جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی/جلد ۷ / شماره ۲۹/ زمستان ۱۳۸۵ / ص ۱۳۸-۱۲۹

بهینه‌سازی شرایط استخراج و ترسیب در تهیه ایزوله پروتئینی از کنجاله کلزا

جلال محمدزاده و مسعود یقبانی*

* اعضای هیئت علمی علوم و صنایع غذایی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، نشانی: گرگان، خیابان شهید بهشتی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان. تلفن: ٤-٣٣٥٠٠٦٣ (٠١٧١)، پیام نگار: jmohamadzadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ٨٤/١٢/١٠ ؛ تاریخ پذیرش مقاله: ٨٥/٦/١٩

چکیده

کنجاله کلزا ٤٣-٣٨ درصد پروتئین دارد و از نظر کیفی پروتئین‌های آن ترکیبی از اسیدهای آمینه مناسب و در حد دانه‌های غلات است. تولید ایزوله پروتئینی در واقع هم موجب استفاده بهینه از کنجاله کلزا می‌شود و هم به عنوان منبع انرژی و پروتئین جهت تقویت و غنی‌سازی اکثر مواد غذایی می‌تواند به کار رود. استخراج‌پذیری و رسوب پروتئین‌های کنجالهٔ کلزا تابعی از pH و در هر رقم متفاوت است. در این تحقیق، رقم PF7045.91، با دو تیمار pH استخراج پروتئین در سه سطح (١٠، ١١ و ١٢) و pH ترسیب پروتئین نیز در سه سطح (٤/٥، ٥/٥ و ٦/٥) در نظر گرفته شد، تا ضمن تعیین شرایط بهینهٔ تولید ایزوله پروتئینی بعضی از خواص کیفی آن نیز مشخص شود. نتایج نشان می‌دهد که بهترین شرایط جهت تهیهٔ ایزوله پروتئینی، استخراج در شرایط قلیایی با pH =١٢ و رسوب پروتئین در نقطه pH =٥/٥ بوده است. در این شرایط، ایزوله تولیدی دارای ٨٨/١ درصد پروتئین با مقدار وزنی ١٥/٣ درصد (بر اساس وزن اولیه کنجاله) است. همچنین، مقدار اسیدفیتیک ایزوله در این شرایط بسیار کم و در حد ٠/٤ درصد است. مقدار گلوکوزینولات کنجاله مصرفی و ایزوله پروتئینی حاصل بسیار پایین و در همهٔ شرایط غیر قابل اندازه‌گیری است.

واژه‌های کلیدی

ایزوله پروتئینی، خصوصیات کیفی، کلزا

مقدمه

دانه کلزا بعد از سویا و نخل روغنی مقام سوم را در تأمین روغن نباتی و مقام پنجم را در تأمین پروتئین جهان به خود اختصاص داده است (Piroozbakht, 1997). پروتئین کلزا ترکیبی مناسب از اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری است، به طوری که مقدار لیزین، متیونین، سیستئین، توئونین و تریپتوفان آن با دانه‌های غلات قابل مقایسه است و می‌توان گفت با توجه به این که پروتئین کلزا ترکیب اسید آمینه‌ای متوازنی دارد کیفیت بالایی نیز دارد و برای مصارف انسانی مناسب است (Piroozbakht, 1997; Shahidi, 1990).

کنجالهٔ کلزا تقریباً ٥٨-٥٠ درصد وزن دانه را بر حسب مادهٔ خشک تشکیل می‌دهد که دارای ٤٣-٣٨ درصد پروتئین است. در تهیهٔ ایزولهٔ پروتئینی، از ارقام دو صفر (کانولا) استفاده می‌شود و از این رو مقدار گلوکوزینولات آن در کنجاله و بالطبع در ایزولهٔ پروتئینی در حد بسیار پایین و مجاز خواهد بود (Mirnezami, 2002; Piroozbakht, 1997).

جهت تهیهٔ ایزوله پروتئینی کلزا باید دقت کرد که در مراحل استخراج، ترکیبات فنلی و فیتات‌های کنجاله جدا شوند. ترکیبات فنلی بیشتر به صورت اسیدهای فنولیک و تانن‌ها هستند. تحقیقات نشان می‌دهد که pH استخراج و ترسیب نقش مهمی در کاهش ترکیبات فنلی دارند به طوری که در pH بالا، اکثر مولکول‌های پروتئین بار خالص منفی دارند و بنابراین از طریق نیروهای الکترواستاتیکی، اسیدهای فنلی دارای بار مثبت را به خود جذب می‌کنند و به این

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

طریق پیوندهای یونی تشکیل‌دهندهٔ بخش اعظم این اتصال‌ها باز و در مرحلهٔ استخراج قلیایی و ترسیب اسیدی از پروتئین جدا می‌شوند (Shahidi, 1990).

سیستم استخراج با حلال، (هگزان آمونیاکی)، نیز یکی دیگر از مؤثرترین روش‌ها برای کاهش ترکیبات فنولیک است که این کاهش به دلیل انحلال ترکیبات فنلی در داخل فاز قطبی یا تجزیهٔ آنها به ترکیبات غیر حساس است. ایجاد پیوند و واکنش بین اسید فیتیک و پروتئین نیز به pH بستگی دارد. در pH های پایین‌تر از pH ایزوالکتریک، اسید فیتیک مستقیماً و به واسطه جذب الکترواستاتیکی با پروتئین‌های دارای بار مثبت پیوند ایجاد می‌کند، اما در pHهای بالاتر از نقطه ایزوالکتریک، هم اسید فیتیک و هم پروتئین دارای بار منفی خواهند بود و اسید فیتیک به کاتیون‌هایی از قبیل Ca و Mg جذب و از پروتئین جدا می‌شود. حضور کلریدکلسیم در تشکیل کمپلکس بین اسید فیتیک و پروتئین اختلال ایجاد می‌کند زیرا کلریدکلسیم قادر است با پروتئین رقابت کند و با افزودن کلریدکلسیم در مرحلهٔ استخراج قلیایی توانستند ایزوله‌ای با ۰/۳ درصد فیتات تولید کنند (Diosady & Tzeng, 1984; Durkee & Thivierge, 1975; Shahidi, 1990).

ژو و دیوسدی (Xu & Diosady, 2000) جهت جداسازی ترکیبات فنولیک، از محیط آبکی قلیایی به همراه یک سری ترکیبات شیمیایی از قبیل کلرید کلسیم و سدیم لوریل سولفات (SDS) استفاده کردند. این ترکیبات سبب شکستن پیوندها می‌شود که در مرحلهٔ بعد با روش‌های مختلف غشایی صاف جدا می‌شوند. این محققان نشان دادند که افزودن NaCl موجب کاهش اسید سیناپیک پیوند شده با پروتئین کلزا می‌شود و بر اساس این نتیجه، استفاده از نمک طعام با غلظت ۰/۰۵ مولار را پیشنهاد کردند.

منصور و پردی (Mansour & Peredi, 1992) سه واریته دو صفر کلزا را جهت تهیهٔ محصولات پروتئینی کلزا و خصوصیات عملکردی آنها بررسی و گزارش کردند که پروتئین‌های کنجالهٔ ارقام مورد نظر در دو نقطهٔ ایزوالکتریک به ترتیب pH =۳/۲ و pH=۵/۲، با راندمانی در حدود ۶۸/۳ درصد، به دست می‌آید. آنها همچنین نشان دادند که استفاده از سدیم هگزامتافسفات به عنوان مادهٔ کمک رسوب‌دهنده می‌تواند راندمان را تا ۲۰ درصد افزایش دهد. در ایزوله‌های تولیدی، میزان اسید فیتیک تا حدود ۹۵ درصد کاهش می‌یابد و خواص عملکردی همچون جذب آب، انحلال‌پذیری ازت و جذب چربی به استثنای فعالیت امولسیون‌کنندگی، وضعیت مناسبی داشته‌اند.

ژو و دیوسدی (Xu & Diosady, 1994) روشی را تحت عنوان فرآیند غشایی جهت تولید ایزوله پروتئینی از ارقام چینی پیشنهاد کردند. در این روش، پس از استخراج پروتئین در شرایط قلیایی (pH=۱۱) و رسوب پروتئین در نقطهٔ ایزوالکتریک (pH =۶/۵) جهت جداسازی ترکیبات نامطلوب محصولات پروتئینی از فرآیندهای غشایی اولترافیلتراسیون و دیافیلتراسیون استفاده کردند و پس از تغلیظ آن را با استفاده از خشک‌کن انجمادی خشک کردند. در این روش، جهت جداسازی فیتات‌ها از پروتیئن هیچ تیمار شیمیایی به کار نگرفتند و بدین ترتیب ایزوله پروتئین با راندمان ۹۳ درصد پروتئین به دست آوردند. ایزوله پروتئین حاصل دارای رنگی روشن با طعم و مزه ملایم بود.

تزنگ و دیوسدی (Tzeng & Diosady, 1990) تولید ایزوله پروتئینی را از ارقام کانادایی در شرایط قلیایی با pH =۱۰/۵ و سپس ترسیب در نقطهٔ ایزوالکتریک با pH =۳/۵ انجام دادند و سه محصول پروتئینی به دست آوردند که شامل پروتئین‌های رسوب کرده، پروتئین انحلال‌پذیر و بقایای کنجاله بود؛ اجزای حاصل فاقد گلوکوزینولات بودند. فیتات در سطح بسیار پایین (کمتر از ۰/۲ درصد) بود، رنگ روشن و طعم و مزهٔ ملایم داشتند.

بنابراین به نظر می‌رسد شرایط تولید ایزوله پروتئینی در ارقام مختلف متفاوت است و به دست آوردن شرایط بهینه،

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

در رقم غالب منطقه از نظر راندمان تولید و خواص کیفی اهمیت خاص دارد که در این تحقیق سعی شده است به این مهم پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

نمونهٔ کلزای مورد بررسی، واریته (PF7045. 91) بود که با مدیریت زراعی مناسب در ایستگاه تحقیقاتی گرگان کشت شده است. نمونه‌ها در اوایل خردادماه با رطوبت ۱۶-۱۴ درصد برداشت و پس از جداسازی ناخالصی‌ها و بوجاری، دانه‌ها خشک شدند. دانه‌های خشک‌شده تا حد امکان پوست‌گیری شدند. دستگاه پوست‌گیری شامل دو غلتک سمباده‌ای است که در جهت خلاف هم و با سرعت‌های متفاوت (۱ : ۱/۵) می‌چرخند. با تنظیم فاصلهٔ غلتک‌ها متناسب با دانهٔ کلزا، دانه‌ها از میان دو غلتک عبور می‌کنند و پوسته جدا می‌شود. در قسمت پایین دستگاه، به کمک فن هوا که سرعت آن متناسب با وزن پوسته‌ها و مغز دانه تنظیم می‌شود، پوسته از مغز دانه جدا می‌شود. پس از این مرحله، دانه‌های پوست‌گیری شده، با حلال هگزان آمونیاکی روغن‌کشی شدند، کنجالهٔ حاصل پس از شستشو با اتانول، خشک و با آسیاب خرد شد و به شکل پودر درآمد. ذرات حاصل، از الک با Mesh=60 عبور داده شد. (حلال‌های هگزان آمونیاکی و اتانول سبب جداسازی بهتر گلوکوزینولات و فیتات‌ها در مراحل بعدی می‌شوند).

مراحل تهیهٔ ایزولهٔ پروتئینی کلزا

استخراج پروتئین در شرایط قلیایی

در این مرحله، ۵۰ گرم پودر کنجالهٔ کلزا را در محلول قلیایی آبکی (به نسبت ۱۸ به ۱ آب و کنجاله) مخلوط و سپس توسط سود ۱ نرمال pH مخلوط در طیف قلیایی مورد نظر، که در این تحقیق سه شرایط pH، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ است تنظیم گردید. به مخلوط حاصل ۰/۱ درصد سولفیت سدیم (Na_2SO_3)، ۴/۳۸ گرم NaCl و ۱/۵ گرم SDS (سدیم دلوریل سولفات) افزوده و به مدت نیم ساعت به هم زده شد. (ترکیبات فوق سبب جداسازی باندهای فنلی و فیتات می‌شود). بخش نامحلول حاصل با سانتریفوژ (۴۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۱۵ دقیقه از فاز محلول جدا شد. بدین ترتیب در این مرحله پروتئین استخراج و سایر ترکیبات به صورت محلول جدا شدند.

مرحله رسوب‌گذاری پروتئین در محدودهٔ نقطهٔ ایزوالکتریک

فاز محلول حاصل از مرحلهٔ قبلی، با اسید کلریدریک ۶ مولار به محدودهٔ نقطهٔ ایزوالکتریک در pH اسیدی رسانده شد و طیف pH مورد نظر در شرایط ۴/۵، ۵/۵ و ۶/۵ مورد بررسی قرار گرفت. سپس پروتئین رسوب کرده از هر یک از شرایط بالا، در ۴۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و جهت خلوص بالاتر ۵ مرتبه با آب مقطر شستشو و صاف شد. بدین ترتیب پروتئین رسوب کرده یا به عبارتی ایزوله پروتئینی رسوبی (Protein precipitated isolate) به دست آمد که می‌توان آن را در شرایط آون تحت خلاء در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد یا در شرایط گاز نیتروژن خشک و سپس آسیاب کرد.

آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی

- اندازه‌گیری رطوبت: نمونه‌ها پس از خرد شدن در آون، در دمای ۱۰۵ درجهٔ سانتی‌گراد تا حصول وزن ثابت خشک و بدین ترتیب رطوبت نسبت به وزن اولیه محاسبه شد (Anon, 1990).
- اندازه‌گیری میزان پروتئین: بر اساس روش کلدال، نمونه‌ها هضم شد و سپس در مرحلهٔ تیتراسیون مقدار پروتئین آنها به دست آمد (Anon, 1990).

- اندازه‌گیری فیبر کنجاله: ۳ گرم کنجاله با ۲۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد. پس از صاف کردن، آنچه در بالای صافی باقی ماند با سود داغ ۰/۳ نرمال مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد. سپس مواد نامحلول باقی مانده در کاغذ صافی بدون خاکستر پیچیده شده و در آون در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشک و مقدار فیبر محاسبه شد (Anon, 1990).
- اندازه‌گیری اسید فیتیک: مقدار فیتات بر اساس روش تیتراسیون فبلز (Febles, 2001) اندازه‌گیری شد. تیتراسیون با محلول EDTA ۰/۰۱ مولار در حضور معرف آهن سه ظرفیتی، تا تشکیل رنگ زرد روشن صورت گرفت.
- اندازه‌گیری میزان گلوکوزینولات: طبق روش وتر و یانگ (Wetter & Young, 1976) میزان گلوکوزینولات اندازه‌گیری شد. در این روش، گلوکوزینولات به محصولات ایزوسیانات و اگزازولین ۲- متیون شکسته و با اسپکتروفتومتر مقدار این دو محصول که در واقع مقدار کل گلوکوزینولات است تعیین می‌شود.

روش تجزیه آماری

تجزیهٔ آماری نتایج به صورت طرح فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با دو تیمار pH استخراج و pH نرسیب هر کدام در سه سطح صورت گرفته است، بدین ترتیب ۹ تیمار در سه تکرار به دست آمد، که با نرم افزار آماری MSTATC آنالیز شد (Yazdi Samadi et al., 1995).

نتایج و بحث

مشخصات اولیهٔ دانه و کنجاله کلزا

جدول ۱ مشخصات دانه و کنجاله حاصل از دانه پوست‌گیری شده کلزا را پس از استحصال روغن نشان می‌دهد. همانطور که در جدول دیده می‌شود، مقدار پروتئین پس از جداسازی روغن به ۴۳/۵ درصد رسیده که در واقع بیانگر مقدار پروتئین نمونه اولیه، جهت تهیه ایزوله پروتئینی است.

مقدار فیبر نیز به‌دلیل پوست‌گیری دانه به مقدار چشم‌گیری کاهش یافته است. مقدار روغن دانه نیز با توجه به استحصال روغن توسط حلال با مدت زمان کافی کاملاً روغن‌کشی شده و مقدار آن در کنجاله حداکثر به ۰/۱ درصد رسیده است. مقدار گلوکوزینولات نیز در دانه و کنجاله به ترتیب ۶ و ۱۱ میکرومول بر گرم و بسیار پایین است.

جدول ۱- مشخصات اولیه دانه و کنجاله کلزا

نمونه	درصد رطوبت	درصد پروتئین (N× 6.25)	درصد روغن	درصد فیبر	درصد فیتات	گلوکوزینولات (میکرومول بر گرم)
دانه کامل	۹/۵	۲۵/۲	۳۹/۳	۱۲/۱	۳/۲۴	۶
کنجاله (پوست‌گیری شده)	۸/۸	۴۳/۵	۰/۱	۴/۹	۴/۸۷	۱۱

اثر شرایط مختلف استخراج قلیایی و اسیدی بر مقدار پروتئین ایزوله

نتایج شرایط مختلف pH بر مقدار پروتئین ایزوله در جدول ۲ خلاصه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بالاترین مقدار پروتئین مربوط به شرایط استخراج در pH=۱۲ و ترسیب پروتئین در pH اسیدی ۵/۵ با مقدار عددی ۸۸/۱ درصد و پایین‌ترین آن ۶۴/۳ درصد در شرایط pH قلیایی ۱۰ و pH رسوبی ۴/۵ حاصل شده است. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که نقطهٔ ایزوالکتریک پروتئین‌های رقم PF7045.91 در pH=۵/۵ است که در آن بارهای مثبت و منفی پروتئین با یکدیگر برابرند و پروتئین از نظر بار الکتریکی خنثی است و تحت تأثیر هیچ‌گونه نیروی داخلی قرار ندارد و کاملاً رسوب می‌کند، به عبارت دیگر پروتئین‌ها در این نقطه دارای حداقل انحلال‌پذیری هستند (Shahidi, 1990).

جدول ۲- مقدار پروتئین ایزوله حاصل در شرایط مختلف استخراج و ترسیب

pH ترسیب	pH استخراج		
	۱۰	۱۱	۱۲
۴/۵	۶۴/۳ f	۷۱/۴ e	۸۰/۷ bc
۵/۵	۷۸ cd	۸۳/۴ b	۸۸/۱ a
۶/۵	۷۳/۳ de	۷۹/۱ bc	۸۲ bc

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

در pH کمتر از نقطهٔ ایزوالکتریک، به دلیل مثبت بودن بار پروتئین، ذرات با نیروی دافعه از یکدیگر دور می‌شوند. در pH بالای نقطهٔ ایزوالکتریک به دلیل منفی بودن بار پروتئین، ذرات پروتئین تحت تأثیر نیروی دافعه قرار می‌گیرند و از یکدیگر دور می‌شوند، به صورت محلول باقی می‌مانند و کمتر رسوب می‌کنند. بنابراین، در pH=۵/۵ مقدار پروتئین با اختلاف معنی‌داری نسبت به دو pH دیگر یعنی ۴/۵ و ۶/۵ قرار گرفته است. این، در حالی است که ژو و دیوسدی (Xu & Diosady, 1994) نقطهٔ ایزوالکتریک ارقام مورد استفاده را در pH =۶/۵ گزارش کردند و این اختلاف ناشی از تأثیر رقم و شرایط منطقه‌ای نقطهٔ ایزوالکتریک پروتئین‌هاست. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که در رقم PF7045.91، بهترین شرایط جهت تهیهٔ ایزوله پروتئین استخراج پروتئین در شرایط با pH=۱۲ و ترسیب پروتئین در نقطهٔ ایزوالکتریک با pH =۵/۵ است.

در بررسی اثر pH استخراج به تنهایی، با افزایش pH به سمت قلیایی پروتئین بیشتری از کنجاله جدا و حل می‌شود یا به عبارت دیگر استخراج‌پذیری پروتئین در pH=۱۲ با اختلاف معنی‌داری نسبت به pH=۱۱ و pH=۱۰، بالاتر است. همچنین به دلیل پوست‌گیری دانهٔ کلزا قبل از استخراج پروتئین با توجه به متصل نبودن پروتئین به پوسته معمولاً استخراج‌پذیری افزایش می‌یابد. بالاترین استخراج‌پذیری پروتئین در pH=۱۲ با مقدار ۸۳/۶ درصد است که با نتایج گیلبرگ و تورنل (Gillberg & Tornell, 1976) و ژو و دیوسدی

(Xu & Diosady, 1994) که بالاترین استخراج‌پذیری پروتئین کلزا را در pH بالای ۱۱ و در حدود ۸۶ درصد گزارش کردند مطابقت دارد. اختلاف اندکی که وجود دارد مربوط به واریته و شرایط آزمایش و منطقه‌ای است.

در بررسی عامل pH اسیدی، آزمون مقایسه میانگین‌ها بالاترین مقدار پروتئین را در pH= ۵/۵ نشان می‌دهد که حاکی از نقطهٔ ایزوالکتریک پروتئین است در pH های بالای ۵/۵ و کمتر از ۵/۵ به دلیل دور بودن از نقطهٔ ایزوالکتریک مقدار پروتئین رسوب کرده کمتر است.

مقدار وزنی ایزوله پروتئین رسوبی (بر اساس ۱۰۰ گرم کنجاله) یا به عبارت دیگر راندمان استخراج، در شرایط استخراج pH =۱۲ و ترسیب در pH= ۵/۵ با ۱۵/۳ گرم و در شرایط pH استخراج ۱۰ و pH ترسیب ۴/۵ با ۱۱/۱ گرم به ترتیب بیشترین و کمترین است. علت این افزایش هم مربوط به استخراج‌پذیری بیشتر پروتئین در pH =۱۲ و بالطبع بالاتر بودن مقدار وزنی ایزوله حاصل خواهد بود. اما در مورد pH های اسیدی ترسیب در نقطه ۵/۵ نسبت به نقاط بالا و پایین آن یعنی ۴/۵ و ۶/۵ با اختلاف معنی‌داری بالاتر و به دلیل رسوب بیشتر پروتئین در این نقطه مقدار ایزوله به دست آمده نیز بالاتر است. لازم است یادآوری شود که نتایج به دست آمده، مقدار ایزوله پروتئینی رسوبی است و مابقی شامل پروتئین‌های انحلال‌پذیر (۹-۸ درصد)، کربوهیدرات‌های انحلال‌پذیر و پروتئین از دست رفته هستند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مقدار پروتئین رسوبی به دست آمده کمتر از مقداری است که تزنگ و دیوسدی (Tzeng & Diosady, 1990) گزارش داده است و این اختلاف ناشی از واریته (بالاتر بودن مقدار مواد انحلال‌پذیر باندشده) و روش تهیهٔ ایزوله است.

اثر شرایط مختلف استخراج قلیایی و اسیدی بر مقدار اسید فیتیک

در جدول ۳ مشاهده می‌شود که مقدار فیتات‌ها نسبت به نمونهٔ کنجاله مصرفی در حدود ۹۱ درصد کاهش یافته است بنابراین جدا شدن فیتات‌ها به مقدار زیادی به تغییرات pH بستگی دارد.

کمترین مقدار فیتات در شرایط pH قلیایی ۱۲ و در نقطهٔ ایزوالکتریک ۵/۵ به میزان ۰/۴ درصد حاصل شده است. به عبارت دیگر، در مرحلهٔ استخراج قلیایی با pH>۱۱ فیتات‌ها به راحتی از پروتئین جدا می‌شوند و به صورت محلول در می‌آیند و مقدار آنها به کمتر از ۱ درصد می‌رسد که برای کاربرد در اکثر غذاها قابل قبول است (Shahidi, 1990).

جدول ۳- مقدار اسید فیتیک ایزوله پروتئینی در شرایط مختلف استخراج و ترسیب

pH ترسیب	pH استخراج		
	۱۰	۱۱	۱۲
۴/۵	۱/۵۳ e	۱/۲۳ d	۰/۹۶ bc
۵/۵	۰/۷۶ b	۰/۵ a	۰/۴ a
۶/۵	۱/۱ dc	۰/۹ bc	۰/۸ b

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

اثر تداخلی پروتئین با اسید فیتیک، به مقدار زیاد به وضعیت بارهای آنها بستگی دارد به طوری که در pH زیر نقطهٔ ایزوالکتریک به دلیل وضعیت مثبت بارهای پروتئین یک کمپلکس نامحلول پروتئین با اسید فیتیک دارای بار منفی تشکیل می‌دهد و مقدار فیتات همراه پروتئین بیشتر است. در pH بالای نقطهٔ ایزوالکتریک (۵/۵) نیز اسید فیتیک با یون‌های فلزی و پروتئین واکنش می‌دهد که منجر به تشکیل یک کمپلکس پروتئین- کاتیون - اسید فیتیک می‌شود. بنابراین، در این وضعیت نیز مقدار اسید فیتیک نسبت به نقطهٔ ایزوالکتریک بالاتر است (Shahidi, 1990). در بررسی عامل pH قلیایی استخراج مشاهده می‌شود که با افزایش pH به سمت ۱۲، مقدار اسید فتیک ایزوله به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد یا به عبارت دیگر استخراج‌پذیری اسید فیتیک از ایزوله با افزایش pH به سمت قلیایی، به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در این شرایط، تأثیر متقابل بین پروتئین و اسید فیتیک بسیار کم است.

اسید فیتیک می‌تواند با پروتئین و مواد معدنی اتصال برقرار کند و این اتصال نیز به pH بستگی دارد به طوری که طبق تحقیقات تزنگ و دیوسدی (Tzeng & Diosady, 1990) از pH =۷/۴ به بالا این استحکام کاهش می‌یابد. در pH های بالای نقطهٔ ایزوالکتریک هم اسید فتیک و هم پروتئین دارای بار منفی هستند.

بنابراین، باندهای اولیه اسید فیتیک با پروتئین به وسیله کاتیون‌های مثبت مثل Ca و Na باردار می‌شوند و اکثر فیتات‌ها (Protein - Cation - FA + Na → Protin - Na+Cation - FA) در بقایای کنجاله باقی می‌مانند و وارد ایزوله پروتئینی نمی‌شوند (Shahidi, 1990).

نتیجه حاصل از این بخش تحقیق نشان می‌دهد که اختلاف در انحلال‌پذیری پروتئین و اسید فتیک در pH های مختلف اساس جداسازی اسید فتیک از کنجاله است.

اثر شرایط مختلف استخراج قلیایی و اسیدی بر مقدار گلوکوزینولات

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود مقدار گلوکوزینولات دانه و کنجاله اولیه بسیار پایین و حتی کمتر از ۳۰ میکرو مول بر گرم (حد استاندارد و مجاز) است. مسلم آن است که مقدار گلوکوزینولات این رقم بسیار پایین است.

در مرحلهٔ استخراج قلیایی در تهیهٔ ایزوله پروتئینی، گلوکوزینولات کاملاً جدا شده و مقدار باقیمانده در حد قابل اندازه‌گیری نبوده است. بنابراین برای مصرف در اکثر غذاها قابل قبول است. در عین حال طبق تحقیقات ژو و دیوسدی (Xu & Diosady, 2000) و منصور و پردی (Mansour & Peredi, 1992) مقدار گلوکوزینولات در شرایط استخراج قلیایی تا حدود ۹۸-۹۵ درصد کاهش می‌یابد که تاییدی بر این نتیجه است.

اثر شرایط مختلف استخراج قلیایی و اسیدی بر مقدار فیبر

نتایج مربوط به مقدار فیبر ایزوله پروتئین رسوبی در شرایط مختلف در جدول ۴ آمده است. در این جدول مشاهده می‌شود که مقدار فیبر خام ایزوله در شرایط مختلف بین (۰/۵-۰/۳ درصد) است که به ترتیب در شرایط pH استخراج ۱۰، ۴/۵ و pH ترسیب ۱۲، ۵/۵ حاصل شده است. فیبر نیز در ابتدا یکی دیگر از عامل‌های محدودکننده مصرف پروتئین کنجاله کلزا به شمار می‌رفت اما اکنون این مشکل با ظهور ارقام اصلاح‌شده سه صفر بر طرف شده است. کنجالهٔ مورد استفاده در این تحقیق نیز کنجاله اولیه از دانهٔ پوست‌گیری شده بود که قسمت اعظم فیبر آن قبل از فرآیند به همراه پوسته خارج شده است. باقیماندهٔ فیبر نیز در شرایط استخراج پروتئین وارد فرآیند یا واکنش با پروتئین نمی‌شود و به همراه بقایای کنجاله خارج خواهد شد. به

همین دلیل شرایط مختلف استخراج از نظر pH در شرایط قلیایی و هم شرایط اسیدی تأثیر معنی‌داری بر مقدار فیبر ندارد و آزمون آماری نشان می‌دهد که تغییرات فیبر در شرایط مختلف روند ثابت و یکسانی دارد و بین مقادیر به دست آمده اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود. نتایج این بخش نشان می‌دهد که مقدار فیبر به دست آمده کمتر از مقداری است که تزنگ و دیوسدی (Tzeng & Diosady, 1990) گزارش داده است و این اختلاف به واریته و روش تهیه بر می‌گردد.

جدول ٤- مقدار فیبر ایزوله پروتئینی در شرایط مختلف استخراج و ترسیب

pH ترسیب	pH استخراج		
	۱۰	۱۱	۱۲
۴/۵	۰/۵ b	۰/۴ ab	۰/۴ ab
۵/۵	۰/۳ a	۰/۳ a	۰/۳ a
۶/۵	۰/۴ ab	۰/۳ a	۰/۳ a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

نتیجه‌گیری

با توجه به طرح توسعه کشت دانه‌های روغنی به خصوص کلزا در کشور ما توجه به مسائل صنایع تبدیلی این محصول و استفادهٔ بهینه از ضایعات و کنجاله آن جایگاه ویژه‌ای دارد. بنابراین، مادهٔ اولیه به وفور یافت می‌شود و علاوه بر کاربرد آن در تغذیهٔ دام و طیور می‌توان به ماده با ارزش غذایی بالا، مانند ایزوله پروتئینی، دست یافت که بالقوه منبع جدید انرژی و پروتئین در غذای انسان است. لذا با توجه به چنین دورنمایی و به جهت توسعهٔ منابع پروتئین ارزان قیمت و مغذی، می‌توان گفت:

- جهت تولید ایزوله پروتئین کلزا، بهترین شرایط، استخراج پروتئین در pH =۱۲ و ترسیب آن در نقطهٔ ایزوالکتریک pH =۵/۵ است.
- خواص عملکردی ایزولهٔ پروتئین کلزا بسیار مناسب است و پیشنهاد می‌شود در طرح‌های تحقیقاتی دیگر کاربرد ایزوله کلزا در مواد غذایی از قبیل فرآورده‌های گوشتی، غله‌ای و... بررسی شود.

در پایان، امید است به این موضوع مهم که نقش بسزایی در توسعهٔ دانه‌های روغنی و فرآورده‌های پروتئینی آن دارد توجه کافی بشود.

مراجع

Anon. 1990. Official methods of analysis association of analytical chemists. AOAC. Washington. DC.

Diosady, L. L. and Tzeng, Y. M. 1984. Preparation of rapeseed protein concentrates and isolates using ultrafiltration. J. Food. Sci. 49(2): 768-771.

Durkee, A. and Thivierge, P. 1975. Phenolic acids in Brassica and Sinapis oilseeds. J. Food. Sci. 40(3): 820-822.

Febles, C. and Arias, I. 200l. Phytic acid level infant flour. Food. Chem. 74: 437-441.

Gillberg, L. and Tornell, B. 1976. Preparation of rapeseed protein isolate. J. Food. Sci. 41(4): 1063-1069.

Mansour, E. and peredi, J. 1992. Preparation and functional properties of rapeseed protein products. Acta-Aliment. 21(3 , 4): 293-305.

Mirnezami, H. 2002. Oil Technology and Refinery. Mashhad Pub. Mashhad. Iran. (in Farsi)

Piroozbakht, M. 1997. Planting, cultivation and harvesting of rapeseed. Ministry of Jihad-e-Agriculture Pub. (in Farsi)

Shahidi, F. 1990. Canola and Rapeseed Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology. Van Nostrand Reinhold. N. Y.

Tzeng, Y. M. and Diosady, L. L. 1990. Production of canola protein material by alkaline extraction precipitation. J. Food. Sci. 55(4): 1147-1156.

Wetter, C. R. and Youngs, C. G. 1976. A theoretical U.V assay for total glucosinolate content in rapeseed meals. J. Am. Oil. Chem. Soc. 53(4): 162-165.

XU, L. and Diosady, L. L. 1994. The production of chinese rapeseed protein isolate by membrane processing. J. Am. Oil Chem. Soc. 71(9): 935-939.

XU, L. and Diosady, L. L. 2000. Interactions between canola protein and phenolic compounds in aqueous media. Food. Res-Int. 75(2): 212-215.

Yazdi Samadi, B., Rezaei, A. and Valyzadeh, M. 1995. Statistical Designs in Agricultural Research. Tehran university pub. Tehran. Iran. (in Farsi)

Journal of Agricultural Engineering Research/Vol.7 /No. 29 / Winter 2007 / P: 129-138

Optimization of Extraction and Precipitation Conditions on Preparation of Protein Isolate from Rapeseed Meal

J. Mohamadzadeh and M. Yaghbani

The meal of rapeseed is a good source of protein as food and feed. Rapeseed meal as a by - product of oil extraction process, contains up to 43% protein with reasonable balanced amino acids profile. Processes for isolate of rapeseed protein are based on dissolving of meal in an alkalin and subsequent recovery of the protein as isolated by precipitation. Suitable conditions for the extraction and precipitation of protein from rapeseed meals were determined using alkalin extraction at pH (10, 11, 12) and precipitation at acidic pH (4.5, 5.5 and 6.5). The results showed that the highest protein yield was obtained by alkaline extraction at pH=12 and precipitation at pH=5.5 in which the isolate consisted about 88.1% of protein. It also contained 0.4% phytic acid and also the glucoseinolate content of all isolates was low and non detectabel.

Key words: Protein Isolate, Quality Properties, Rapeseed