم كفاءة طرق العزل والتشخيص البروتيني من بعض المصادر النباتية بمدينة مصراتة وتطبيقاتها في الصناعات الغذائية

هدى القبي[1,*]، منى خليل[2]، نزار الدبرى[3]، سهام الشكيندى[2]

الكلمات المفتاحية
بروتينات نباتية
ترسيب عند نقطة التعادل الكهربائي
الاستخلاص القلوي
الترحيل الكهربائيSDS-PAGE

الملخص

تعد البروتينات ركيزة أساسية في تحقيق الامن الغذائي المستدام يمكن استخدامه كبديل حيوي للبروتينات الحيوانية. تهدف هذه الدارسة التجريبية الاصيلة الى تقييم و مقارنة كفاءة طرق عزل و تشخيص البروتين من أربعة مصادر نباتية: بذور السمسم، (*Sesamum indicum* L.) والبازلاء (*Pasium sativum*)والسدر (*Zizyphus lotus*)وحبوب الشوفان .(*Avena sativa* L.). اعتمدت المنهجية على تطبيق تقنيات الاستخلاص القلوي والمائي، والترسيب عند نقطة التعادل الكهربي (Isoelectric point-IEP) وباستخدام المرسبات مثل كبريتات الأمونيوم والترايكلورواستيك (TCA)/ أسيتون. أجريت التحاليل في معامل كلية البيئة و الموارد الطبيعية – جامعة مصراتة خلال السنوات من 2022- 2024. تم تقييم الطرق بناء على معايير النقاء والمردودية. أظهرت النتائج أن اختيار ان الاستخلاص القلوي عند pH 10-12) هو الأكثر كفاءة، حيث حققت بذور السمسم اعلى معدلات نقاء ومردودية وقد تراوحت مردودية البروتين المعزول من بذور السمسم (72-73 ملجم / جم وزن رطب). كما تفوق الترسيب باستخدام TCA /الأسيتون في تحقيق اعلى إنتاجية بروتينية مقارنة بكبريتات الأمونيوم ($p<0.05$). خلصت الدارسة الى ان كفاءة العزل والخصائص، الوظيفية للمعزول البروتين ترتبط بشكل وثيق بنوع المصدر النباتي وظروف الاستخلاص، مما يعزز من فرص دمج هذه البروتينات في التطبيقات الصناعية والغذائية الواسعة.

المقدمة

تشهد المنظومة الغذائية تحولاً عالمياً نحو مصادر البروتين النباتي، مدعومة بالاعتبارات البيئية والصحية [1]. تعد البقوليات والحبوب الزيتية مصادر غنية بالبروتينات، حيث تتراوح نسبة البروتين في البازلاء و السمسم بين-20 2%، وتتميز بتركيبة متوازنة من الأحماض الأمينية [2]. اما حبوب الذرة الصفراء فقد ذكرت منظمة الأغذية و الزراعة للأمم المتحدة (FAO) بانها

*Corresponding author
https://doi.org/10.63318/waujpas.sp_FISCSDR2026_11
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

تحتوى على بروتين نسبته من 8-11 % بالإضافة لاحتوائها على نشا بنسبة 81 %، و بالرغم من توافر هذه المصادر محليا فى مدينة مصراتة، الا ان هناك فجوة بحثية في تحديد الظروف المثلى لاستخلاص البروتينات و تقييم خصائصها الوظيفية بما يتناسب مع متطلبات الصناعة المحلية.

تعد البروتينات النباتية ذات أهمية كبيرة في مجال تصنيع وتطوير المنتجات الغذائية لما تتميز به من خواص وظيفية متعددة تؤثر في قبول المستهلك للمنتج النهائي [3]. وعلى مدي السنوات الثلاثين الماضية ازداد استخدام البروتينات المعزولة من البذور النباتية بشكل كبير بسبب معرفة المزيد من خصائصها الوظيفية والتصنيعية وقيمتها الغذائية والعلاجية [4]. كما ركزت العديد من الدارسات على أهمية القيمة الغذائية للبروتين في الحبوب و البذور وخاصة بذور البقوليات حيث تم استخدامها لرفع القيمة الحيوية للعديد من الأغذية و تحقيق الامن الغذائي [5، 6، 7] الا ان استخلاص البروتين من هذه المصادر لم يلق اهتمام. إن الاستفادة الكاملة من هذه البروتينات تتطلب طرق استخلاص وعزل فعالة لضمان نقاوة عالية وخصائص وظيفية مثلى مثل الذوبانية، والاستحلاب، والرغوة. فمن المعلوم ان البروتينات في بذور والحبوب الأربع المدروسة البازلاء والسمسم وحبوب الشوفان ثمار السدر تختلف اختلافاً جوهرياً في تركيبها وتصنيفها ونتيجة لهذه الاختلافات فان مشكلة الدارسة تكمن في تباين كفاءة طرق الاستخلاص عند تطبيقها على مصادر نباتية مختلفة. لذا تهدف هذه الدارسة لأجراء تحليل مقارن لطرق الاستخلاص والترسيب وتحديد التأثيرات الفيزيائية وكيميائية لهذه الطرق على جودة ونقاء البروتين المعزول بهدف الوصول الى توصيات عملية لاستخدامها في الصناعات الغذائية.

المواد وطرق البحث

أجريت التجارب المعملية في معامل كلية البيئة والموارد الطبيعية – جامعة مصراته خلال الفترة من 2022-2024. استخدم تصميم تجربي يعتمد على ثلاث مكررات لكل تجربة لضمان الدقة الإحصائية.

تجميع وتجهيز العينات النباتية (البذور والحبوب): جمعت بذور السمسم من الأسواق المحلية بمدينة مصراته – لبيبا. اما بذور البازلاء وحبوب الشوفان وثمار السدر تم استجلابها من مركز البحوث الزراعية بمدينة مصراتة في شهر مارس لسنة 2022.

تم غسل العينات بماء مقطر معقم للتخلص من الاتربة والشوائب وجففت هوائيا على حرارة الغرفة (25 °م±2)، ثم طحنت بواسطة مطحنة كهربائية منزلية للحصول تم تمريره على منخل قطره 0.5 ملم لتوحيد حجم الجسيمات. حفظت العينات في أكياس من البولي ايثلين محكمة الغلق عند درجة حرارة 4 °م لحين الاستخدام.

الكشف النوعي للبروتينات

تجهيز المستخلص النباتي: مزج اجم من مسحوق البذور او الحبوب في 10 مل محلول مائي ثم أخذ 2 مل من المستخلص النباتي (في انبوبة اختبار وأضيف له 1 مل من كاشف البيوريت، ظهور اللون البنفسجي يدل على وجود البروتين

التقدير الكمي للبروتينات الكلية

تقدير البروتين الكلى

قدرت نسبة البروتين الخام بحساب كميّة النتروجين الكلى بعد اجراء عملية الهضم بطريقة مايكرو كلدال (Micro-Kjedahle) المطورة، وفقاً للمواصفات القياسية المعتمدة من قِبل منظمة الكيميائيين الزراعيين [8] على النحو التالي: وزِن 0.5جم من العينات المجففة والمطحونة بدقة. وضعت العينات في أنابيب الهضم الخاصة بجهاز كلدال. أُضيف لها (10 مل) من حمض الكبريتيك المرك (98.4%) وكبريتات البوتاسيوم (K_2SO_4) وكبريتات النحاس ($CuSO_4$) بنسبة (1:10) لتسريع عملية الأكسدة ورفع درجة غليان المزيج. تمت عملية الهضم في وحدة الهضم عند درجة حرارة 420 °م لمدة ساعتين، حتى الحصول على محلول شفاف رائق تماماً، مما يشير إلى تحلل المادة العضوية وتحول النيتروجين إلى كبريتات أمونيوم. برد ناتج الهضم وتمت معالجته باستخدام وحدة التقطير البخاري، حيث أضيف هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) بتركيز (40%) لتحرير الأمونيا.

استقبلت الأمونيا المتصاعدة في دورق مخروطي يحتوي على 20 مل من محلول حمض البوريك (H_3BO_3) بتركيز (4%) الممزوج بالدليل المختلط (Mixed Indicator). تمت معايرة بورات الأمونيوم الناتجة باستخدام حمض الهيدروكلوريك (HCl) القياسي بتركيز (0.1 N) حتى ظهور اللون الأرجواني الخفيف (نقطة النهاية). حُسبت نسبة النيتروجين الكلي بناءً على حجم الحمض المستهلك، ومن ثم استُخرجت نسبة البروتين الخام بضرب قيمة النيتروجين في معامل التحويل القياسي(6.5) . أُجريت جميع التحاليل في ثلاثة مكررات (Triplicates) لضمان الدقة الإحصائية. لإيجاد نسبة البروتين في عينات الدراسة استخدمت المعادلة التالية:

$$\text{البروتين الخام\%} = \frac{\text{حجم المعايرة} \times 0.014 \times 6.25}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

القيمة 0.014 تمثل الوزن المكافئ للنيتروجين والعدد 6.25 يمثل ثابت تحويل النيتروجين للبروتين.

تقدير كمية البروتين الذائب

باستخدام كاشف البيوريت: قدرت كمية البروتين الذائب (ملجم/جم وزن رطب) باستخدام طريقة كاشف البيوريت. حضر محلول البيوريت بإذابة 3 جم من كبريتات النحاس المائية مع 9 جم طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم في 500 مل هيدروكسيد الصوديوم (M0.2)، ثم أضيف للمحلول 5 جم من يوديد البوتاسيوم ، و رج جيدا ثم أكمل الحجم إلى اللتر بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.2 M).

حضر المحلول القياسي وذلك بإذابة بروتين الألبومين بتركيز 1 جم في 100 مل ماء مقطر، ثم أجري تخفيف للمحلول القياسي الأصلي الى التركيزات (0.9، 0.8، 0.6، 0.4، 0.2، 0.1 %). وضع 2 مل من الالبومين (وفقا للتراكيز المعدة للمنحنى القياسي والمشار لها أعلاه) في انبوبة اختبار وأضيف لها 3 مل كاشف البيوريت (بواقع 3 مكررات لكل تركيز). حضرت العينات بنفس الطريقة وذلك بإضافة 2مل من محلول العينة واضيف لها 3 مل كاشف البيوريت. كما جهزت عينات الشاهد بوضع 2مل من الماء المقطر وأضيف إليها 3 مل من كاشف البيوريت. نقلت جميع العينات في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م^{o} وتركت لمدة 10 دقائق ظهور اللون البنفسجي دلالة على وجود البروتين. اخذت القراءات بواسطة جهاز قياس طيف الاشعة فوق البنفسجية والمرئية (**UV/Visible spectrophotometer**) عند طول موجي 540 نانوميتر (3 مكررات لكل عينة). وقدرت كمية البروتين الذائبة (ملجم / جم وزن رطب).

طريقة القياس بواسطة جهاز النانو دروب: تم قياس تركيز البروتين (ppm)

عند طول موجي 280nm.

الاستخلاص

أجريت عملية معالجة بذور السمسم قبل استخلاص البروتين منها نظرا لاحتوائها على كمية عالية من الدهون، حيث تم إزالة الدهون من مسحوق بذور السمسم باستخدام الأسيتون وفقا لما وصفه [9] حيث جفف مسحوق البذور منزوعة الدهن بوضعها في شكل طبقة رقيقة على صفيحة من ورق الومنيوم عند درجة حرارة الغرفة و المسحوق من خلال منخل قطره 0.5 مم للحصول على مسحوق متجانس ناعم. تم التعبئة للمسحوق المنزوع الدهن والجاف في أكياس من البولى ايثلين واحكم غلقها وحفظت الاكياس في الثلاجة لحين الاستخدام.

طبقت طريقتين لاستخلاص البروتين على النحو التالى:

الاستخلاص القلوى بواسطة NaOH بتركيزين (0.5 N و0.1 N): أذيب 1 جم من مسحوق البذور، الثمار و الحبوب المدروسة في 10 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم القلوى بتركيزى 0.5 N و 0.1 N (كل على حدا) حتى الوصول (10-12 pH) مع المحافظة على التحريك المستمر وباستخدام المقلب المغناطيسي لمدة 30 دقيقة وعند درجة حرارة 25مْ.

الاستخلاص المائي: أذيب اجم من مسحوق البروتين في 10 مل ماء رج المخلوط ثم وضع على جهاز المقلب المغناطيسي مع التحريك المستمر لمدة 30 دقيقة وعند درجة حرارة 25°م.

تحسين الظروف المثلى للاستخلاص: حددت الظروف المثلى لاستخلاص بهدف الحصول على اعلى كمية من البروتين المستخلص وشملت ظروف التحسين:

تحديد نسب الاستخلاص حيث استخدمت النسب التالية: (1:10 و1:20، 1:40 وزن /حجم) وفقا لما وصفه [10].

تحديد درجات حرارة المثلى حيث عرض محلول البروتين لدرجات حرارة تبدء من 20°م ,5 ° م, 30° م حتى40° م.

استخدم مدى من الرقم الهيدروجين (pH): بهدف تحديد الاس الهيدروجينى الأمثل لاستخلاص البروتين.

ترسيب البروتين:

الترسيب بكبريتات الأمونيوم: حضر محلول كبريتات الامونيوم بنسب (10 – 20 – 30 – 40 – 50 – 60 – 70 – 80 %) لترسيب البروتين وفقا للطريقة التي وصفها [11]. أضيف 20 جم من مسحوق البروتين الى 100 مل ماء مقطر يضاف كبريتات الأمونيوم بالتدريج للمستخلص ويجرى طرد مركزي عدة مرات عند السرعة 6000 rpm لمدة 20 دقيقة، يهمل الراشح ويؤخذ الراسب ويضاف له 2مل من الماء منزوع الأيونات. يمزج الراسب بالماء وتجرى له عملية طرد مركزي بسرعة 6000 rpm لمدة 10 دقائق و تكرر هذه العملية مرتين، يجفف الراسب بوضعه في جفنه و يترك ليجف هوائيا عند درجة حرارة الغرفة (25 م°). يجمع الراسب ووضع في قناني معتمة ويخزن عند درجة حرارة الغرفة.

الترسيب TCA / الأسيتون

خلط 20 جم من مسحوق البذور والحبوب مع 100مل ماء مقطر، ثم فصل الراسب بالطرد مركزي وبسرعة 4000 rpm ولمدة ساعة طبقا لما وصفه [12]. تم التخلص من الراسب وأضيف للراشح مزيج TCA/ اسيتون ووضع في التبريد عند (-20م°) لمدة 24 ساعة. تم فصل الراسب عن الراشح بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعه 6000 rpm ولمدة 30دقيقة. يؤخذ الراسب ويضاف له 2 مل TCA/ اسيتون المثلج. توضع الانابيب في حمام ثلجي لمدة 10 دقائق وتجرى لها عملية طرد مركزي بسرعة 6000 rpm لمدة 15 دقيقة، يؤخذ الراسب ويوضع في جفنه بعد تنظيفها ووزنها وهي فارغة ويترك الراسب بعد تغطيته ليجف. يحفظ المعزول البروتيني في انابيب معتمه وفي درجة حرارة الغرفة الى حين الاستخدام.

طرق التقدير والتشخيص للمعزول البروتينى

التقدير الكمي للمعزول البروتين: تم تقدير البروتين الذائب من المعزول البروتيني بواسطة طرق القياس اللوني طريقة بيوريت (Biuret Assay) والتقدير الكمى بتقنية (Nanodrop) النانودروب .

الفصل والتعريف :تم تشخيص و تعريف البروتين باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي لهلام بولي أكريلاميد بوجود كبريتات دوديسيل الصوديوم-(SDS PAGE) لفصل البروتينات بناءً على وزنها الجزيئي وتحديد النمط البروتيني Protein,في العينات المدروسة وفقا لما وصفه [13، 14].

الخصائص الوظيفية للبروتينات

تقدير ذوبانية البروتين

قدرت ذوبانية البروتين المعزول باعتماد الطريقة المقترحة من قبل [15] وذلك بتحضير مستخلص مائي للبروتين (0.02 جم/ 2مل ماء) في محاليل ذات مدى مختلف من الأس الهيدروجيني (2-6 – 8-10-12) وبعد التحريك باستعمال الهزاز الكهربائي ولمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة، نقلت العينات لجهاز الطرد المركزي وبسرعة rpm10000 لمدة 30 دقيقة، يهمل الراسب ويؤخذ الراشح وتقدر النسبة المئوية للبروتين باستخدام طريقه البيوريت، ويتم حساب نسبة الإذابة باعتماد القانون الاتي:

% الإذابة = (المحتوى البروتيني للراشح /المحتوى البروتيني للمركز البروتيني) X 100

تقدير قابلية امتصاص الماء

تم تقدير قابلية امتصاص الماء باعتماد الطريقة المقترحة من [16]. مزج 0.5 مل من الماء المقطر مع 0.025 جرام من المعزول البروتين مدة 30 ثانية، تركت العينات عند درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة ثم فصلت بالطرد المركزي عند سرعة 4000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة، ثم حساب حجم الماء غير الممتص الذي تم استلامه في أسطوانة مدرجة لمعرفة حجم الماء الممتص (مل / جرام عينة). قدر قابلية امتصاص الماء للبروتين وفقا للمعادلة المبينة ادناه:

قابلية امتصاص الماء = (حجم الماء الأصلي – حجم الماء المستلم) / وزن العينة

تقدير قابلية الارتباط بالدهن

قدرت قابلية الارتباط بالدهن باعتماد الطريقة المقترحة من [16] وذلك برج 0.025 جرام من المعزول البروتيني للعينة مع 0.5 مل من زيت دوار الشمس لمدة 30 ثانية وترك المحلول لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة ثم يفصل بالطرد المركزي عند سرعة 4000 دورة / دقيقة لمدة 30 دقيقة ثم حساب حجم الزيت المرتبط (مل / جرام عينة) من خلال استقبال الزيت الغير الممتص في أسطوانة مدرجة.

قابلية الإرتباط بالدهن = (حجم الزيت الأصلي – حجم الزيت المستلم) / وزن العينة

التحليل الاحصائى

استخدم تحليل التباين أحادى الاتجاه ANOVA ONE WAY لتحديد الفروق الجوهرية بين طرق الاستخلاص عند مستوى دلالة ($P<0.05$) باستخدام برنامج SPSS الاصدار 26.

النتائج والمناقشة

التقدير الكلى للبروتين في بذور البازلاء والسمسم وحبوب الشوفان والسمسم و ثمار السدر: أظهرت النتائج تباين معنوى (P<0.05) في محتوى البروتين الخام حسب المصدر النباتى (جدول 1). سجلت بذور السمسم أعلى نسبة بروتين (0.4±25,05%)، يليه ثمار السدر(0.3±19.1%) والبازلاء (0.2±19.08%)، بينما سجل الشوفان اقل نسبة (10.83 ±0.5). تتفق هذه النتائج مع الدارسات المرجعية المذكورة بالجدول (1) مما يؤكد اصلة العينات المحلية المستخدمة.

الجدول 1: النسبة المئوية للبروتين الخام في المصادر النباتية المدروسة

المصدر النباتى	نسب البروتين الخام (%)	المرجع
بذور البازلاء	*19.08	[17]
حبوب الشوفان	**10.83	[18]
بذور السمسم	25.05	[8]
ثمار السدر	***19.1**	[19]

معنوى *P= 0.05 , معنوى جدا**P=0.01

كفاءة طرق الاستخلاص البروتين

أوضحت نتائج الدارسة المبنية بالجدول (2) ان الوسط القاعدي هو الأمثل لاستخلاص البروتين من بذور البازلاء والسمسم وحبوب الشوفان و ثمار السدر، حيث سجلت اعلى كمية للبروتين الذائب و المستخلص في بذور السمسم (7.3 ملجم/جم) وزن رطب عند pH 10 , يليها ثمار السدر و التي بلغت كمية البروتين به (2.55 ملجم/جم) عند pH 12 و كانت الفروق معنوية مقارنة بكمية البروتين المستخلصة من بذور السمسم (p<0.05). تؤكد نتائج الدارسة ان الاستخلاص الأمثل للبروتين من حبوب الشوفان وبذور البازلاء كان عند pH12 الا ان كمية البروتين المستخلصة في كل منهم شهدت فروق عالية المعنوية مقارنة بكمية البروتين المستخلص من بذور السمسم (P = 0.001). بشكل عام يعتبر الاستخلاص في الوسط القاعدي هو الاستخلاص الأمثل للبروتينات الذائبة في المصادر النباتية المدروسة و تتفق هذه النتيجة مع دراسات اخرى [20، 21] حيث أوضح كل منهم ان زيادة استخلاص البروتين في الوسط القاعدي يرجع الى بعدها عن نقطة التعادل الكهربائي (IEP) وتكون بذلك حاملة للشحنة فهي تكون لها قابلية أكثر للذوبان .

تشير النتائج المبينة بالجدول (2) ان درجة الحرارة تعتبر عامل مؤثر في الاستخلاص حيث ان بذور البازلاء وثمار السدر يفضل كل منهما استخلاص البروتين عند درجات حرارة 50 °م و40 °م حيث قدرت اعلى كمية للبروتينات الذائبة المستخلصة في بذور البازلاء (3.68 ملجم/جم) وثمار السدر (2.15ملجم/جم) وقد يرجع ذلك لاحتوائها كل منهما على الجلوبيولين والذي يتميز بوزنه الجزيئي العالي وبنيته المطوية بأحكام وبالتالي فان الحرارة العالية تعمل على تفيك بنية البروتين مما يساعد في ذوبانيته [22]. اما عن حبوب الشوفان وبذور السمسم فقد سجلت الدرجة المثلى لاستخلاص البروتين و كانت 30 °م و 25 °م و قد بلغت كمية البروتين بكل منهما 0.1 ملجم/جم وزن رطب ووفقا للتحليل التباين فقد شهدت كمية البروتين المستخلصة في كل من بذور الشوفان و حبوب السمسم فروقا الية المعنوية عند مقارنتها بكمية البروتين المستخلصة من بذور البازلاء (P<0.001). فسرت الدارسة التي اجرها [23] ان الدرجة الحرارة التي تراوحت بين 25-30°م هي الدرجة المثلى لاستخلاص البروتين من بذور السمسم و حبوب الشوفان , ذلك للحفاظ على ثبات الجزيئات حيث لوحظ ان الحرارة تجعل النشا لزجا، في حالة حبوب الشوفان، و بالتالي فان قوام المستخلص يميل للتكتل و يصعب فصل بروتين بالترشيح او الطرد المركزي . اما عن بروتين السمسم فقد أوضحت دراسة [24] ان الحرارة العالية تعمل على اكسدة الدهون وربطها بالبروتينات بالإضافة الى انها تسرع من تفاعلات التلوين وتؤثر على جودة الاحماض الدهنية المرتبطة بالبروتين.

نسب الاستخلاص للبروتينات تؤثر أيضا على كمية البروتينات المستخلصة من المصادر النباتية فقد أوضحت نتائج الدارسة ان نسبة الاستخلاص المثلى لبذور السمسم وحبوب الشوفان وثمار السدر 1:10 (وزن/حجم) فى حين ان نسبة الاستخلاص المثلى للبروتين من بذور البازلاء 1:40(وزن/حجم) وتبين نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق عالية معنوية (p=0.001) في كمية البروتينات المستخلصة. من ثمار السدر وبنسبة 1:10 (وزن/حجم) حيث بلغت 1.82 ملجم/جم عند مقارنتها بكمية البروتين المستخلصة من بذور البازلاء (7.2 ملجم/جم) وحبوب الشوفان (5 ملجم/جم) وبذور السمسم (9ملجم/جم).

الجدول 2: الظروف المثلى لاستخلاص البروتينات الذائبة من المصادر النباتية

المصدر النباتى	كمية البروتين المستخلصة في الظروف المثلى (ملجم.جم وزن رطب)		درجة الحرارة المثلى (°م)	pH الامثل		نسبة الاستخلاص (وزن /حجم)
ثمار السدر	2.55*	pH12	40م°	2.15	1.82***	1:10
بذور البازلاء	0.71***	pH12	50 م°	3.68	7.2	1:40
بذور السمسم	7.3	pH10	25م°	0.10**	9.0	1:10
حبوب الشوفان	1.4**	pH12	30 م°	0.11 ***	5.0	1:10

معنوى *P= 0.05، معنوى جدا**P=0.01، عالى المعنوية***p=0.001

تبين نتائج الدارسة ان مردودية ونقاوة البروتين المستخلص يعتمد على الظروف المثلى للاستخلاص بدور البازلاء سجلت مردودية عالية للبروتين في زمن 30 دقيقة في الوسط القلوى وعند درجة حرارة 50°م ونسبة استخلاص 1:40 وزن/حجم و تتفق نتائج هذه الدارسة مع دراسة [25]. لوحظ من النتائج ان استخلاص البروتينات الذائبة من حبوب الشوفان منها لا يتأثر بالاس الهيدروجيني ولكن وبشكل عام يعتبر الوسط القلوي مثالي للاستخلاص وتزداد مروديه البروتين عند درجة حرارة 25 م° و نسبة 1: 10(وزن/حجم) وتتفق هذه النتيجة مع دراسة [26]. تؤكد نتائج الدارسة والموضحة في الجدول (3) ان الظروف المثلى لاستخلاص البروتين من بذور السمسم تكون في الوسط القلوى وتتحسن ذوبانية البروتين وتزداد المردودية عند درجة الحرارة (30م°) ونسبة استخلاص 1:10 (وزن/حجم) وهذه النتيجة تتفق مع دراسة [6]. اما عن البروتينات المعزولة من ثمار السدر تفضل استخلاص في الوسط القاعدي pH12 وتزداد مردودية البروتين عند 40 م° ونسبة استخلاص 1:10 (وزن/حجم) وتتفق هذه النتيجة مع ما بينه [27].

وبالتالي يمكن الاستنتاج ان استخلاص البروتين وبشكل عام من بذور البازلاء والسمسم وحبوب الشوفان وثمار السدر جميعها تفضل الاستخلاص في

الجدول 3: الظروف المثلى للاستخلاص ومردودية البروتينات

المصدر النباتى	الطريقة المثلى للاستخلاص	المردودية/النقاء	المرجع
بذور البازلاء	الاستخلاص القلوي(pH 12)	مردود عالٍ في زمن 30 دقيقة و نسبة استخلاص 1:40 (وزن/حجم).عند درجة حرارة مثلى 50° م	[25]
حبوب الشوفان	الاستخلاص القلوي لا تتأثر بpH و لكنها تفضل الوسط القلوى (pH 12)	مردودية متشابه في جميع الأوساط ولكن افضل استخلاص عند درجة حرارة 25 م° و نسبة 1: 10(وزن/حجم)	[26]
بذور السمسم	الاستخلاص القلوي (pH 10)	تحسين الذوبانية والمردود في الظروف المثلى (30م°)، نسبة استخلاص 1:10 (وزن/حجم)	[9]
ثمار السدر	الاستخلاص في وسط قلوى وبشكل خاص عند pH12	تحسين المردودية في الظروف المثلى 40 م° و نسبة الاستخلاص 1:10(وزن/حجم) وسط مائى	[27]

الوسط القلوى ونلاحظ ان مردودية الاستخلاص للبروتين تختلف حسب قيمة الاس الهيدروجينى. تتفق نتائج الدارسة كل من [28، 29] والتي اكدت ان استخلاص البروتين يزداد بزيادة الرقم الهيدوجينى نحو التطرف و ابتعاده

مقارنة طرق الترسيب

للحصول على الراسب او المعزول البروتيني النقي فان ذلك يتطلب وجود مرسبات ذات كفاءة عالية في الترسيب. توضح البيانات بالجدول (4) اهم طرق الترسيب المستخدمة في هذه الدارسة والكمية المرسبة من البروتين لكل طريقة. تبين من نتائج الدارسة ان اعلى نسبة مئوية للبروتين المرسب تم الحصول عليها من ثمار السدر (0.83%) و بذور السمسم (8.6%) و بذور البازلاء (0.33%) عند الترسيب بواسطة TCA/Acetone. اما حبوب الشوفان فقد سجلت اعلى نسبة للبروتين المرسب والتي بلغت 8.9% عند الترسيب بواسطة كبريتات الامونيوم 40%.

الجدول 4: طرق الترسيب المستخدمة في الدارسة وكمية البروتين المرسب من المصادر النباتية.

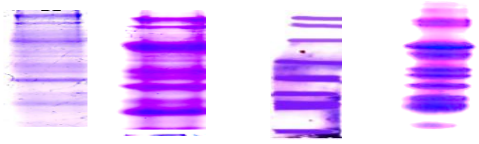
طريقة الترسيب	النسبة المئوية البروتين المرسب من المصادر النباتية المستخدمة في الدارسة (%)	
كبريتات الامونيوم 60%	ثمار السدر	0.15
	بذور السمسم	4.70
كبريتات الامونيوم 40%	بذور البازلاء	0.33
	حبوب الشوفان	8.90
TCA/Acetone	ثمار السدر	0.83
	بذور السمسم	8.60
	بذور البازلاء	4.90
	حبوب الشوفان	4.20
الاسيتون	ثمار السدر	0.003
	بذور السمسم	0.002
	بذور البازلاء	0.025
	حبوب الشوفان	0.001

التوصيف والتعرف

يعد الترحيل الكهربائي (SDS-PAGE) أداة لا غنى عنها لتوصيف البروتينات المعزولة . كشف الترحيل الكهربائى عن الأنماط البروتينية للمعزولات, حيث أظهر البازلاء 8 حزم رئيسية , بينما اظهر السمسم 11 حزمة، وكل من الشوفان و السدر 11 حزم (شكل 1). تعكس هذه الأنماط الوحدات الفرعية للبروتينات وتؤكد نجاح عملية العزل دون تحلل كيميائي جوهري اثناء عملية الاستخلاص والترسيب.

الخصائص الوظيفية للمعزول البروتيني للمصادر النباتية المدروسة

ذوبانية البروتين



الشكل 1: عدد وشكل الحزم في المعزول البروتيني من المصادر النباتية المدروسة

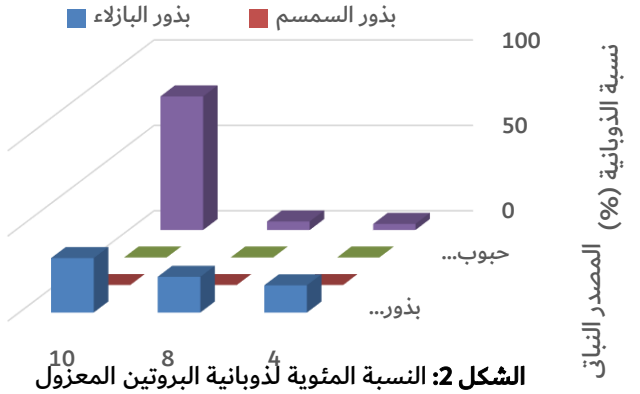
من خلال النتائج الموضحة بالجدول (5) وفي الشكل (2) تبين ان للبروتينات خصائص وظيفية تسهل عملية التعرف على طبيعة البروتين وكذلك إمكانية الاستفادة من هذه الخصائص في استخدامها في التطبيقات الغذائية والصناعية. البروتينات المعزولة من ثمار السدر وبذور البازلاء سجلت اعلى ذوبانية لها في الوسط القاعدي(10) pH حيث تميزت بروتينات ثمار السدر بأعلى ذوبانية 78% يليها بروتينات البازلاء 32% اما البروتينات المعزولة من بذور الشوفان والسمسم فقد اكدت النتائج بانها شحيحة الذوبان في الماء وسجلت اعلى ذوبانية لبروتينات المعزولة من بذور السمسم وحبوب الشوفان عند pH10 حيث بلغت 0.015% و0.025% على التوالي. وتؤكد نتائج الحليل الاحصائي وجود فروق عالية المعنوية لذوبانية البروتين المعزولة من السدر عند مقارنتها بذوبانية البروتينات المعزولة من كل من البازلاء والسمسم والشوفان حيث $p<0.001$.

تميزت البروتينات المعزولة من السدر والبازلاء بان لها قابلية للارتباط بالماء ويعزى السبب في ذلك الى ان هذه البروتينات غنية بالأحماض الامينية القطبية المحبة للارتباط بالماء [30] ونظرا لهذه الخاصية فان هذه البروتينات يمكن استخدامها في مجال الصناعات الغذائية لتحسين قوام المخبوزات والبدائل اللبنية. كما أوضحت دراسة [31] ان للاس الهيدروجينى تأثير على ذوبانية البروتين في الوسط وتعد هذه الخاصية أحد المؤشرات المستخدمة لتقدير البروتين. أن ذوبانية تزداد في الأوساط حسب طبيعة البروتين حيث تكتسب في الوسط الحامضي شحنه موجبة وفي الوسط القاعدي شحنة سالبة مما يزيد من قدرتها على الذوبان في الوسط.

تقدير قابلية البروتين لامتصاص الماء والارتباط بالدهن

تبين نتائج الدراسة في الشكل (3) ان اعلى كمية لامتصاص الماء قدرت في بروتينات ثمار السدر (10مل/جم) يليها بروتينات البازلاء 4 مل /جم. وسجلت اقل كمية لامتصاص الماء في بروتينات كل من السمسم و الشوفان حيث قدرت ب (1 و0.8 مل/جم) و قد أوضحت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق عالية المعنوية في كمية الماء الممتص من بروتينات السدر مقارنة بكمية الماء الممتصة من بروتينات البازلاء والشوفان والسمسم ($p=0.001$).اما عن ارتباط البروتينات المعزولة من المصادر النباتية المدروسة والمبينة بالشكل (3)

تؤكد النتائج ان البروتينات المعزولة من السمسم والشوفان سجلت اعلى



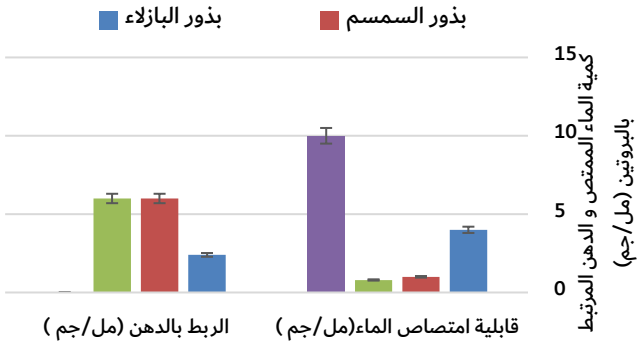
الشكل 2: النسبة المئوية لذوبانية البروتين المعزول من بذور البازلاء و السمسم و حبوب الشوفان و ثمار السدر

قيمة للارتباط بالده حيث بلغت (6 مل /جم) اما بروتينات البازلاء فكان كمية الدهن المرتبطة بالبروتين (2.4 مل /جم) واكدت نتائج التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي عند مقارنتها بكمية الدهن المرتبط ببروتينات السمسم و الشوفان ($p<0.05$). تميزت البروتينات المعزولة من ثمار السدر بعدم قابليتها للارتباط بالدهن (0 مل/جم) ووفقا لنتائج التحليل الإحصائي والتي أوضحت وجود فرق عالى المعنوية عند مقارنتها بكمية الدهن المرتبط بواسطة بروتينات الشوفان والسمسم ($p=0.001$). من خلال النتائج يتضح ان بروتينات السدر لها قابلية عالية لامتصاص الماء ولكنها غير قابلة للارتباط بالدهن. ان عدم قابلية بروتينات السدر للارتباط بالدهن يرجع الى الفرق في التوزيع للاحماض الامينية الكارهة للماء نسبة لمجاميع الاحماض الامينية القطبية وفقا لما اوضحته دراسة Sathe واخرون [3] ونظرا لقابلية بروتينات السدر العالية لامتصاص الماء يمكن ان يستفاد من هذه الخاصية من خلال اقتراحها كبديل وظيفي في المخبوزات لتحسين القوام والحفاظ على الرطوبة.

تميزت البروتينات المعزولة من بذور البازلاء عن باقي البروتينات المدروسة بان لها قابلية لامتصاص الماء كما انها قابلة للارتباط بالدهن وهذا قد يشير الى كفاءة في توزيع الاحماض الامينية القطبية وغير القطبية في البروتينات مما يجعلها ان قابلة البروتين للارتباط بالدهن وواضح[32] ان الارتباط بالدهن يعتمد على مدى توفر الاحماض الامينية غير القطبية ولسلاسل الجانبية في البروتين. نظرا لامتلاك بروتينات بذور البازلاء لهذه الخواص فانه يقترح استخدامها في تحسين قوام المخبوزات والبدائل اللبنية.

الاستنتاجات والتوصيات

يتضح من خلال دراسة الخصائص الوظيفية للمعزول البروتيني ان بروتينات البازلاء تمتاز بتكوينها للرغوة مما يجعلها خيارا مناسب لاستخدامها في تقدير قابلية البروتين لامتصاص الماء والارتباط بالدهن. اما عن بروتينات السمسم



الشكل 3: تقدير قابلية امتصاص البروتينات المعزولة للماء و ارتباطها بالدهن

والشوفان فتتميز بقدرتها على ربط الدهون وهذا يجعلها ملائمة الاستخدام في الصناعات التي تتطلب تماسكا ذهنيا مثل الكريمات. كما ان بروتين السمسم يستخدم في حفظ الزيوت النباتية من التأكسد ويدعم الحلويات والمخبوزات. تعتبر بروتينات السدر ملائمة لرفع لزوجة السوائل نتيجة لذوبانيتها ولقدرتها العالية لامتصاص الماء.

يعتمد اختيار الطريقة المثلى لاستخلاص وعزل البروتينات من بذور البازلاء، الشوفان، السمسم، والسدر على طبيعة البروتين المستهدف والهدف من المنتج النهائي. خلصت الدارسة الى ان طريقة الاستخلاص بالقلوى المتبوعة بالترسيب بواسطة TCA/Acetone هي الأكثر كفاءة من حيث المردود و النقاء لبروتينات بذور البازلاء و السمسم وثمار السدر اما حبوب الشوفان فان الترسيب بواسطة كبريتات الامونيوم (40%) يعد الأكثر كفاءة في ترسيب البروتين. يمتاز البروتين المعزول من السدر بذوبانيته العالية في الماء بالإضافة الى قدرته على امتصاص الماء مما يجعله خيارا ممتاز لاستخدامه لتحسين قوام المخبوزات. كما قد يدخل في صناعة مستحضرات التجميل والعناية بالبشرة. بروتينات البازلاء تميزت بقدرتها على امتصاص الماء بالإضافة الى ان لها قابلية للربط بالدهون وهذا يعد خيارا ممتاز لاختيارها في الصناعات الغائية لتحسين قوام المخبوزات. تعد البروتينات المعزولة من بذور السمسم وحبوب الشوفان خيارا ممتازا لتعزيز القيمة الغذائية وبدائل الالبان نظرا لقدرتها على الارتباط بالدهون.

توصي هذه الدراسة بضرورة إجراء المزيد من الأبحاث المقارنة التي تركز على طرق الاستخلاص وتبنى تقنية الاستخلاص بالقلوى في المعامل المحلية لإنتاج معزولات بروتينه ذات جودة عالية. كما توصى الدراسة باستخدام الموجات فوق الصوتية (Ultrasound) لتعزيز كفاءة الاستخلاص وتقليل استخدام المواد الكيميائية.

Author Contributions: Elgubbi: Conceptualization, methodology; writing—original draft preparation, review and editing. Khalil: worked on pea seeds. Elskandi: worked on oats. Dabre: worked on peas and sesame. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.
Funding: "This research received no external funding."
Data Availability Statement: "The data supporting the findings of this study are available within the article."
Conflicts of Interest: "The authors declare that they have no conflict of interest."
Acknowledgments: "The authors would like to express their appreciation to Libyan Center for Sustainable Development Research-Zaliten for their support during the study."

References

[1] J. Tang, Y. Li, M. Wu, Y. Wang, Z. Pan, and H. Chen. "Recent Progress in Plant-based Proteins: From Extraction and Modification Methods to Applications in the Food Industry." *Food Chemistry*, vol. 23, p. 101540, 2024. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101540
[2] H. Elgubbi, A. Alajtal, N. Dabri, and S. Aboualkasem. "Evaluation of Physicochemical and Functional Properties of Isolated Pea Protein." *Nutrient and Food Technology*, vol. 8, no. 1, 2022. https://doi.org/10.16966/2470-6086.177

[3] K. Sathe and S.-Sze-Tao."Functional Properties and in vitro digestibikity of almond (prunusdulcis L.) Protein isolate" *Food Chemistry*, vol. 69, pp 153-160. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130421

[4] A. Rangel, K. Saraiva, P. Schwengber, M. Narciso, G. Domont, S. Ferreira, and C. Pedrosa. "Biological Evaluation of a Protein Isolate from Cowpea (Vigna unguiculata) Seed." *Food Chemistry*, vol. 87, no. 4, pp. 491–499, 2004. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.023

[5] J. Al Ajeeli and M. Ilowefah. "The Potential Usage of Chickpea and Flaxseed Flours in Enhancing the Nutritional Value and Functional Properties of Gluten Free Flour". *Wadi Alshatti University Journal of Pure and Applied Sciences*, vol. 4, no. 1, pp. 321–325, 2026, doi: 10.63318/waujpasv4i1_35

[6] A. Abobakr, A. Elgerbi, and M. Ilowefah. "Traditional Processing Methods in the Preparation of Libyan Suwayqa and Their Scientific Evidence". *Wadi Alshatti University Journal of Pure and Applied Sciences*, vol. 4, no. 1, pp. 387–396, 2026, doi: 10.63318/waujpasv4i1_42

[7] M. Maaew, A. Ghania, and A. Alzagtat, "The Effect of Replacing Defatted Soybean Flour on the Chemical Composition and Sensory Properties of Arabic (Shami) Bread". *Wadi Alshatti University Journal of Pure and Applied Sciences*, vol. 4, no. 1, pp. 414–420, 2026. doi: 10.63318/waujpasv4i1_45

[8] S. Abbas, et al. "Nutritional and Therapeutic Potential of Sesame Seeds." *Journal of Food Quality*, vol. 2022, no. 1. pp. 6163753, 2022. https://doi.org/10.1155/2022/6163753

[9] I. Ahmed, A. Ahmed, and R. Robinson. "Chemical Composition of Date Varieties as Influenced by the Stage of Ripening." *Food Chemistry*, vol. 54, no. 3, pp. 305–309, 1995. https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00051-J

[10] C. Eromosele, L. Arogundade, I. Eromosele, and O. Ademuyiwa. "Extractability of African Yam Bean (Sphenostylis stenocarpa) Protein in Acid, Salt and Alkaline Aqueous Media." *Food Hydrocolloids*, vol. 22, no. 8, pp. 1622–1628, 2008. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.001

[11] K. Duong-Ly, and S. Gabelli. "Salting Out of Proteins Using Ammonium Sulfate Precipitation." *Methods in Enzymology*, vol. 541, pp. 85–94, 2014. https://doi.org/ 10.1016/B978-0-12-420119-4.00007-0

[12] L. Niu, et al. "Modified TCA/acetone Precipitation of Plant Proteins for Proteomic Analysis." *PLOS ONE*, vol. 13, no. 12, pp. 0202238, 2018. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202238

[13] E. Onsaard, P. Pomsamud, and P. Audtum. "Functional Properties of Sesame Protein Concentrate from Sesame Meal." *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, vol. 3, no. 4, pp. 420–431, 2010.https://share.google/1ibLRY9FbrfuRc9xl

[14] D. Garfin. "One-dimensional Gel Electrophoresis." In M. P. Deutscher (Ed.), *Methods in Enzymology*, vol. 182, pp. 425–441. AcademicPress, 1990. https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)82035-I

[15] S. Ogunwolu, F. Henshaw, H. Mock, A. Santros, and S. Awonorin. "Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (Anacardium occidentale L.)". *Food Chemistry*, vol. 115, pp. 852-858. 2009. 10.1016/j.foodchem.2009.01.011

[16] A. Elkhalifa and R. Bernhardt. "Influence of Grain Germination on Functional Properties of Sorghum Flour." *Food Chemistry*, vol. 121, no. 2, pp. 387–392, 2010. https://doi.org/ 10.1016/j.foodchem.2009.12.041

[17] D. Wu, L. Li, J. Wan, Y. Hu, R. Gan, and L. Zou. "A Comprehensive Review of Pea (Pisum sativum L.): Chemical Composition, Processing, Health Benefits, and Food Applications." *Foods*, vol. 12, no. 13, pp. 2527, 2023. https://doi.org/10.3390/foods12132527

[18] L. Dyshlyuk, A. Izaryshev, S. Garmashov, A. Sukhikh, and E. Kashirskikh. "Studying the Features of the Protein Extraction from Oat Grains." *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 9, no. 8, pp. 1344–1349, 2017.https://share.google/Hb37GabWcBbri08W1

[19] M. Chouaibi, et al. "Nutritional Composition of Zizyphus lotus L. Seeds." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 92, no. 6, pp. 1171–1177, 2012. https://doi.org/10.1002/jsfa.4659

[20] K. Kanbargi, S. Sonawane, and S. Arya. "Functional and Antioxidant Activity of Ziziphus jujube Seed Protein Hydrolysates." *International Journal of Food Properties*, vol. 20, no. sup3, pp. S3060–S3070, 2017. https://doi.org/10.1007/s11694-015-9297-5

[21] D. Verfaillie, F. Janssen, G. Royen, and A. Wouters. "A Systematic Study of the Impact of the Isoelectric Precipitation Process on the Physical Properties and Protein Composition of Soy Protein Isolates." *Food Research International*, vol. 163, Article 112177, 2023. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112177

[22] J. Boye, F. Zare, and A. Pletch. "Comparison of the Functional Properties of Pea, Chickpea and Lentil Protein Concentrates Processed Using Ultrafiltration and Isoelectric Precipitation." *Food Research International*, vol. 43, no. 2, pp. 537. 2009. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.021

[23] C. Ma. "Preparation, Composition and Functional Properties of Oat Protein Isolate." *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, vol. 16, no. 4, pp. 201–205, 1983. https://doi.org/10.1016/S0315-5463(83)72208-x

[24] K. Khalid, E. Babiker, and A. El-Tinay. "Preparation and Functional Properties of Sesame Protein Isolate." *Food Chemistry*, vol. 82, no. 2, pp. 297–303, 2003. https://shara.google/eKcmUXNICd4RstSW9

[25] J.Harasym, O. Paroń, and E. Pejcz "Pea Protein Isolates: From Extraction to Molecules 2025, 30(23), 4650 Functionality – MDPI https://doi.org/10.3390/molecules30234650

[26] E. Onsaard, and S. Sinharaj. "Production and Characteristic of Sesame Proteins." *Journal of Food and Agricultural Technology*, vol. 1, no. 1, pp. 188–192, 2015. https://www.academia.edu/attachments/37958383/download_file

[27] C. Klamczynska, and B. Baik. "Preparation of Bean Curds from Protein Fractions of Six Legumes." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, no. 6, pp. 3068–3073, 2001. https://doi.org/10.1021/jf0013398

[28] J. Yu, M. Ahmedna, and I. Goktepe. "Peanut Protein Concentrate: Production and Functional Properties as Affected by Processing." *Food Chemistry*, vol. 103, no. 1, pp. 121–129, 2007.https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2006.08.012

[29] M. Ellouze, C. Vial, H. Attia, and M. A. Ayadi. "Effect of pH and Heat Treatment on Structure, Surface Characteristics and Emulsifying Properties of Purified Camel β-casein." *Food Chemistry*, vol. 365, pp. 130421, 2021. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130421

[30] X. Mao, and Y. Hua. "Composition, Structure and Functional Properties of Protein Concentrates and Isolates Produced from Walnut (Juglans regia L.)." *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 13, no. 2, pp. 1561–1581, 2012. https://doi.org/10.3390/ijms13021561

[31] J. Ogungbenle, and F. Onoge. "Nutrient Composition and Functional Properties of Raw, Defatted and Protein Concentrate of Sesame (Sesamum indicum) Flour." *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, vol. 2, no. 4, pp. 37–3, 2014.https://share.google/2014/mZE4GrtYK0eBaDf7A

[32] J. Pagan, A. Ibarz, V. Falguera, and R. Benitez, "Enzymatic hydrolysis kinetics and nitrogen recovery in the protein hydrolysate production from pig bones." *Journal of Food Engineering*, vol. 119, no. 3, pp. 655-659, 2013. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.06.040