



## بهینه‌سازی راندمان استخراج و خواص فیزیکی شیمیایی و عملکردی موسیلاژ دانه گزنه رومی

مریم جعفری<sup>۱\*</sup>، زهرا اسیوند<sup>۲</sup> و سارا امیری سامانی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۲۴

<sup>۱</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران  
<sup>۲</sup> استادیار مرکز تحقیقات گیاهان داروئی ادویه‌ای و عطری، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران  
<sup>۳</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

\* مسئول مکاتبه: Email: afari.iaushk@yahoo.com

### چکیده

**زمینه مطالعاتی:** در طی سال‌های اخیر تحقیقات بسیاری جهت یافتن منابع جدید هیدروکلوئیدی به خصوص از منابع گیاهی بومی و بررسی خواص عملکردی آن‌ها انجام شده است و استخراج هیدروکلوئیدها از منابع گیاهی جدید و مورد توجه زیادی قرار گرفته است. هدف: گزنه رومی (*Urtica pilulifera*) از دیرباز در طب سنتی استفاده‌های فراوان داروئی داشته و دانه‌های این گیاه نیز می‌تواند منبع بالقوه‌ای برای استخراج موسیلاژ باشد. در تحقیق حاضر، بهینه‌سازی شرایط استخراج موسیلاژ دانه‌های این گیاه مورد بررسی قرار گرفته است. روش کار: در این تحقیق با روش سطح پاسخ، تأثیر چهار متغیر مستقل در سه سطح شامل نسبت دانه به آب (۱:۵، ۱:۱۷/۵، ۱:۳۰)، دما (۳۰، ۵۷/۵، ۸۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۳۰، ۱۳۵، ۲۴۰ دقیقه) و pH (۳، ۶/۵، ۱۰) بر راندمان استخراج، محتوای پروتئین، پایداری امولسیون و شاخص‌های رنگ ( $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$ ) موسیلاژ دانه مورد بررسی قرار گرفت. **نتایج:** افزایش دما (تا حد مشخص) و نسبت آب به دانه و pH بر افزایش راندمان استخراج موسیلاژ تأثیر معناداری ( $p < 0.05$ ) داشتند. در pHهای بالاتر، زمان کوتاه‌تر و مقادیر کمتر آب، محتوای پروتئینی موسیلاژ کمتر بود. موسیلاژ استخراج شده در pHهای پایین‌تر و مقادیر کمتر آب، تأثیر بیشتری در پایداری امولسیون نشان داد. بر اساس نتایج، فقط متغیر pH بر شاخص‌های رنگ تأثیرگذار بوده و با افزایش pH به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌دار در شاخص روشنایی و قرمزی مشاهده شد. **نتیجه گیری نهائی:** پس از بهینه‌سازی عددی، شرایط بهینه استخراج به صورت pH برابر با ۴/۲۳، زمان استخراج ۲۳۹/۹ دقیقه، دمای استخراج ۴۵/۷۹ درجه سانتی‌گراد و نسبت آب ۵ برابر دانه تعیین شد. در شرایط بهینه بازده استخراج ۱۱/۰۸ درصد، محتوای پروتئینی ۱۴/۵۵ درصد، بیشترین پایداری امولسیون ۵۰ درصد، شاخص  $L^*$  ۴۷/۵۹ و شاخص  $a^*$  ۱۵/۰۵ محاسبه شد که مطابقت خوبی با مقادیر پیش‌بینی شده داشت.

**واژگان کلیدی:** استخراج موسیلاژ، بهینه‌سازی، پایداری امولسیون، گزنه رومی

## مقدمه

هیدروکلونیدها بیوپلیمرهایی با وزن مولکولی بالا و آبدوست هستند و به عنوان اجزای عملگرا، به دلیل ویژگی‌های متعددی از جمله افزایش قوام، ژل‌کنندگی، کنترل ریز ساختار، بافت، عطر و طعم و بهبود زمان نگهداری، در فرمولاسیون‌های غذایی کاربرد گسترده‌ای دارند (امیری عقدائی و همکاران ۱۳۸۹). اخیراً تقاضا برای هیدروکلونیدها با خواص عملکردی ویژه افزایش یافته است، از این رو یافتن منابع جدید با ویژگی‌های مناسب، اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. هیدروکلونیدها می‌توانند از منابع گیاهی، حیوانی، میکروبی و حتی با روش‌های کاملاً شیمیایی تامین شوند. در حال حاضر کارژئین، ژلاتین و نشاسته بیشترین مصرف را در بین هیدروکلونیدها داشته ولی با توجه به کمبود و گرانی منابع حیوانی، شیوع بیماری‌های مشترک دام و انسان، تغییر سبک زندگی و تمایل به گیاه‌خواری لزوم توجه به منابع گیاهی (خصوصاً منابع جدید) بیش از پیش آشکار می‌شود (دلیلی و همکاران ۱۳۹۴؛ استیوز و همکاران ۲۰۰۴). مطالعات متعددی در رابطه با استخراج هیدروکلونیدهای گیاهی و بررسی خواص عملکردی آنها از برخی از منابع گیاهی بومی ایران در سال‌های اخیر صورت گرفته است که از آن جمله می‌توان به بررسی راندمان استخراج و خصوصیات هیدروکلونیدهای دانه شاهی، قدومه شیرازی، قدومه شهری و مرو (رضوی و همکاران ۱۳۹۰)، استخراج موسیلاژ دانه به با روش فراصوت (فرهمند و همکاران ۱۳۹۵)، بهینه‌سازی استخراج صمغ دانه بارهنگ (نیکنام و همکاران ۱۳۹۷)، بهینه‌سازی استخراج صمغ دانه شنبلیله (قبادی و همکاران ۱۳۹۷) و بهینه‌سازی استخراج صمغ سریش و بررسی خصوصیات آن (صلاحی و همکاران ۱۴۰۰) اشاره کرد. همچنین تاثیر موسیلاژ گیاه بامیه بر ویژگی‌های حسی ماست کم چرب نیز توسط دلیلی و همکاران (۱۳۹۴) بررسی شده و نتایج نشان داد که نمونه

ماست حاوی ۰/۰۸ درصد موسیلاژ بالاترین امتیاز حسی از نظر خصوصیات بافتی را داشته است. گزنه از جمله داروهای گیاهی می‌باشد که از دیرباز در طب سنتی کاربرد گسترده‌ای داشته است. گزنه دارای گونه‌های متعددی (۳۵-۴۰ گونه) می‌باشد (دیکینسون ۲۰۰۳). سه گونه عمده آن که از نظر دارویی مورد توجه هستند و در ایران نیز یافت می‌شوند شامل گزنه درشت (*Urtica dioica* L.)، گزنه کوچک (*Urtica urens* L.) و گزنه رومی (*Urtica pilulifera* L.) می‌باشد (بودروس و بالی ۲۰۰۸). با وجود تحقیقات مربوط به کاربردهای دارویی گیاه گزنه، خلاء ناشی از تحقیقات علمی در زمینه موسیلاژ دانه کاملاً محسوس است. بنابراین پژوهش حاضر به منظور بهینه‌سازی بازده استخراج و خصوصیات فیزیکی شیمیایی و عملکردی موسیلاژ استخراج شده از دانه گزنه رومی طراحی شده است.

## مواد و روش‌ها

دانه گزنه رومی از جهاد کشاورزی استان چهارمحال و بختیاری خریداری و پس از تمیز کردن و حذف مواد خارجی، بسته‌بندی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تمامی مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

## ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی دانه گزنه رومی

اندازه‌گیری رطوبت، چربی، خاکستر، پروتئین و فیبر دانه، به ترتیب با روش‌های (AOAC ۲۰۰۱/۱)، AOAC ۹۹۴/۰۶، AOAC ۹۴۰/۲۶، AOAC ۹۹۹/۰۱، AOAC ۹۹۱/۴۳ انجام شد. با کسر مجموع داده‌های اندازه‌گیری شده از ۱۰۰، مقدار تقریبی کربوهیدرات محاسبه شد.

## طرح آزمایشی

در این تحقیق به منظور بهینه‌سازی شرایط برای استخراج موسیلاژ، چهار متغیر مختلف در سه سطح با استفاده از روش سطح پاسخ طرح دی-اوپتیمال مورد

8	10	85	135	30
9	10	30	240	30
10	10	85	30	5
11	10	57.5	30	30
12	3	85	240	5
13	3	85	240	5
14	10	30	30	5
15	3	85	30	30
16	10	30	30	5
17	10	57.5	240	5
18	10	30	240	30
19	6.5	71.25	135	17.5
20	6.5	57.5	240	17.5
21	3	85	30	30
22	6.5	30	135	17.5
23	6.5	85	240	30
24	3	30	30	30
25	10	85	240	17.5

بررسی قرار گرفت. متغیرهای مورد استفاده و سطوح هر کدام در جدول ۱ قابل مشاهده است.

جدول ۱- سطوح متغیرهای به کار رفته در بهینه‌سازی شرایط استخراج موسیلاژ از دانه گزنه رومی

**Table 1- Levels of independent variables used in optimization of Roman nettle seed mucilage extraction**

Independent variables	Symbols	Range and levels		
		-1	0	+1
pH	A	3	6.5	10
Temperature (°C)	B	30	57.5	85
Time (min)	C	30	135	240
Seed to water ratio	D	1:5	1:17.5	1:30

تیمارهای انتخابی توسط نرم افزار شامل ۲۵ تیمار بود که در جدول ۲ قابل مشاهده است.

جدول ۲- تیمارهای طراحی شده توسط نرم افزار برای متغیرهای مستقل استخراج موسیلاژ از دانه گزنه رومی

**Table 2- Experimental settings of the independent factors used for Roman nettle seed mucilage extraction**

Exp. No.	pH	Temperature (°C)	Time (min)	Water to seed ratio
1	10	57.5	135	17.5
2	6.5	57.5	30	17.5
3	3	57.5	30	5
4	3	57.5	135	17.5
5	10	85	30	5
6	3	30	240	5
7	3	57.5	240	30

### استخراج موسیلاژ

برای تنظیم pH محیط استخراج موسیلاژ طبق تیمارهای پیشنهادی نرم‌افزار، از HCl و یا NaOH (۰/۱ مولار) استفاده شد. در هر کدام از تیمارها پس از استخراج موسیلاژ و به منظور جداسازی آن از فاز آبی و تخلیص، از الکل اتیلیک به نسبت ۳ به ۱ (الکل ۳ برابر آب) استفاده شد. در نهایت رسوب موسیلاژ از فاز مایع جداسازی

## نتایج و بحث

### ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی دانه‌های گزنه رومی

جدول ۳ ویژگی‌های شیمیایی دانه‌های گزنه رومی مورد استفاده در این تحقیق را نشان می‌دهد.

جدول ۳- ویژگی‌های شیمیایی دانه‌های گزنه رومی

Table 3- Proximate analysis of Roman nettle seeds

Components	Amount (%)
Moisture	6.02±0.05
Ash	6.80±0.01
Crude oil	28.30±0.45
Crude protein	19.0±0.67
Crude fiber	30.5±0.06
Carbohydrate	9.38±0.30

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود میزان رطوبت در دانه‌های مورد بررسی حدود ۶ درصد می‌باشد و چنین محتوای رطوبتی به عنوان یک پارامتر مثبت در انبارداری و نگهداری طولانی مدت دانه‌ها قلمداد می‌شود زیرا احتمال بروز فساد ناشی از فعالیت‌های میکروبی، رشد قارچ‌ها و فعالیت‌های آنزیمی را بسیار کاهش می‌دهد.

میزان خاکستر (املاح) به عنوان شاخصی از کیفیت کنجاله بعد از روغن‌کشی به منظور استفاده به عنوان خوراک ماکیان و دام در نظر گرفته می‌شود (الینگ و همکاران ۲۰۱۲). این پارامتر تحت تاثیر شرایط خاک و منطقه جغرافیایی رشد گیاه قرار دارد. مطابق با جدول ۳ مقدار خاکستر در دانه‌های مورد بررسی ۶/۸ درصد محاسبه شده است که بیشتر از مقادیر گزارش شده (۴/۰۷ درصد) توسط جعفری و همکاران (۲۰۲۰) برای این دانه است.

میزان روغن در دانه‌ها از نظر تغذیه‌ای و نیز صنعتی مورد توجه می‌باشد. عواملی مانند میزان رسیدگی، شرایط محیطی و زمان برداشت از عوامل تاثیرگذار بر روی میزان چربی در دانه‌ها می‌باشند (نیام و همکاران

شده و توسط آون تحت خلاء در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک، آسیاب و الک شد (استیو و همکاران ۲۰۰۴).

### محاسبه راندمان استخراج موسیلاژ

مقدار موسیلاژ خام استخراج شده بر اساس درصد وزنی مطابق رابطه زیر محاسبه شد:

$$100 \times (\text{وزن دانه}) / (\text{وزن موسیلاژ}) = \text{بازده استخراج}$$

### تعیین پروتئین خام موسیلاژ

میزان پروتئین موجود در موسیلاژ استخراج شده با استفاده از روش کلدال (طبق روش ذکر شده در مرحله قبل) و با در نظر گرفتن ضریب تبدیل ۶/۲۵ محاسبه شد (شهرکی و همکاران ۲۰۰۸).

### بررسی پایداری حرارتی امولسیون تهیه شده با موسیلاژ دانه گزنه رومی

ابتدا محلول ۰/۵٪ از موسیلاژ در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد (جهت انحلال راحت و کامل هیدروکلوئید) تهیه شد. سپس این محلول سرد شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت به منظور هیدراته شدن کامل صمغ نگهداری شد. امولسیون روغن در آب (۲۰٪ وزنی) با افزودن ۲۰ گرم روغن سویا به محلول صمغ هیدراته شده همراه با همزدن توسط میکسر (۳ دقیقه) و در ادامه هموژن کردن در ۹۵۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق تهیه شد. این امولسیون به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰ سانتریفیوژ شد (کوچکی و همکاران ۲۰۰۹b). پایداری امولسیون بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید:

$$100 \times \text{حجم اولیه امولسیون} / \text{حجم امولسیون نهایی} = \text{پایداری}$$

### اندازه‌گیری رنگ

اندازه‌گیری رنگ به روش عکس برداری هانتربل تحت شرایط کنترل شده انجام شد. به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های \*L، \*a و \*b، از روش بررسی تصاویر موسیلاژ خشک شده توسط هانتربل مدل Color flex ساخت کشور آمریکا استفاده شد.

ضریب همبستگی ۰/۷۳ مطابق با رابطه زیر برای راندمان استخراج موسیلاژ پیشنهاد شد:

$$\text{Extraction yield (\%)} = 10.75 + 1.42 \text{ AD} - 2.46 \text{ C}^2$$

در بررسی اثر متغیرها بر راندمان استخراج مشخص شد که اثر متقابل نسبت آب به دانه و pH و اثر درجه دوم دما دارای تأثیر معنادار در سطح احتمال پنج درصد ( $p < 0.05$ ) می‌باشند (جدول ۵). بنابراین بر اساس نتایج آنالیز واریانس، میزان استخراج موسیلاژ از دانه گزنه رومی به طور مستقیم تحت تأثیر pH و نسبت آب به دانه بوده (شکل ۱) و کمتر تحت تأثیر زمان می‌باشد. با افزایش نسبت آب به دانه، امکان هیدراته شدن بیشتر ترکیبات پلی‌ساکاریدی به دلیل در دسترس بودن آب کافی فراهم شده و بیشتر هیدراته می‌شوند و این مسئله سبب افزایش نیروی رانش جهت خروج موسیلاژ از دانه می‌شود. با افزایش pH راندمان استخراج موسیلاژ نیز روند صعودی نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل خروج مواد پروتئینی و آزاد شدن راحت‌تر موسیلاژ باشد (عباس تبار و همکاران ۱۳۹۳). همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، تأثیر درجه دوم دما در استخراج موسیلاژ به این صورت است که با افزایش دما تا حد معین، ابتدا میزان استخراج موسیلاژ روند صعودی داشته که می‌تواند به دلیل کاهش ویسکوزیته موسیلاژ متصل به دانه و بنابراین سهولت استخراج آن باشد؛ همچنین سرعت انتقال جرم پلی‌ساکاریدهای محلول در دمای بالاتر افزایش می‌یابد (کوچکی و همکاران ۲۰۰۹a,b). با این حال، افزایش بیشتر در دمای استخراج، نتیجه معکوس به همراه داشته و سبب کاهش میزان استخراج شده است. این مسئله ممکن است به دلیل شکسته شدن و هیدرولیز ساختار موسیلاژ در اثر وارد آمدن تنش حرارتی در محیط آبی و دمای بالای استخراج باشد (کاظمی و همکاران ۲۰۲۰).

میزان روغن در دانه گزنه قابل توجه بوده (۲۸/۳ درصد) و قابل مقایسه با برخی از منابع روغنی تجاری مانند سویا، گلرنگ و کانولا می‌باشد. بنابراین با توجه به درصد روغن بالا و نیز غالب بودن اسید لینولئیک و اسید اولئیک (جعفری و همکاران ۲۰۲۰) در دانه‌های این گیاه، می‌توان آن را به عنوان یک منبع روغن گیاهی مناسب برای استفاده‌های صنعتی و غذایی معرفی کرد.

میزان پروتئین نیز در دانه‌های مورد بررسی مقدار قابل توجهی (۹ درصد) را به خود اختصاص داده است که مشابه با محتوای پروتئین گزارش شده در برخی از حبوبات (۲۴-۱۸ درصد) می‌باشد (ادی اموای و همکاران ۲۰۱۵). بنابراین نه تنها دانه کامل بلکه کنجاله حاصل از روغن‌کشی از محتوای پروتئینی قابل توجهی برخوردار است. میزان پروتئین محاسبه شده برای دانه‌های گزنه رومی در تحقیق حاضر کمتر از مقدار گزارش شده توسط جعفری و همکاران (۲۰۲۰) برای این گونه گیاهی است.

مقدار فیبر در دانه‌های مورد بررسی ۳۰/۵ درصد و بیش از مقادیر گزارش شده برای کنجد (۴/۶ درصد)، آفتابگردان (۳/۴ درصد)، گونه‌های کدوی ایرانی (۳/۲-۰/۵ درصد) و پنبه‌دانه (۱۰/۸ درصد) بوده (جعفری و همکاران ۲۰۱۲) و مشابه مقدار فیبر اندازه‌گیری شده برای دانه هندوانه (۳۳/۱٪)، دانه چیا (۳۴٪)، دانه گلرنگ (۲۵/۲۹٪) و دانه زرین گیاه (۳۶٪) می‌باشد (گلی و همکاران ۲۰۱۳). مقدار کربوهیدرات در این دانه‌ها حدود ۹ درصد می‌باشد و بنابراین نمی‌توان آن را به عنوان منبع خوبی از کربوهیدرات در نظر گرفت.

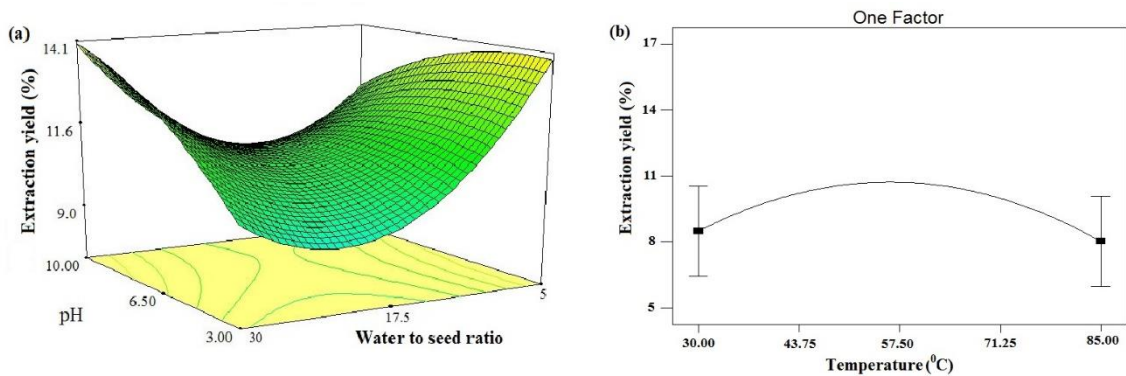
**بررسی اثر متغیرها و برهمکنش آنها بر بازده استخراج موسیلاژ**

با توجه به جدول ۴، بازده استخراج موسیلاژ در بازه ۵/۸۵ تا ۱۶/۷۸ درصد بوده که بالاترین و پائین‌ترین بازده به ترتیب مربوط به تیمار شماره ۸ و ۲۲ می‌باشد. پس از آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار، مدل درجه دوم با

جدول ۴- داده‌های به‌دست آمده برای بازده استخراج، مقدار پروتئین، پایداری امولسیون و خصوصیات رنگی موسیلاژ

Table 4- Obtained results for extraction yield, protein content, emulsion stability and color indices of mucilage

Exp. No	Yield (%)	Protein (%)	Emulsion stability (%)	b*	a*	L*
1	8.63	10.10	5	18.45	19.79	40
2	11.03	12.87	35	22.93	16.42	46.51
3	12.01	15.79	35	22.42	15.89	47.83
4	10.22	16.44	35	20.46	15.46	49.48
5	7.50	15.39	30	19.44	17.82	45.67
6	11.81	15.31	50	22.71	15.65	48.76
7	9.19	17.14	35	22.80	15.65	48.77
8	16.78	18.24	5	22.86	18.06	45.05
9	9.80	16.10	35	19.19	16.98	47.66
10	7.76	15.37	30	20.17	16.70	45.64
11	11.61	2.80	0	20.38	16.46	45.28
12	9.03	15.31	35	20.98	15.43	49.61
13	8.78	15.31	30	19.92	15.44	50.07
14	9.63	14.94	30	21.32	15.97	46.30
15	7.05	15.50	40	20.11	15.44	49.69
16	9.20	14.53	35	19.65	16.58	46.92
17	12.11	14.88	35	20.66	16.28	46.29
18	9.58	15.75	35	20.97	15.60	48.59
19	11.37	14.86	35	20.93	15.45	48.73
20	12.06	14	35	19.68	15.61	47.71
21	7.02	15	40	19.68	15.68	49.81
22	5.85	15	30	22.10	15.54	47.41
23	9.47	15.14	35	19.37	15.84	48.30
24	7.78	15.75	40	21.34	15.68	49.01
25	9.03	16.80	2.5	19	17.32	45.18

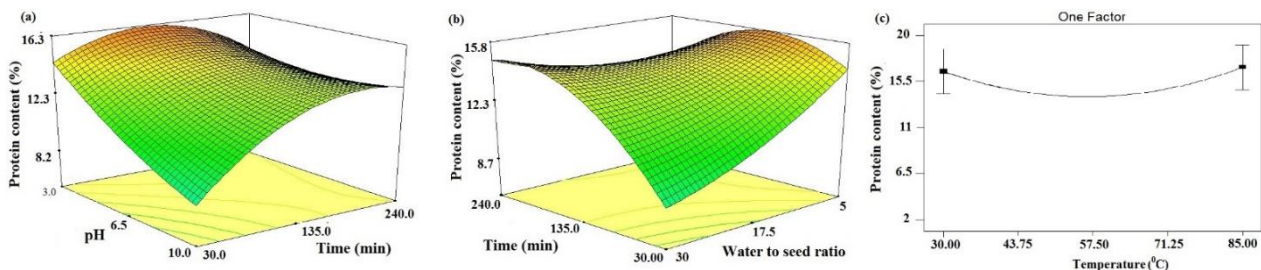


شکل ۱- تصویر سه بعدی (a) اثر متقابل متغیرهای pH و نسبت آب به دانه و (b) اثر دما بر بازده استخراج موسیلاژ  
Figure 1- 3D plot for the interaction effects of pH and water/ seed ratio (a) and effect of temperature on mucilage extraction yield

فاکتورهای موثر و معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بر مقدار پروتئین، اثر خطی pH، اثر خطی زمان، برهمکنش pH و زمان، برهمکنش زمان و نسبت آب به دانه، و اثر درجه دوم دمای استخراج بوده است. معادله درجه دوم به دست آمده برای مقدار پروتئین موجود در موسیلاژ مطابق با رابطه زیر می‌باشد:

$$\text{Protein content (\%)} = 13.81 - 1.68 A + 1.40 B + 1.51 AB + 1.83 BD + 2.66 C^2$$

بررسی اثر متغیرها و برهمکنش آنها بر مقدار پروتئین در موسیلاژ استخراج شده با توجه به جدول ۴، مقدار پروتئین موجود در موسیلاژ استخراج شده در دامنه ۲/۸۰ تا ۱۸/۲۴ درصد بوده که بالاترین و پائین‌ترین مقدار به ترتیب مربوط به تیمار شماره ۸ و ۱۱ می‌باشد. مدل پیشنهادی توسط نرم افزار برای محتوای پروتئین موجود در موسیلاژ، مدل درجه دوم با ضریب همبستگی ۰/۸۱ و p-value بسیار کوچک ( $p < 0.001$ ) بود. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که



شکل ۲- (a) اثر متغیرهای pH و زمان، (b) برهمکنش زمان و نسبت آب به دانه و (c) تاثیر دما و بر محتوای پروتئین موسیلاژهای استخراج شده

Figure 2- 3D plot for the effects of (a) pH and time (b) interaction of time and water/ seed ratio and (c) temperature on protein content of mucilage

ممکن است به دلیل سهولت حل‌الیت پروتئین‌ها در محدوده pH قلیایی باشد. نتایج حاضر در راستای نتایج گزارش شده توسط کاراژیان و همکاران (۲۰۱۱) بر روی استخراج موسیلاژ دانه شاهی می‌باشد. البته استیو و همکاران (۲۰۰۴) استخراج اسیدی را سبب کاهش محتوای

در شکل ۲ اثر متقابل متغیر pH و زمان بر محتوای پروتئینی موسیلاژ نشان داده شده است ضمن اینکه تاثیر خطی آنها نیز در شکل قابل بررسی است. محتوای پروتئینی موسیلاژ در pHهای پایین‌تر، به طور معناداری بیش از pHهای قلیایی می‌باشد. این افزایش

از آن با شیب نسبتاً تندی کاهش می‌یابد. از آنجایی که حضور پروتئین‌ها همراه با صمغ به دلیل خاصیت امولسیفایری پروتئین می‌تواند تأثیر مثبت در پایداری امولسیون توسط صمغ داشته باشد و در نتایج مربوط به محتوای پروتئین در موسیلاژ مشخص شد که استخراج موسیلاژ در pHهای قلیایی باعث کاهش محتوای پروتئینی در موسیلاژ می‌شود؛ بنابراین، کاهش مشهود در پایداری امولسیون‌ها در pHهای بالاتر، احتمالاً به دلیل محتوای پروتئینی کمتر در موسیلاژ این نمونه‌ها است. آنچه مشهود است آن است که در شرایطی که از نسبت آب به دانه بیشتر و pHهای بالاتر برای استخراج موسیلاژ استفاده شده باشد به ضعیف‌ترین حالت از نظر پایداری امولسیون تهیه شده با موسیلاژ خواهیم رسید. در شکل ۳ مشاهده می‌شود که تأثیر افزایش دما در مرحله استخراج موسیلاژ، بر پایداری امولسیون تهیه شده با آن به صورت تأثیر منفی می‌باشد که این مسئله را می‌توان به امکان بروز تغییرات برگشت ناپذیر در ساختار مولکولی موسیلاژ در اثر وارد آمدن تنش حرارتی نسبت داد. بنابراین میزان تورم و قابلیت ژل‌دهی موسیلاژ کاهش پیدا کرده و این مسئله کاهش پایداری امولسیونی را به دنبال خواهد داشت (کوچکی و همکاران ۲۰۰۹ a,b). طولانی‌تر شدن زمان استخراج موسیلاژ نیز بر پایداری امولسیون تهیه شده از آن تأثیر منفی داشته است که احتمالاً می‌تواند به دلیل فراهم شدن امکان خروج ناخالصی‌های بیشتر همراه با موسیلاژ باشد (گارسیا و کازاس ۱۹۹۲؛ حسینی و همکاران ۲۰۱۶). در مطالعه ادواردو کامبوز و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شد که دمای استخراج، زمان و مقدار آب به صورت خطی تأثیر معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در کاهش پایداری امولسیون تهیه شده از موسیلاژ چیا داشته است.

پروتئین اعلام کردند و دلیل آن را هیدرولیز اسیدی مولکول‌های پروتئین در موسیلاژ عنوان کردند. به طور کلی، استخراج موسیلاژ در pHهای بالاتر و زمان کوتاه‌تر منجر به استخراج موسیلاژ با محتوای پروتئینی حداقل خواهد شد. بررسی اثر متقابل نسبت آب به دانه و زمان بر محتوای پروتئینی موسیلاژ (شکل ۲) نشان می‌دهد که با افزایش زمان استخراج میزان استخراج پروتئین در موسیلاژ افزایش یافته و البته با طولانی‌تر شدن زمان استخراج، روند این تغییرات کندتر و در نهایت تقریباً ثابت می‌شود. افزایش نسبت آب به دانه نیز باعث کاهش میزان پروتئین در موسیلاژ شده که دلیل آن احتمالاً امکان حلالیت بیشتر پروتئین در محیط آبی و خروج بیشتر آن از موسیلاژ است. با افزایش دما تا یک حد معین میزان پروتئین در موسیلاژ روند کاهشی و سپس با افزایش بیشتر در دمای استخراج تا ۸۵ درجه سانتیگراد محتوای پروتئین مجدداً افزایش می‌یابد.

#### بررسی اثر متغیرها و برهمکنش آنها بر پایداری امولسیون

در ارتباط با پایداری امولسیون، مدل درجه دوم در سطح احتمال ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) با ضریب همبستگی ۰/۹۱ معنی‌دار شد. از بین متغیرهای مورد بررسی اثر خطی pH، دما و نسبت آب به دانه بر پایداری امولسیون حاوی موسیلاژ به طور معنی‌دار تأثیرگذار هستند ( $p < 0.05$ ). به علاوه اثر متقابل pH و نسبت آب به دانه و نیز اثر متقابل دمای استخراج و زمان، تأثیر درجه دوم pH و تأثیر درجه دوم نسبت آب به دانه نیز بر تغییرات این پاسخ معنی‌دار بودند ( $p < 0.05$ ) (جدول ۵). معادله درجه دوم به دست آمده برای میزان پایداری امولسیون مطابق رابطه زیر می‌باشد:

$$\text{Emulsion stability} = 32.14 - 9.06 A - 5.12 C - 5.57 D - 5.20 AD - 5.68 BC - 14.22 A^2 + 10.42 D^2$$

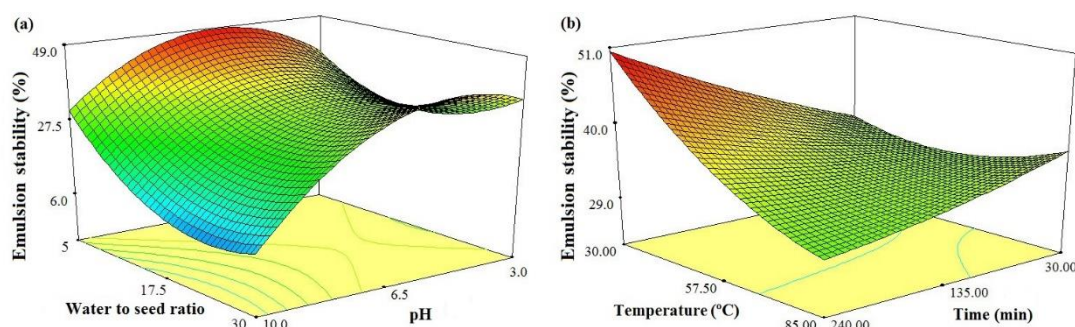
شکل ۳ نشان می‌دهد که با افزایش pH، پایداری امولسیون با یک روند سهمی‌وار ابتدا کمی افزایش و پس



جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس و ضرایب رگرسیون مدل پیشنهادی

Table 5- Analysis of variance (ANOVA) and regression coefficients of the predicted model

Source	Extraction yield		Protein content		Emulsion stability		L*		a*	
	Coefficient	P-value	Coefficient	P-value	Coefficient	P-value	Coefficient	P-value	Coefficient	P-value
Model	-	0.015	-	0.043	-	0.0016	-	0.0017	-	0.011
Constant	10.75	-	13.81	-	32.14	-	47.54	-	16.18	-
A	0.69	0.173	-1.68	0.007	-9.06	0.0001	-1.77	<0.0001	0.77	0.0007
B	0.26	0.597	1.40	0.020	2.60	0.115	0.32	0.388	-0.11	0.582
C	0.10	0.833	0.31	0.557	-5.12	0.007	-0.23	0.583	0.28	0.202
D	-0.30	0.569	-1.06	0.087	-5.57	0.007	0.17	0.667	0.027	0.894
AB	0.38	0.492	1.51	0.025	2.46	0.181	-	-	-	-
AC	0.91	0.113	0.57	0.333	-2.19	0.222	-	-	-	-
AD	1.42	0.022	-1.01	0.103	-5.20	0.011	-	-	-	-
BC	0.31	0.564	-0.016	0.978	-5.68	0.006	-	-	-	-
BD	-0.075	0.888	1.83	0.008	1.49	0.392	-	-	-	-
CD	1.16	0.056	0.16	0.789	-1.01	0.568	-	-	-	-
A <sup>2</sup>	-0.59	0.639	0.60	0.659	-14.22	0.004	-	-	-	-
B <sup>2</sup>	-0.78	0.542	-2.10	0.145	0.83	0.837	-	-	-	-
C <sup>2</sup>	-2.46	0.019	2.66	0.018	3.17	0.289	-	-	-	-
D <sup>2</sup>	2.50	0.109	0.69	0.663	10.42	0.045	-	-	-	-



شکل ۳- تاثیر (a) نسبت آب به دانه و pH (b) دما و مدت زمان استخراج بر پایداری امولسیون تهیه شده با موسیلاژ  
Figure 3- Effects of (a) water/ seed ratio and pH (b) temperature and time of extraction on emulsion stability

و زمان استخراج و همچنین pH بصورت خطی بر رنگ موسیلاژ استخراج شده از دانه قدومه شهری و نیز دما، زمان استخراج و نسبت آب به دانه بر رنگ موسیلاژ استخراج شده از تخم شربتی تاثیرگذار است (حسینی و همکاران ۲۰۱۶). مدل خطی به دست آمده برای شاخص  $L^*$  موسیلاژ حاصل از دانه گزنه رومی مطابق رابطه زیر می باشد:

$$L^* = 47.54 - 1.77A$$

شاخص  $a^*$  میزان نزدیکی رنگ نمونه به رنگ سبز و قرمز را نشان می دهد و دامنه آن از ۱۲۰- (سبز خالص) تا ۱۲۰+ (قرمز خالص) متغیر است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که در بین متغیرهای مورد بررسی فقط اثر

بررسی اثر متغیرها بر روی پارامترهای رنگی موسیلاژ

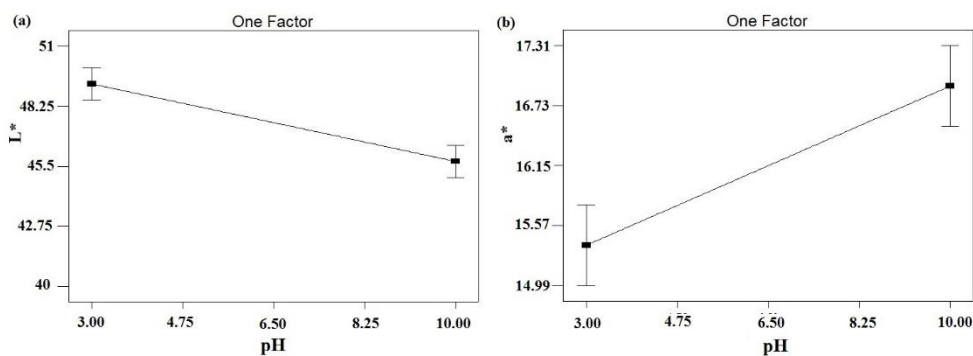
شاخص  $L^*$  معرف میزان روشنی نمونه می باشد و دامنه آن از صفر (سیاه خالص) تا ۱۰۰ (سفید خالص) متغیر است. نتایج آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر شاخص رنگی موسیلاژ (جدول ۵) نشان داد که فقط اثر خطی pH بر این پارامتر به طور معنی دار تاثیر گذار بوده است؛ به طوری که با افزایش pH، شاخص L به صورت خطی کاهش پیدا کرده است (شکل ۴). این پدیده می تواند به دلیل شدن بیشتر ترکیبات رنگی موجود در پوست دانه به دلیل افزایش pH محیط استخراج باشد. در تحقیقات پیشین نیز اشاره شده است که عواملی مانند دما

کاظمی و همکاران (۲۰۲۰). مدل خطی به‌دست آمده برای شاخص  $a^*$  موسیلاژ حاصل از دانه گزنه رومی مطابق رابطه زیر می‌باشد:

$$a^* = 16.18 + 0.77A$$

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که مدل به‌دست آمده برای مولفه  $b$  معنی‌دار نبوده که نشان دهنده عدم موثر بودن اثرات خطی و درجه دوم متغیرها بر این مولفه رنگی می‌باشد ( $p > 0.05$ ).

خطی pH بر این مولفه معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). همانطور که در شکل ۴ قابل مشاهده است افزایش pH با یک روند خطی سبب افزایش فاکتور  $a$  شده است (شکل ۴). فاکتور  $a$  در محدوده مثبت بیان‌کننده میزان قرمزی در مواد می‌باشد که همانطور که قبلاً هم در مقایسه نتایج حاصل از آنالیز پارامتر  $L^*$  بیان شد به دلیل احتمال آزاد شدن بیشتر ناخالصی‌ها و ترکیبات رنگی از پوست دانه و ورود آنها به موسیلاژ استخراج شده، شاخص  $a^*$  نیز روند افزایشی را نشان می‌دهد (حسینی و همکاران ۲۰۱۶)؛



شکل ۴- تاثیر تغییرات pH بر (a) شاخص  $L^*$  و (b) شاخص  $a^*$  رنگ موسیلاژ  
Figure 4- Effect of pH changes on (a)  $L^*$  and (b)  $a^*$  indices of mucilage color

۱۱/۴۵ درصد، حداقل محتوای پروتئین ۱۳/۱۵ درصد، بیشترین پایداری امولسیون ۴۹/۱۴ درصد، شاخص  $L^*$  و  $a^*$  به ترتیب ۴۸/۹۳ و ۱۵/۴۳ داشت.

### نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق بهینه‌سازی استخراج موسیلاژ از دانه گزنه رومی به عنوان یک منبع هیدروکلوئید جدید مورد بررسی قرار گرفت و تاثیر متغیرهایی همچون دما و مدت زمان استخراج، pH محیط استخراج و نسبت آب به دانه بر بازده استخراج موسیلاژ و برخی از خصوصیات فیزیکی شیمیایی و عملکردی آن بررسی شده و بهینه‌سازی شد. نتایج نشان داد که تغییرات pH از فاکتورهای بسیار موثر در تغییر خصوصیات موسیلاژ مورد بررسی می‌باشد به طوری که افزایش pH علی‌رغم تاثیر مثبت بر افزایش راندمان استخراج، باعث تیره‌تر شدن رنگ (شاخص روشنایی) و کاهش پایداری امولسیون تهیه شده با

### بهینه‌سازی شرایط استخراج

شرایط عملیاتی بهینه برای استخراج موسیلاژ از دانه گزنه رومی به منظور دستیابی به حداکثر راندمان استخراج، حداکثر پایداری امولسیون، حداقل محتوای پروتئینی (به عنوان ناخالصی) و خصوصیات رنگی مطلوب (به ترتیب بیشترین و کمترین میزان برای شاخص روشنایی و قرمزی) با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی نرم افزار Design Expert جستجو شد. در شرایط بهینه، مقادیر متغیرهای مستقل به صورت pH برابر با ۴/۲۳، زمان استخراج ۲۳۹/۹ دقیقه، دمای استخراج ۴۵/۷۹ و نسبت آب به دانه برابر با ۵ می‌باشد. مقادیر پاسخ‌ها در نقطه بهینه برابر با بازده استخراج ۱۱/۰۸ درصد، حداقل محتوای پروتئینی ۱۴/۵۵ درصد، بیشترین میزان پایداری امولسیون ۵۰ درصد، شاخص‌های  $L^*$  و  $a^*$  به ترتیب ۴۷/۵۹ و ۱۵/۰۵ بود که مطابقت خوبی با مقادیر پیش‌بینی شده (بازده

موسیلاژ شد. تغییرات رنگ موسیلاژ تنها تحت تاثیر این متغیر قرار گرفته در صورتی که سایر متغیرهای مورد بررسی بر خصوصیات مختلف اندازه‌گیری شده موثر بودند.

#### منابع مورد استفاده

- امیری عقدایی س، اعلمی م، خمیری م و رضایی ر، ۱۳۸۹. تاثیر استفاده از موسیلاژ دانه ریحان بر ویژگیهای فیزیکوشیمیایی، حسی و رئولوژیک ماستی کم چرب. مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۲(۴)، ۱۷-۱۰.
- دللی ر، پیرسا س و آقازاده ا، ۱۳۹۴. فرآیند استخراج موسیلاژ گیاه بامیه و تاثیر آن بر خصوصیات حسی ماست، اولین کنگره ملی توسعه و ترویج مهندسی کشاورزی و علوم خاک ایران، تهران.
- رضوی م، بستان آ، نیک نیا س و رزمخواه س، ۱۳۹۰. بررسی خواص عملکردی عصاره خام هیدروکلئیدی برخی دانه های بومی ایران. نشریه پژوهش های صنایع غذایی، ۲۱(۳)، ۳۷۹-۳۸۹.
- شاه حسینی ر، بابایی ع، میرمعصومی م و امیدبیگی ر، ۱۳۹۲. ارزیابی روش بهینه استخراج، تنوع موسیلاژ در بین اکوتیپ های گیاه دارویی عناب. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۹(۱)، ۱۱۵-۱۰۵.
- عباس تبار ب، عزیززی م و عباسی س، ۱۳۹۳. بهینه سازی راندمان استخراج صمغ دانه به و اندازه‌گیری خصوصیات رئولوژی در شرایط بهینه استخراج. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۹(۲)، ۳۸-۲۹.
- صلاحی م، رضوی س م ع و امیری م ص. ۱۴۰۰. بهینه‌یابی شرایط استخراج صمغ ریشه سریش به روش سطح پاسخ و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه بهینه. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۸(۱۱۲)، ۱۶۸-۱۵۳.
- فرهمند ع، وریدی م و کوچکی آ، ۱۳۹۵. ارزیابی خواص عملکردی موسیلاژ دانه به استخراج شده به کمک فراصوت. نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی، ۱۲(۱)، ۱۸۱-۱۶۳.
- قبادی ا، وریدی م، وریدی م و کوچکی آ، ۱۳۹۷. صمغ دانه شنبلیله: بهینه‌سازی استخراج و ارزیابی ویژگیهای ضد اکسایشی. فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، ۵(۳)، ۴۶۸-۴۴۷.
- نیکنام ر، ایاسه ع و قنبرزاده ب، ۱۳۹۷. مطالعه خواص فیزیکوشیمیایی و وزن مولکولی صمغ دانه بارهنگ استخراج شده با فراصوت. مجله علوم و صنایع غذایی، ۱۵(۸۴)، ۱۷۳-۱۶۳.
- Ade-Omowaye BIO, Tucker GA and Smetanska I, 2015. Nutritional potential of nine underexploited legumes in Southwest Nigeria. *International Food Research Journal* 22(2): 798-806.
- Bodros E. and Baley C, 2008. Study of the tensile properties of stinging nettle fibres (*Urtica dioica*). *Materials Letters* 62(14): 2143-2145.
- Campos BE, Ruivo TD, da Silva Scapim MR, Madrona GS and Bergamasco RDC, 2016. Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *LWT-Food Science and Technology* 65: 874-883.
- Dickinson E, 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids* 17(1): 25-39.
- Elinge CM, Muhammad A, Atiku FA, Itodo AU, Peni IJ, Sanni OM and Mbongo AN, 2012. Proximate, mineral and anti-nutrient composition of pumpkin (*Cucurbitapepo* L.) seeds extract. *International Journal of Plant Research* 2(5): 146-150.
- Estévez AM, Saenz C, Hurtado ML, Escobar B, Espinoza S and Suárez C, 2004. Extraction methods and some physical properties of mesquite (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) seed gum. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(12): 1487-1492.
- Garcia-Ochoa F and Casas JA, 1992. Viscosity of locust bean (*Ceratonia siliqua*) gum solutions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 59(1): 97-100.

- Goli SAH, Sahafi SM, Rashidi B and Rahimmalek M, 2013. Novel oilseed of *Dracocephalum kotschyi* with high n-3 to n-6 polyunsaturated fatty acid ratio. *Industrial Crops and Products* 43: 188–193.
- Hosseini SS, Khodaiyan F and Yarmand MS, 2016. Aqueous extraction of pectin from sour orange peel and its preliminary physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules* 82: 920-926.
- Jafari Z, Amiri Samani S, Jafari M, 2020. Insights into the bioactive compounds and physico-chemical characteristics of the extracted oils from *Urtica dioica* and *Urtica pilulifera*. 2: 416-423.
- Karazhiyan H, Razavi SM and Phillips GO, 2011. Extraction optimization of a hydrocolloid extract from cress seed (*Lepidium sativum*) using response surface methodology. *Food Hydrocolloids* 25(5): 915-920.
- Kazemi M, Khodaiyan F, Labbafi M and Hosseini SS, 2020. Ultrasonic and heating extraction of pistachio by-product pectin: physicochemical, structural characterization and functional measurement. *Journal of Food Measurement and Characterization* 14(2): 679-693.
- Kazemi M, Samani SA, Ezzati S, Khodaiyan F, Hosseini SS and Jafari M. 2021. High-quality pectin from cantaloupe waste: Eco-friendly extraction process, optimization, characterization and bioactivity measurements. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 101(15): 6552-6562.
- Koocheki A, Mortazavi SA, Shahidi F, Razavi SMA and Taherian AR, 2009a. Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent. *Journal of Food Engineering* 91(3): 490-496.
- Koocheki A, Taherian AR, Razavi SM and Bostan A, 2009b. Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. *Food Hydrocolloids* 23(8): 2369-2379.
- Shahraki MR, Mirshekari H, Shahraki AR, Shahraki E and Divband KH, 2008. Effect of *urtica dioica* boiling on serum glucose, insulin and lipids in fructose-fed male rats. *Ofogh-e- Danesh* 14(3):10-15.



Journal of Food Research, 2023,33(1):97-110

<https://foodresearch.tabrizu.ac.ir>

OPEN ACCESS



© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

DOI: 10.22034/FR.2022.50916.1829

## Optimization of extraction yield and physicochemical and functional properties of Roman nettle seed mucilage

M Jafari<sup>1, 2\*</sup>, Z Osivand<sup>3</sup> and S Amiri Samani<sup>3</sup>

Received: April 7, 2022

Accepted: June 14, 2022

<sup>1</sup>Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran<sup>2</sup>Research Center for Medicinal Plants, Spices and Aromatics, Faculty of Agriculture, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran<sup>3</sup>MSc Student Department of Food Science and Technology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

**Introduction:** *Urtica* is a genus of flowering plants in the family Urticaceae. They have a long history of use as medicinal plants (Dickinson et al., 2003). The main varieties of the *Urtica* genus are *Urtica dioica* L., *Urtica urens* L., *Urtica pilulifera* L., *Urtica cannabina* L., *Urtica membranacea* Poiret, and *Urtica kiovensis* Rogoff (Bodros and Baley 2008). Roman nettle (*Urtica pilulifera*) is widely used in folk remedy to treat hypertension, hyperglycemia and inflammation of some organs while the seeds of this plant can be considered as a potential source for mucilage extraction. Given that in recent years, many studies have focused on finding new hydrocolloids and investigation of their physicochemical and functional properties, the aim of the present study was to optimize the mucilage extraction conditions from Roman nettle seeds in order to achieve maximum extraction yield and optimal physicochemical and functional properties of this hydrocolloid.

**Materials and methods:** The *U. pilulifera* seeds were purchased from a local market in Chaharmahal and Bakhtiari Province, Shahrekord, Iran. The seeds were identified at Medical Plants Research Center. Then the seeds were manually cleaned to remove all foreign matter and stored in a plastic bag at refrigerator before to analysis. At first, proximate analysis of seeds including moisture content, crude oil, crude protein, crude fiber and ash content were determined using the AOAC official methods. Total of carbohydrate was determined by difference. Then, using the response surface method (RSM), the optimal conditions for extracting Roman nettle mucilage were determined. D-Optimal design analysis of the effects of four independent variables, including water to seed ratio (1:5-1:30), temperature (30-85 °C), soaking time (30-240 min) and pH (3-10) was studied on mucilage extraction yield, protein content, emulsion stability and color indices of extracted mucilage. For emulsion stability determination at first, 0.5% solution of mucilage was prepared at 70 °C. The solution was then cooled and kept at 4 °C for 24 hours to completely hydration. Oil-in-water emulsion (20% by weight) was prepared and then the emulsion was placed in a hot water bath at 80 °C for 30 minutes, centrifuged at 1200 g for 10 minutes and finally stability of emulsion was calculated. Color indices including lightness (L\*), redness (a\*) and yellowness (b\*) were measured by Hunterlab model Color flex (US).

**Results and discussion:** According to the obtained results, increase in temperature to a certain extent, water to seed ratio and pH had a significant effect ( $p < 0.05$ ) on mucilage extraction yield. Increasing the water-to-seed ratio allows more polysaccharide compounds to be hydrated due to the availability of sufficient water, which increases the thrust force to remove mucilage from the seed. Mucilage extraction yield increased at higher pH which can be due to the release of protein materials and easier release of mucilage. Temperature showed a quadratic effect on mucilage extraction yield, so that with increasing temperature to a certain extent, first the amount of mucilage extraction increased, which can be due to the decrease in the viscosity of mucilage attached to the seed and also higher mass transfer rates of soluble polysaccharides at higher temperature. However, a further increase in the extraction temperature showed the negative effect and reduced the extraction yield. This may be due to breaking and hydrolysis of the mucilage structure due to thermal stress in the aqueous medium. The most important and significant factors ( $p < 0.05$ ) on protein content were linear effect of pH, linear effect of time, effect of pH-time interaction, effect of water to seed ratio- time interaction and, quadratic effect of extraction temperature. At lower pH, the protein content of mucilage was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than alkaline pH. In general, extraction of mucilage at higher pH and shorter time will lead to extraction of mucilage with minimal protein content may be due to the solubility of proteins in the alkaline pH range. Increasing the water-to-seed ratio also reduced the amount of protein in mucilage, which is probably due to the possibility of more solubility of the protein in the aqueous medium. Among the studied variables, the linear effect of pH, temperature and water-to-seed ratio showed a significant effect on the stability of emulsion containing mucilage ( $p < 0.05$ ). In addition, the interaction of pH and water to seed ratio as well as the interaction of extraction temperature and time, the quadratic effect of pH and the quadratic effect of water to grain ratio were also significant on the changes of this response. Since the presence of proteins with hydrocolloid can show a positive effect on the stability of the emulsion, therefore, the obvious decrease in the stability of emulsions prepared with mucilage extracted at higher pH is probably due to the lower protein content in these samples. What is clear is that when higher water-to-seed ratio and higher pH are used to extract mucilage, it will lead to the weakest emulsion stability. Increasing the water to grain ratio in the extraction stage can lead to the removal of more impurities from the grain and their entry into the mucilage, and thus have a negative effect on the stability of the emulsion. In the study of changes in  $L^*$  and  $a^*$  indices, it was found that pH was the only effective variable and with increasing pH, a significant decrease and increase ( $p < 0.05$ ) in lightness and redness indices were observed, respectively. Based on the numerical optimization method, optimized conditions for extraction of Roman nettle seeds mucilage were determined in terms of pH of 4.23, soaking time of 239.9 min, soaking temperature of 45.79 °C, and water to seed ratio of 1:5. Under the optimum conditions, extraction yield, protein content, the highest emulsion stability and  $L^*$  and  $a^*$  indices were 11.08%, 14.55%, 50%, 47.59 and 15.05, respectively, which was in good agreement with the predicted values.

**Keywords:** Emulsion stability, Mucilage extraction, Optimization, Roman nettle