

## بررسی شرایط مناسب فرآیند استخراج آنزیمی و تاثیر آن بر خصوصیات کمی و کیفی روغن کلزا

فهیمة آگاه<sup>a</sup>، سودابه عین افشار<sup>b</sup>، ریحانه احمدزاده قویدل<sup>c</sup>

<sup>a</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران  
<sup>b</sup> استادیار موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، خراسان رضوی، ایران  
<sup>c</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۷/۱۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۱/۳۰

۷۱

### چکیده

**مقدمه:** یکی از این روش‌های جدید استخراج روغن از کلزا استفاده از آنزیم در محیط آبی می‌باشد، که در واقع شکست دیواره سلولی دانه توسط آنزیم‌ها صورت گرفته و ترکیبات سلولی که شامل روغن، پروتئین و پلی ساکاریدها می‌باشند به فاز آبی منتقل و از هم جدا می‌گردند. ترکیب پیچیده دیواره سلولی در هر وارپته و اثرات منطقه ای سبب شده که شرایط بهینه استخراج آنزیمی متفاوت باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق، جهت بدست آوردن شرایط بهینه استخراج آنزیمی روغن کلزا از مخلوط آنزیمی پکتینکس اولترا اس پی-ال به همراه پروتاز استفاده گردید. آزمایشات فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با سه تیمار غلظت آنزیم (۱، ۲ و ۳٪ حجمی-وزنی)، زمان واکنش (۳، ۴، ۵ ساعت) و درجه حرارت (۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد) بر میزان راندمان استخراج روغن، فسفر، اسیدیت، پراکسید و میزان پروتئین کنجاله استحصالی در رقم اوکاپی منطقه خراسان مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد عوامل غلظت آنزیم، درجه حرارت و زمان واکنش تأثیر معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) روی راندمان، مقادیر فسفر و پروتئین داشتند. غلظت‌های ۲ و ۳٪، دماهای ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۴ و ۵ ساعت مناسب‌ترین شرایط بودند، ضمن اینکه مقایسه میانگین‌ها ( $p < 0.05$ ) اختلاف معنی‌داری را بین شرایط مذکور نشان نداد. روند تغییرات اسیدیت و پراکسید نیز تحت شرایط مختلف استخراج آنزیمی معنی‌دار نبود و در تمامی شرایط پایین بود.

**نتیجه‌گیری:** می‌توان بکارگیری آنزیم با غلظت ۲ درصد، دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و در مدت ۴ ساعت را شرایط مناسب استخراج آنزیمی-آبی در روغن کلزای مورد تحقیق دانست.

**واژه‌های کلیدی:** استخراج آنزیمی-آبی، کانولا/کلزا، کمیت و کیفیت روغن

## مقدمه

میزان زیاد روغن در دانه کلزا و همچنین ترکیب مناسب اسیدهای چرب آن (حدود ۶۰٪ اسید اولئیک، ۲۰٪ اسید لینولئیک و ۹/۶٪ اسید لینولنیک) سبب توجه اکثر کشورهای جهان به این دانه روغنی شده است. بطوریکه امروزه مقام سوم را در تامین روغن نباتی و مقام پنجم را در تامین پروتئین جهان به خود اختصاص داده است. ارزش غذایی روغن کلزا بدلیل مقدار کم اسیدهای چرب اشباع شده و مقدار نسبتاً زیاد اسیداولئیک می باشد و از نظر پروتئین نیز کنگاله آن حاوی مقادیر نسبتاً زیادی پروتئین است (میرنظامی، ۱۳۷۶؛ رادفر، ۱۳۸۶).

در کشور ما نیز سطح زیر کشت دانه‌های روغنی خصوصاً کلزا در استان مازندران، گلستان، خراسان و فارس گسترش زیادی پیدا کرده است. لذا بررسی صنایع تبدیلی آن بخصوص صنعت روغن‌کشی از دانه اهمیت بسزایی خواهد داشت. در سال‌های اخیر کاربرد آنزیم در صنایع روغن‌کشی به دلیل مزایایی که این کاتالیزورهای بیولوژیکی دارند بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. این آنزیم‌ها اختصاصی بوده و در درجه حرارت‌های نسبتاً پایین واکنش‌های مربوطه را کاتالیز می‌نمایند. این فاکتورها موجب سمت‌گیری تحقیقات و کاربردهای صنعتی آنزیم‌ها در فرآیندهای مختلف صنایع روغن و چربی و عملیات واحد نظیر استخراج، صمغ‌گیری و استریفیکاسیون (زمستانه کردن) چربی هاگردید (قدس ولی، ۱۳۸۶؛ عالم زاده ۱۳۷۷). اگر چه روش مرسوم جهت استخراج روغن کلزا در حال حاضر روش پرس- حلال می‌باشد اما این روش به دلیل نیاز به وسایل و تجهیزات بزرگ، هزینه بر، پتانسیل ایجاد حریق و انفجار را نیز دارد. علاوه بر آن روغن حاصله از مرحله استخراج خصوصاً با حلال ضمن این که دارای رنگ تیره‌تر بوده از اسیدیته بالاتری نیز برخوردار می‌باشد که سبب افزایش افت و هزینه‌های بعدی تصفیه روغن خواهد شد که در واقع هزینه مصرف آنزیم را قابل توجیه خواهد کرد. علاوه بر آن، درجه حرارت بالا در حلال زدایی تفاله حاصله سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای و خواص عملکردی پروتئین می‌گردد (Dominguez, 1994; Meakin and Mackey, 2003).

استخراج آنزیمی در محیط آبی خصوصاً در مورد دانه کلزا کاربرد یافته است، دیواره سلولی معمولاً از ترکیباتی

نظیر مواد پکتیکی، سلولز، همی سلولز و چربی‌های آمیخته با پروتئین‌ها ساخته شده است. در واقع شکست دیواره سلولی توسط آنزیم صورت گرفته و ترکیبات سلولی که شامل روغن پروتئین و پلی ساکاریدها می‌باشند به فاز آبی منتقل و از آنجا توسط ساتریفوز به تفکیک جدا می‌گردند. میزان فسفر و سایر ترکیبات نظیر تانن‌ها، سیناپین و اسیدفیتیک به مقدار فراوان در دانه وجود دارد که در صورت استفاده از روش‌های متداول در کنگاله باقی می‌ماند، اما با روش فرآیند آنزیمی این مواد تجزیه و به‌همراه آب خارج شده و در نتیجه منجر به تولید کنگاله‌ای با مقادیر بسیار پائین از این نوع ترکیبات و با پروتئین بالا خواهد شد. کلیه مطالعات انجام شده ثابت نموده است که غلظت آنزیم و به کارگیری مخلوط‌های آنزیمی اثرات مطلوب‌تری دارند و آن هم بواسطه فعالیت‌های چندگانه آنها می‌باشد زیرا منجر به تجزیه کامل دیواره‌های سلولی و نهایتاً آزادسازی کامل روغن از دانه می‌گردند (Deng et al., 1999; Miller- Ceber et al., 2009).

عملیات آنزیمی و فرآیند آبیکی استخراج روغن از دانه‌های روغنی، جنبه‌های اقتصادی و سلامتی محیط زیست را نیز مد نظر دارد، بطوریکه در این عملیات درجه حرارت‌های پائین‌تر استفاده می‌گردد و متعاقباً انرژی مصرفی کاهش می‌یابد و روغن استخراجی معیارهای کیفی لازم را پیدا خواهد کرد. در مورد دانه‌های روغنی، این فرآیند جایگزینی برای فرآیند پرس کردن یا استخراج با حلال از دانه‌هایی نظیر بادام زمینی، آفتابگردان، پنبه دانه، کلزا و سویا می‌باشد (Shahidi, 1990; Pereira et al., 2002). استخراج آنزیمی جهت استخراج روغن از جوانه ذرت با یک مخلوط آنزیمی شامل آنزیم پکتینکس و گاما‌ناز در غلظت ۳ درصد، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ ساعت به کار رفت. کیفیت روغن حاصله با اندیس اسیدی ۱/۵٪، رنگ زرد روشن، پر اکسید ۰/۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلو گرم، ۲/۲۲٪ فسفاتید بدست آمد (Moreau et al., 2004). استفاده از مخلوط آنزیم‌های هیدرولیز کننده به عنوان پیش تیمار جهت افزایش راندمان استخراج روغن سویا نسبت به روش‌های معمولی یا سنتی استفاده بکار رفت، که شرایط pH = ۵/۸ با دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ ساعت برای دانه خرد شده با تخلخل بیشتر و سنگین‌تر پیشنهاد گردید (Lamsal and Johnson, 2004).

توسط فن دستگاه و الک‌های موجود تا حد امکان پوسته از دانه جدا گردید) در آسیاب کاملاً خرد شده و در محیط نیمه مایع رقیقی، (با نسبت ۵:۱ وزنی- حجمی دانه به آب) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد پخت و سپس تا دمای محیط خنک شد. از آنجائیکه ترکیبات دیواره سلولی دانه تابعی از وارسته، منطقه و اقلیم می‌باشد، آنزیم‌های مصرفی در این پروژه از گروه هیدرولازها بوده و بر اساس ترکیباتی که لازم است تحت هیدرولیز قرار گیرند، از خانواده عمده پکتینازها، سلولازها و پروتئازها انتخاب شدند. جهت بدست آوردن شرایط بهینه استخراج آبکی از مخلوط آنزیمی پکتینکس اولترا اس پی- ال و پروتکس ۷ ال، (ساخت شرکت نوونورودیسک دانمارک) به نسبت ۱ به ۱ استفاده شد. این آنزیم‌ها به شکل مایع بوده و مستقیم به صورت حجمی وزنی نسبت به وزن دانه به محیط آبکی استخراج اضافه می‌گردد. سه تیمار غلظت آنزیم (۱، ۲ و ۳٪ حجمی- وزنی)، زمان واکنش (۳، ۴ و ۵ ساعت) و در درجه حرارت (۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد) مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است، پکتینکس اولترا اس پی- ال آنزیمی با فعالیت پکتولیتیک بالا ۲۶۰۰۰ PG/ml بوده که به حالت فیزیکی مایع و قهوه‌ای رنگ می‌باشد و به وسیله یک سویه انتخابی از *Aspergillus aculeatus* تهیه شده است. این آنزیم دارای فعالیت‌های پکتولیتیک، همی سلولولیتیک، سلولولیتیک و دیگر فعالیت‌های جانبی آنزیمی است که به همراه پروتئاز (پروتکس ۷ ال) بخصوص برای تجزیه و خرد کردن دیواره سلول و شکستن امولسیون مناسب می‌باشد. پس از طی مدت اینکوباسیون در شرایط هم‌زدن ۸۰ دور در دقیقه و pH=۴/۵ در اینکوباتور شیکردار (کنترل pH با اسید کلریدریک و سود ۰/۱ نرمال در طول اینکوباسیون توسط دستگاه pH متر صورت گرفت). مخلوط آنزیمی بواسطه فعالیت‌های چندگانه منجر به آزاد سازی روغن شد. جهت جداسازی فازهای مخلوط حاصله هر نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در (rpm) ۷۰۰۰ در سانتریفوژ سه فازی فاز روغن از فاز جامد رسوبی پروتئینی کنجاله جدا گردید (لازم به ذکر است فاز مایع دارای سه لایه روغن آزاد، مایع حاوی کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های محلول است و فاز جامد یک لایه از پروتئین‌های رسوبی و پوسته بود که پس از خشک شدن جهت آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت).

استخراج آنزیمی روغن زیتون با استفاده از آنزیم‌های صنعتی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که غلظت آنزیم تاثیر معنی‌داری بر روی راندمان رنگ و کدورت داشت. در حالیکه، اثر معنی‌داری بر روی خصوصیات دیگر مانند اسیدیته، پراکسید و عدد یدی نداشت. کدورت به طور معنی‌داری در روش استخراج آنزیمی کاهش یافت و راندمان نیز به طور معنی‌داری تا ۲/۴٪ نسبت به روش معمول افزایش یافت (Najafian et al., 2009). روغن کشتی از کلزا با مخلوطی از آنزیم‌های سلولاز، پکتیناز و پروتئیناز صورت گرفت. میزان پروتئین کنجاله ۵۴٪، با ارزش بیولوژیکی ۹۲/۷٪ بدست آمد و راندمان استخراج روغن از مخلوط چند آنزیمی موثرتر از سلولاز یا پکتینازها به تنهایی است (Ohlson, 1995; Zhang et al., 2007). افزایش راندمان استخراج روغن از هسته انگور با استفاده از مخلوط آنزیمی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج درجه حرارت ۳۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد، اندازه ذرات بین ۱/۴ - ۱ میلی‌متر pH = ۵/۵ را در مخلوط آنزیمی سلولاز، پروتئاز و پکتیناز مناسب نشان داد (Passos et al., 2009).

لذا در این تحقیق به بررسی روش استخراج آنزیمی روغن کلزا از رقم اوکاپی پرداخته شد، تا شرایط مناسب استخراج آنزیمی و خصوصیات کمی و کیفی روغن و کنجاله حاصله نیز ارزیابی گردد.

## مواد و روش‌ها

نمونه کلزای مورد بررسی از ارقام غالب منطقه خراسان رضوی (رقم اوکاپی) بود که با مدیریت زراعی مناسب کشت شده بود و از بخش تحقیقات دانه‌های روغنی تهیه گردید. نمونه‌ها با رطوبت ۱۴-۱۲٪ برداشت و پس از جداسازی ناخالصی‌ها، دانه‌ها تا رطوبت ۸٪ خشک شدند (با استفاده از خشک‌کن کابینتی و دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه).

### - مراحل استخراج آنزیمی در محیط آبی

مراحل اولیه فرآیند شامل آسیاب کردن و اعمال تیمار حرارتی جهت غیرفعال کردن آنزیم میروزیماز و سایر آنزیم‌ها و پخت دانه می‌باشد. بدین منظور دانه‌های پوست‌گیری شده (با استفاده از پوستگیر دو غلطکی و سپس

بررسی شرایط مناسب فرآیند استخراج آنزیمی روغن کلزا

توسط اسپکتروفتومتر و رسم منحنی استاندارد فسفات میزان فسفر روغن در جذب ۴۲۰ نانومتر (طبق استاندارد AOCS 1993 به شماره 12-55 Ca) اندازه گیری شد.

#### اندازه گیری پروتئین

بر اساس روش کلدال نمونه‌ها هضم و سپس با تیتراسیون مقدار (N × 6.25) مقدار کل پروتئین رسوبی در فاز آبی (طبق استاندارد AOAC, 2005 به شماره ۹۴۸/۱۳) محاسبه گردید.

#### اندازه گیری راندمان استخراج روغن

راندمان استخراج بر اساس رابطه ذیل محاسبه گردید:

$$100 \times \frac{\text{مقدار روغن باقی مانده در کنجاله} - \text{مقدار کل روغن کلزا}}{\text{مقدار کل روغن کلزا}} = \text{راندمان استخراج روغن}$$

#### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل، با سه تیمار غلظت آنزیم، زمان واکنش و درجه حرارت هر کدام در سه سطح در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار MSTAT-C استفاده شد. میانگین اثرات اصلی و متقابل فاکتورها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن ( $p < 0.05$ ) مورد بررسی قرار گرفت.

#### یافته‌ها

##### مشخصات اولیه دانه و کنجاله کلزا

در جدول ۱ نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی رقم اوکاپی کلزا آورده شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد میزان روغن ۴۳/۳٪ و مقدار پروتئین کنجاله ۳۸/۵٪ بدست آمده است. مقادیر مورد اندازه‌گیری می‌تواند به دلیل اختلافات ژنتیکی بین ارقام و شرایط منطقه‌ای و آب و هوایی متفاوت باشد.

جدول ۱- خصوصیات اولیه رقم کلزای مورد آزمایش

رقم	رطوبت (%)	روغن (%)	پروتئین کنجاله (%)	اسیدیته (%)	پراکسید (meqO <sub>2</sub> /kg)	فسفر (mg/kg)
اوکاپی	۸ ± ۰/۴	۴۳/۳ ± ۰/۵	۳۸/۵ ± ۰/۲۹	۰/۳۵ ± ۰/۰۳	۱/۱۰ ± ۰/۰۵	۱۵۶/۲ ± ۲/۷

a: نتایج عبارت است از میانگین و انحراف معیار ۳ تکرار.

#### آزمایشات کمی و کیفی

##### اندازه‌گیری اسیدیته روغن

اسیدیته بر حسب اسید اولئیک و توسط تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال در مقابل فنل فتالین (طبق استاندارد AOAC, 2005 به شماره ۹۴۰/۲۸) اندازه‌گیری شد.

##### اندازه‌گیری پراکسید روغن

ابتدا محلول‌های استاندارد آهن III با غلظت mg/ml ۱-۴ تهیه شده، ۱/۱۰ میلی لیتر از محلول‌های استاندارد به ۹/۸ ml مخلوط کلرفرم - متانول با نسبت ۷:۳ اضافه و به مدت ۲-۴ ثانیه هم زده می‌شود. سپس به ترتیب ۵۰ میکرولیتر محلول تیوسیونات و محلول آهن II اضافه و بعد از اضافه کردن هر کدام به مدت ۲-۴ ثانیه هم زده می‌شود. بعد از ۵ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نمونه در طول موج ۵۰۰ نانومتر در برابر شاهد تعیین می‌شود. سپس منحنی خطی غلظت آهن III در برابر میزان جذب در ۵۰۰ نانومتر رسم می‌شود و شیب آن تعیین می‌گردد. نمونه روغن بسته به میزان پراکسیداسیون در لوله‌های آزمایش وزن شده و با ۹/۸ سی سی حلال کلرفرم - متانول ۳:۷ مخلوط و به مدت ۲ تا ۴ ثانیه هم زده شد. بقیه مراحل مشابه ترسیم منحنی کالیبراسیون است. تمامی مراحل زیر نور ملایم و به مدت ۱۰ دقیقه صورت می‌گیرد عدد پراکسید از فرمول زیر حساب می‌شود: (Shanta & Deker, 1994)

$$P.V = \frac{A_s - A_b \times m}{111/68 \times W}$$

m: شیب به دست آمده از منحنی کالیبراسیون، A<sub>s</sub>: جذب نمونه در طول موج ۵۰۰ نانومتر، A<sub>b</sub>: جذب شاهد، W: وزن نمونه روغن است.

##### اندازه‌گیری میزان فسفر به روش اسپکتروفتومتری

میزان فسفری که در داخل روغن مانده در مجاورت هیدرازید سولفات و سدیم مولیبدات یک کمپلکس آبی رنگ تشکیل می‌دهد که بر اساس سنجیدن غلظت رنگ

**– اثر عامل غلظت آنزیم بر راندمان استخراج، اسیددیده، پراکسید، فسفر و پروتئین کنجاله**  
 لازم به توضیح است، نتایج این تحقیق بر اساس تجزیه آماری به روش فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته است. براساس جدول تجزیه واریانس مربوطه، این روش به طور جداگانه اثر اصلی هر یک از عوامل و سپس اثر متقابل دو عامل با یکدیگر و نهایتاً اثر متقابل هر سه عامل را با یکدیگر مورد بررسی قرار می دهد، که در این تحقیق اثر عوامل غلظت آنزیم درجه حرارت و زمان به عنوان اثرات اصلی و بر هم کنش بین آنها به عنوان اثرات متقابل در قسمت نتایج ذکر شده است. به عبارت دیگر وقتی اثر غلظت آنزیم را مورد بررسی قرار می دهد یعنی میانگین تمامی شرایط دیگر را از نظر درجه حرارت و زمان در غلظت آنزیم مورد نظر بررسی می کند تا تاثیر عامل آنزیم در غلظتهای مختلف دیده شود (یزدی صمدی و همکاران، ۱۳۹۰).

میلی گرم در کیلوگرم و ۴۵/۳۰ – ۵۰/۳۹٪ قرار داشتند. همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می گردد کمترین راندمان استخراج با میزان ۶۶/۱۵ مربوط به غلظت ۱٪ و بالاترین راندمان با مقدار ۸۵/۹۷٪ در غلظت ۳٪ بود. مقایسه میانگینها در سطح (p<۰/۰۵) نشان داد بین غلظتهای ۲ و ۳٪ اختلاف معنی دار نبوده و افزایش غلظت آنزیم از ۲٪ به بالا تاثیری بر افزایش راندمان استخراج روغن نداشت. تاثیر غلظت آنزیم، بر شاخصهای اسیددیده و پراکسید به عنوان معیاری جهت ارزیابی کیفی روغن معنی دار نبود. کمترین میزان میانگین فسفر در غلظت ۲٪ و بیشترین آن در غلظت ۱٪ حاصل شد، که ناشی از خروج بیشتر فسفر یا بعبارت دیگر ترکیبات صمغی از روغن به فاز آبی می باشد. در ارتباط با میزان پروتئین تاثیر آنزیم بین غلظت های ۲ و ۳٪ معنی دار نبوده و بیشترین میزان پروتئین با مقدار ۵۰/۳۹٪ در غلظت ۳٪ و کمترین آن با مقدار ۴۵/۳۰٪ در غلظت ۱٪ بود.

جدول ۲ میانگین خصوصیات اندازه گیری شده تحت تاثیر غلظت آنزیم را نشان می دهد. تجزیه آماری داده ها (p<۰/۰۱) اثر معنی دار غلظت آنزیم بر خصوصیات اندازه گیری شده را نشان داد، مقدار راندمان استخراج، اسیددیده، پراکسید، فسفر و پروتئین تحت تاثیر غلظت آنزیم مورد استفاده به ترتیب در دامنه ای از ۶۱/۱۵ – ۸۵/۹۷٪، ۰/۳۶ – ۰/۳۷، ۱/۱۱ – ۱/۲۲ (meq o2/kg) ، ۵۸/۷۴ – ۴۲/۳۳

**– تاثیر عامل درجه حرارت بر راندمان استخراج، اسیددیده، پراکسید، فسفر و پروتئین کنجاله**  
 جدول ۳ میانگین خصوصیات اندازه گیری شده تحت تاثیر دمای واکنش را نشان می دهد. تجزیه واریانس داده ها اثر معنی دار (p<۰/۰۱) این عامل را بر خصوصیات اندازه گیری شده را نشان داده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه گیری شده تحت تاثیر عامل غلظت آنزیم

منبع تغییر (غلظت آنزیم %)	راندمان استخراج (%)	اسیددیده (%)	پراکسید (meq o2/kg)	فسفر (mg/kg)	پروتئین کنجاله (%)
۱	۶۶/۱۵ <sup>b</sup>	۰/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۱۱ <sup>a</sup>	۵۸/۷۴ <sup>c</sup>	۴۵/۳۰ <sup>b</sup>
۲	۸۵/۴۹ <sup>a</sup>	۰/۳۵ <sup>a</sup>	۱/۲۱ <sup>a</sup>	۴۴/۶۶ <sup>b</sup>	۵۰/۳۰ <sup>a</sup>
۳	۸۵/۹۷ <sup>a</sup>	۰/۳۷ <sup>a</sup>	۱/۲۲ <sup>a</sup>	۴۲/۳۳ <sup>a</sup>	۵۰/۳۹ <sup>a</sup>

در هر ستون اختلاف معنی دار آماری بین میانگین های با حروف یکسان وجود ندارد.

جدول ۳- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه گیری شده تحت تاثیر درجه حرارت

منبع تغییر (درجه حرارت °C)	راندمان استخراج (%)	اسیددیده (%)	پراکسید (meq o2/kg)	فسفر (mg/kg)	پروتئین کنجاله (%)
۳۵	۶۵/۲۵ <sup>b</sup>	۰/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۱۶ <sup>a</sup>	۵۴/۲۸ <sup>c</sup>	۴۷/۴۱ <sup>b</sup>
۴۵	۸۶/۳۵ <sup>a</sup>	۰/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۱۹ <sup>a</sup>	۴۶/۶۸ <sup>b</sup>	۴۹/۵۷ <sup>a</sup>
۵۵	۸۶/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۴۱ <sup>a</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۴۴/۷۶ <sup>a</sup>	۴۹/۰۲ <sup>ab</sup>

در هر ستون اختلاف معنی دار آماری بین میانگین های با حروف یکسان وجود ندارد.

بررسی شرایط مناسب فرآیند استخراج آنزیمی روغن کلزا

### استخراج، اسیدیته، پراکسید، فسفر و پروتئین کنجاله

تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان داد در تمامی غلظت‌ها، راندمان استخراج با افزایش دما، افزایش یافته است و در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳٪ در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد راندمان به ترتیب به ۰/۲۰، ۰/۳۶ و ۰/۹۲٪ رسید. مقایسه میانگین‌ها نشان داد، بین دماهای ۴۵ و ۵۵ در تمامی غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار نبوده ضمن اینکه در تمامی دماها راندمان در غلظت‌های ۲ و ۳٪ نیز بالاتر بود. بنابراین با توجه به صرفه‌جویی در عوامل تولید، غلظت آنزیم ۲٪ در شرایط دمایی ۴۵ درجه سانتی‌گراد مناسب تر می‌باشد. تاثیر عامل غلظت آنزیم در درجه حرارت بر تغییرات اسیدیته و پراکسید معنی‌دار نبود. میزان فسفر تحت تاثیر عامل غلظت و درجه حرارت قرار داشت و کمترین مقدار فسفر در غلظت‌های ۲ و ۳٪ در دمای ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. مقدار پروتئین نمونه‌ها نیز روندی مشابه داشت بطوریکه بیشترین مقدار پروتئین در غلظت‌های ۲ و ۳٪ و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد حاصل شد.

با افزایش درجه حرارت مقدار راندمان استحصال روغن افزایش و همانطور که در جدول ۳ ملاحظه می‌گردد، مقدار آن از ۰/۶۵/۲۵٪ در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به ۰/۸۶/۳۵٪ در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد رسیده است. اما مقایسه میانگین‌ها نشان داد این افزایش دماهای بالاتر از ۴۵ درجه سانتی‌گراد معنی‌دار نبوده است. مقدار اسیدیته در دامنه ۰/۳۳ تا ۰/۴۱٪ قرار داشت و مقایسه میانگین‌ها بین دماهای ۳۵ و ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد تفاوتی را نشان نداد. عامل درجه حرارت بر مقدار تغییر پراکسید نیز معنی‌دار نبود. میزان فسفر که در واقع معیاری جهت فرآیند صمغ گیری روغن است با شدت بیشتری نسبت به سایر خصوصیات تحت تاثیر دمای استخراج قرار گرفت و همانطور که ملاحظه می‌گردد، مقدار آن از ۵۴/۲۸ mg/kg در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به ۴۴/۷۶ mg/kg در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد رسید. روند تغییرات در مقدار پروتئین متناسب با راندمان استخراج، در کنجاله آنزیمی که به کنجاله پر پروتئین نیز معروف می‌باشد، ۴۹/۵۷٪ در شرایط دمایی ۴۵ درجه سانتی‌گراد بود.

- اثر عامل درجه حرارت × غلظت آنزیم بر راندمان

جدول ۴- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر غلظت آنزیم × درجه حرارت

پروتئین کنجاله (%)	فسفر (mg/kg)	پراکسید (meq o2/kg)	اسیدیته (%)	راندمان استخراج (%)	منابع تغییر درجه حرارت × غلظت آنزیم (C°)
غلظت ۱٪					
۴۴/۶۳ <sup>d</sup>	۶۱/۴۴ <sup>f</sup>	۱/۱۰ <sup>a</sup>	۰/۳۳ <sup>a</sup>	۵۸/۶۸ <sup>c</sup>	۵۵°C
۴۵/۱۵ <sup>d</sup>	۵۸/۰۱ <sup>e</sup>	۱/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۳۵ <sup>a</sup>	۷۰/۲۰ <sup>b</sup>	۵۵°C
۴۶/۱۴ <sup>d</sup>	۵۶/۷۷ <sup>e</sup>	۱/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۴۱ <sup>a</sup>	۶۹/۵۶ <sup>b</sup>	۵۵°C
غلظت ۲٪					
۴۸/۴۱ <sup>c</sup>	۵۳/۶۵ <sup>d</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۰/۳۳ <sup>a</sup>	۶۸/۰۸ <sup>b</sup>	۵۵°C
۵۱/۹۹ <sup>a</sup>	۴۰/۵۲ <sup>b</sup>	۱/۲۲ <sup>a</sup>	۰/۳۳ <sup>a</sup>	۹۲/۳۶ <sup>a</sup>	۵۵°C
۵۰/۵۰ <sup>ab</sup>	۳۹/۸۲ <sup>b</sup>	۱/۲۳ <sup>a</sup>	۰/۴۱ <sup>a</sup>	۹۲/۰۲ <sup>a</sup>	۵۵°C
غلظت ۳٪					
۴۹/۲۰ <sup>bc</sup>	۴۷/۷۶ <sup>c</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۰/۳۴ <sup>a</sup>	۶۸/۹۷ <sup>b</sup>	۵۵°C
۵۱/۵۷ <sup>a</sup>	۴۱/۵۲ <sup>b</sup>	۱/۲۳ <sup>a</sup>	۰/۳۵ <sup>a</sup>	۹۲/۵۰ <sup>a</sup>	۵۵°C
۵۰/۴۲ <sup>ab</sup>	۳۷/۷۰ <sup>a</sup>	۱/۲۴ <sup>a</sup>	۰/۴۱ <sup>a</sup>	۹۲/۴۴ <sup>a</sup>	۵۵°C

در هر ستون اختلاف معنی‌دار آماری بین میانگین‌های با حروف یکسان وجود ندارد.

ساعت و در ارتباط با افزایش پروتئین در آرد کنجاله در شرایط غلظت ۲٪ و زمان ۴ ساعت (۵۰/۷۸٪)، غلظت ۲٪ و زمان ۵ ساعت (۵۱/۳۰٪)، غلظت ۳٪ و زمان ۴ ساعت (۵۱/۸۷٪) و غلظت ۳٪ و زمان ۵ ساعت (۵۱/۲۱٪) بدست آمد، که اختلاف اعداد ذکر شده نیز از نظر آماری معنی دار نبود.

**– اثر عامل زمان × درجه حرارت بر راندمان استخراج، اسیدیتة، پراکسید، فسفر و پروتئین کنجاله**

بررسی هم زمان دو فاکتور زمان و درجه حرارت و نتایج حاصل در جدول ۷ آمده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد، افزایش زمان به همراه افزایش درجه حرارت سبب افزایش راندمان استخراج شده است. بهترین راندمان استخراج در شرایط دمایی ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۴ و ۵ ساعت حاصل شد. بنابراین می‌توان دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به همراه ۴ ساعت زمان را بعنوان شرایط مناسب استخراج آنزیمی انتخاب کرد. اسیدیتة و پراکسید تحت تاثیر همزمان این دو فاکتور قرار نگرفته بطوریکه تغییرات آنها بسیار جزئی بود. کمترین میزان فسفر در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴ و ۵ ساعت بدست آمد، اما مقایسه میانگین‌ها اختلاف این مقادیر را با مقادیر بدست آمده در شرایط دمایی ۴۵ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۴ و ۵ ساعت معنی دار نشان نداد.

**– تاثیر عامل زمان واکنش بر راندمان استخراج، اسیدیتة، پراکسید، فسفر و پروتئین کنجاله**

جدول ۵ نتایج میانگین خصوصیات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر عامل زمان را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌گردد، راندمان استخراج با افزایش زمان، افزایش یافت. بالاترین راندمان در زمان ۵ ساعت بدست آمد، اما مقایسه میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری را بین زمان‌های ۴ و ۵ ساعت نشان نداد. زمان واکنش آنزیمی بر خصوصیات کیفی اسیدیتة و پراکسید معنی‌دار نبود. تغییرات پراکسید پایین و تغییرات اسیدیتة نیز در حد قابل اغماض بود. روند تغییرات فسفر و پروتئین کنجاله آنزیمی مشابه یکدیگر بود و بهترین نتایج در شرایط زمانی ۴ و ۵ ساعت بدست آمد.

**– اثر عامل زمان × غلظت آنزیم بر راندمان استخراج، اسیدیتة، پراکسید، فسفر و پروتئین کنجاله**

میانگین خصوصیات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر زمان و غلظت آنزیم در جدول ۶ خلاصه شده است. در تمامی غلظت‌ها روند افزایشی راندمان با افزایش زمان، مشاهده می‌گردد. تاثیر زمان و غلظت آنزیم بر تغییرات اسیدیتة و پراکسید در تمامی غلظت‌ها و زمان‌ها یکسان و از نظر آماری نیز معنی‌دار نبود. روند تغییرات فسفر و پروتئین یکسان و بهترین نتایج در ارتباط با میزان کاهش فسفر در شرایط غلظت ۲٪ و زمان ۴ ساعت، غلظت ۲٪ و زمان ۵ ساعت غلظت ۳٪ و زمان ۴ ساعت و غلظت ۳٪ و زمان ۵

جدول ۵- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر زمان واکنش آنزیمی

منبع تغییر	راندمان استخراج	اسیدیتة	پراکسید	فسفر	پروتئین کنجاله
زمان (ساعت)	(%)	(%)	(meq o2/kg)	(mg/kg)	(%)
۳	۷۵/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۳۵ <sup>a</sup>	۱/۱۵ <sup>a</sup>	۵۰/۷۳ <sup>b</sup>	۴۷/۱۸ <sup>b</sup>
۴	۸۱/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۱۹ <sup>a</sup>	۴۷/۷۸ <sup>a</sup>	۴۹/۱۸ <sup>a</sup>
۵	۸۱/۴۹ <sup>a</sup>	۰/۳۷ <sup>a</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۴۷/۲۱ <sup>a</sup>	۴۹/۶۴ <sup>a</sup>

در هر ستون اختلاف معنی‌دار آماری بین میانگین‌های با حروف یکسان وجود ندارد.

بررسی شرایط مناسب فرآیند استخراج آنزیمی روغن کلزا

جدول ۶- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر زمان × غلظت آنزیم

پروتئین کنجاله (%)	فسفر (mg/kg)	پراکسید (meq o2/kg)	اسیدیته (%)	راندمان استخراج (%)	منابع تغییر زمان (ساعت) × غلظت آنزیم
غلظت ۱٪					
۴۳/۶۳ <sup>e</sup>	۶۲/۲۶ <sup>d</sup>	۱/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۳۶ <sup>a</sup>	۶۰/۸۴ <sup>d</sup>	۳
۴۵/۸۹ <sup>d</sup>	۵۷/۶۳ <sup>c</sup>	۱/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۳۶ <sup>a</sup>	۶۸/۸۰ <sup>c</sup>	۴
۴۶/۴۰ <sup>d</sup>	۵۶/۳۳ <sup>c</sup>	۱/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۳۷ <sup>a</sup>	۶۸/۸۱ <sup>c</sup>	۵
غلظت ۲٪					
۴۸/۸۱ <sup>c</sup>	۴۷/۰۱ <sup>b</sup>	۱/۱۸ <sup>a</sup>	۰/۳۴ <sup>a</sup>	۸۱/۷۴ <sup>b</sup>	۳
۵۰/۷۸ <sup>ab</sup>	۴۳/۵۹ <sup>a</sup>	۱/۲۲ <sup>a</sup>	۰/۳۵ <sup>a</sup>	۸۷/۰۶ <sup>a</sup>	۴
۵۱/۳۰ <sup>a</sup>	۴۳/۴۰ <sup>a</sup>	۱/۲۴ <sup>a</sup>	۰/۳۷ <sup>a</sup>	۸۷/۶۶ <sup>a</sup>	۵
غلظت ۳٪					
۴۹/۱۱ <sup>bc</sup>	۴۲/۹۳ <sup>a</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۰/۳۶ <sup>a</sup>	۸۲/۵۴ <sup>b</sup>	۳
۵۰/۸۷ <sup>ab</sup>	۴۲/۱۳ <sup>a</sup>	۱/۲۳ <sup>a</sup>	۰/۳۷ <sup>a</sup>	۸۷/۳۷ <sup>a</sup>	۴
۵۱/۲۱ <sup>a</sup>	۴۱/۹۲ <sup>a</sup>	۱/۲۵ <sup>a</sup>	۰/۳۸ <sup>a</sup>	۸۸/۰۰ <sup>a</sup>	۵

در هر ستون اختلاف معنی‌دار آماری بین میانگین‌های با حروف یکسان وجود ندارد.

جدول ۷- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر درجه حرارت × زمان

پروتئین کنجاله (%)	فسفر (mg/kg)	پراکسید (meq o2/kg)	اسیدیته (%)	راندمان استخراج (%)	منابع تغییر زمان (ساعت) × درجه حرارت
دمای ۳۵ °C					
۴۶/۲۱ <sup>e</sup>	۵۵/۵۲ <sup>e</sup>	۱/۱۴ <sup>a</sup>	۰/۳۳ <sup>a</sup>	۶۱/۴۴ <sup>d</sup>	۳
۴۷/۴۷ <sup>de</sup>	۵۴/۳۵ <sup>cd</sup>	۱/۱۷ <sup>a</sup>	۰/۳۳ <sup>a</sup>	۶۶/۷۵ <sup>c</sup>	۴
۴۸/۵۶ <sup>bcd</sup>	۵۲/۹۸ <sup>d</sup>	۱/۱۸ <sup>a</sup>	۰/۳۵ <sup>a</sup>	۶۷/۵۵ <sup>c</sup>	۵
دمای ۴۵ °C					
۴۷/۸۷ <sup>cde</sup>	۵۰/۵۳ <sup>c</sup>	۱/۱۶ <sup>a</sup>	۰/۳۴ <sup>a</sup>	۸۲/۲۴ <sup>b</sup>	۳
۵۰/۷۰ <sup>a</sup>	۴۵/۰۰ <sup>ba</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۰/۳۵ <sup>a</sup>	۸۸/۳۶ <sup>a</sup>	۴
۵۰/۱۴ <sup>ab</sup>	۴۴/۵۲ <sup>ba</sup>	۱/۲۱ <sup>a</sup>	۰/۳۵ <sup>a</sup>	۸۸/۴۵ <sup>a</sup>	۵
دمای ۵۵ °C					
۴۷/۴۸ <sup>de</sup>	۴۶/۱۵ <sup>b</sup>	۱/۱۷ <sup>a</sup>	۰/۳۹ <sup>a</sup>	۸۱/۴۴ <sup>b</sup>	۳
۴۹/۳۷ <sup>abc</sup>	۴۴/۰۰ <sup>a</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۰/۴۱ <sup>a</sup>	۸۸/۱۲ <sup>a</sup>	۴
۵۰/۲۱ <sup>ab</sup>	۴۴/۱۴ <sup>a</sup>	۱/۲۲ <sup>a</sup>	۰/۴۲ <sup>a</sup>	۸۸/۴۶ <sup>a</sup>	۵

در هر ستون اختلاف معنی‌دار آماری بین میانگین‌های با حروف یکسان وجود ندارد.

## بحث

حاصل شده که در دامنه عددی ۵۴/۴۳ تا ۹۲/۴٪ قرار داشت. آزمون مقایسه میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری را بین شرایط مذکور نشان نداد. نتیجه این بخش از تحقیق با نتایج محققین دیگر (Pereira *et al.*, 2002; Miller- (Cebert *et al.*, 2009) همسو بود، که اهمیت غلظت آنزیم و درجه حرارت واکنش آنزیمی با افزایش راندمان تا حد مشخصی از غلظت آنزیم را نشان می‌دهد. درجه حرارت مورد استفاده بایستی به گونه‌ای انتخاب شود که از یک

نتایج نشان داد که غلظت آنزیم‌ها نیز در بالا بردن بازده استخراج موثرند، چون آنزیم‌ها عامل تخریب دیواره سلولی و رهایش روغن به دام افتاده در لایه‌های پروتئینی و پلی ساکاریدی هستند، بدیهی است افزایش میزان آنها در بهبود میزان بازده استخراج مؤثر خواهد بود. بالاترین راندمان‌های استخراج روغن در شرایط غلظت آنزیمی ۳ و ۴٪، دمای ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴ و ۵ ساعت



طرف با فعالیت ماکزیمم آنزیم مطابقت داشته و از طرف دیگر کیفیت محصول نهایی را تحت تاثیر قرار ندهد. یکی دیگر از فاکتورهای مهم در فرآیند استخراج آنزیمی روغن کلزا زمان واکنش آنزیمی می‌باشد، که در واقع زمان لازم جهت انجام فعل و انفعالات شیمیایی آنزیم با بافت‌های پلی ساکاریدی دیواره دانه است. اگر این زمان کم باشد، آنزیم فرصت کافی جهت انجام واکنش نداشته و عملاً راندمان استخراج پایین می‌آید و اگر زیاد باشد، زمان تولید طولانی می‌گردد. بنابراین با توجه به اهمیت زمان در تولید، می‌توان زمان ۴ ساعت را در نظر گرفت. نتایج این بخش تحقیق با نتایج (Zhang *et al.*, 2007) که زمان ۵ ساعت را جهت واکنش آنزیمی مورد نظر بکار بردند، متفاوت است که ناشی از اختلافات نوع واریته، شرایط اقلیمی و فرآیند استخراج است. شرایط مختلف استخراج آنزیمی بر میزان اسیدیته نه تنها اثر منفی نداشته بلکه در کلیه شرایط از ۰/۴۳ درصد بالاتر نرفته و کیفیت روغن در حد بالا باقی می‌ماند که مزیت این روش نسبت به روش استخراج با حلال می‌باشد (Deng *et al.*, 1999) نیز حداکثر اسیدیته در استخراج آنزیمی روغن کلزا را ۰/۵۹٪ گزارش کرد.

در ارتباط با پارامتر کیفی دیگر روغن کلزا یعنی اندیس پراکسید تغییرات بقدری جزئی می‌باشد که در بسیاری از شرایط قابل اغماض بوده و فقط در شرایط دمایی ۵۵ درجه سانتی‌گراد و در مدت زمانی ۵ ساعت بیشتر قابل توجه بود. لذا با توجه به اینکه تغییرات مقدار پراکسید در سایر تیمارها معنی‌دار نبود، بنابراین می‌توان گفت شرایط مختلف شرایط مختلف استخراج آنزیمی تأثیری بر اندیس پراکسید روغن نداشته است. نتایج محققین دیگر (Najafian *et al.*, 2009) نشان داده است، حفظ مقادیر زیاد توکوفرول‌ها در فرآیند آنزیمی سبب پایداری بیشتر روغن شده است و معمولاً تیمارهای بیوتکنولوژیکی یا تاثیر اندکی روی میزان پیشرفت اکسیداسیون داشته و یا اصولاً بی‌تاثیر می‌باشند. نتایج این تحقیق نیز تاییدی بر این مطلب می‌باشد.

نتایج به خوبی تاثیر استخراج آنزیمی را بر کاهش مقدار فسفر روغن و کاهش و یا بعضاً حذف عملیات صمغ گیری روغن را بعنوان یکی دیگر از مزایای استخراج آنزیمی نشان داد. بهترین شرایط جهت کاهش بیشتر فسفر در غلظت‌های ۲ و ۳٪، دماهای ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۴ و ۵ ساعت حاصل شد. دامنه عددی میزان

فسفر در شرایط مذکور بین ۳۷/۳ تا ۴۰/۶ mg/kg بود که آزمون مقایسه میانگین‌ها تفاوت معنی‌داری را بین آنها نشان نداد. نتایج (Moreau *et al.*, 2004) نیز کاهش معنی‌دار فسفاتیدها را در استخراج آنزیمی روغن جوانه ذرت تا ۲/۲ درصد نشان داده است. یکی دیگر از مزایای استخراج آنزیمی روغن تولید آرد کنجاله پر پروتئین می‌باشد (کنجاله کلزا در روش استخراج با حلال حداکثر دارای ۳۸-۴۰٪ پروتئین می‌باشد) که نتایج حاصله به خوبی این مطلب را نشان می‌دهد. بیشترین مقدار پروتئین در غلظت آنزیمی ۲ و ۳٪ و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۴ و ۵ ساعت با مقدار حداکثر ۵۲/۸۶٪ بدست آمده است که تاییدی بر نتایج (Zhang *et al.*, 2007; Ohelson, 1990) که توانستند کنجاله‌ای با ۵۴٪ پروتئین با ارزش بیولوژیکی بالا تولید نمایند می‌باشد.

خصوصیات اندازه‌گیری شده تحت شرایط مختلف استخراج آنزیمی در جدول ۸ مقایسه شده است. در این جدول شرایط متفاوت غلظت، درجه حرارت و زمان واکنش آنزیمی با هم مقایسه شده تا شرایط بهینه استخراج بدست آید. همانطور که ملاحظه می‌گردد بالاترین راندمان‌های استخراج روغن در شرایط غلظت آنزیمی ۲ و ۳٪، دمای ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴ و ۵ ساعت حاصل شده که در دامنه عددی ۹۵/۴۶ تا ۹۶/۴۰٪ قرار دارد. آزمون مقایسه میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری را بین شرایط مذکور نشان نداد.

شرایط مختلف استخراج آنزیمی بر میزان اسیدیته نه تنها اثر منفی نداشته بلکه در کلیه شرایط از ۰/۴۳ درصد بالاتر نرفته و کیفیت روغن در حد بالا باقی می‌ماند که مزیت این روش نسبت به روش حلال می‌باشد. دنگ و همکاران، ۱۹۹۹ نیز حداکثر اسیدیته در استخراج آنزیمی را ۰/۵۹٪ گزارش کرد. در ارتباط با پارامتر کیفی دیگر روغن کلزا یعنی اندیس پراکسید تغییرات بقدری جزئی می‌باشد که در بسیاری از شرایط قابل اغماض بوده و فقط در شرایط دمایی ۵۵ درجه سانتی‌گراد و در مدت زمانی ۵ ساعت قابل تعیین بود. لذا با توجه به اینکه تغییرات مقدار پراکسید در سایر تیمارها معنی‌دار نبود، بنابراین می‌توان گفت شرایط مختلف شرایط مختلف استخراج آنزیمی تأثیری بر اندیس پراکسید روغن نداشته است. مقدار فسفر روغن با افزایش غلظت آنزیم روند نزولی داشته بطوریکه کمترین میزان

بررسی شرایط مناسب فرآیند استخراج آنزیمی روغن کلزا

فسفر در غلظت ۳٪، دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۵ ساعت بدست آمد.

جدول ۸ - عامل غلظت > درجه حرارت > زمان بر میزان راندمان استخراج، اسیدیته، پراکسید، فسفر و پروتئین

نمونه	راندمان استخراج (%)	اسیدیته (%)	پراکسید (meq o2/kg)	فسفر (mg/kg)	پروتئین کنجاله (%)
غلظت ۱٪					
دمای ۳۵ °C					
۳ ساعت	۵۴/۴۳ <sup>h</sup>	-/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۰۷ <sup>a</sup>	۶۵/۳۰ <sup>l</sup>	۴۳/۲۶ <sup>j</sup>
۴ ساعت	۶۰/۴۳ <sup>g</sup>	-/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۱۱ <sup>a</sup>	۶۰/۹۸ <sup>k</sup>	۴۴/۴۷ <sup>hi</sup>
۵ ساعت	۶۱/۲۰ <sup>fg</sup>	-/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۱۲ <sup>a</sup>	۵۸/۶۰ <sup>j</sup>	۴۶/۱۶ <sup>fah</sup>
دمای ۴۵ °C					
۳ ساعت	۶۵/۴۶ <sup>e</sup>	-/۳۵ <sup>a</sup>	۱/۰۹ <sup>a</sup>	۶۳/۳۰ <sup>l</sup>	۴۲/۹۶ <sup>j</sup>
۴ ساعت	۷۲/۶۶ <sup>cd</sup>	-/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۱۲ <sup>a</sup>	۵۶ <sup>i</sup>	۴۶/۸۸ <sup>fe</sup>
۵ ساعت	۷۲/۴۶ <sup>cd</sup>	-/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۱۲ <sup>a</sup>	۵۴/۸۱ <sup>hi</sup>	۴۵/۶۱ <sup>gh</sup>
دمای ۵۵ °C					
۳ ساعت	۶۲/۶۳ <sup>efg</sup>	-/۴۰ <sup>a</sup>	۱/۱۰ <sup>a</sup>	۵۸/۵۵ <sup>j</sup>	۴۴/۶۷ <sup>hi</sup>
۴ ساعت	۷۳/۳۰ <sup>c</sup>	-/۴۱ <sup>a</sup>	۱/۱۳ <sup>a</sup>	۵۶/۵۰ <sup>ji</sup>	۴۶/۳۱ <sup>efgh</sup>
۵ ساعت	۷۲/۷۶ <sup>cd</sup>	-/۴۲ <sup>a</sup>	۱/۱۴ <sup>a</sup>	۵۵/۲۰ <sup>hi</sup>	۴۷/۴۳ <sup>efg</sup>
غلظت ۲٪					
دمای ۳۵ °C					
۳ ساعت	۶۴/۶۶ <sup>ef</sup>	-/۳۱ <sup>a</sup>	۱/۱۷ <sup>a</sup>	۵۵/۳۳ <sup>hi</sup>	۴۷/۱۶ <sup>efg</sup>
۴ ساعت	۶۹/۴۳ <sup>d</sup>	-/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۲۱ <sup>a</sup>	۵۳/۵۰ <sup>gh</sup>	۴۸/۵۰ <sup>def</sup>
۵ ساعت	۷۰/۱۶ <sup>cd</sup>	-/۳۵ <sup>a</sup>	۱/۲۲ <sup>a</sup>	۵۲/۲۰ <sup>G</sup>	۴۹/۵۶ <sup>bcd</sup>
دمای ۴۵ °C					
۳ ساعت	۹۰/۳۰ <sup>b</sup>	-/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۱۹ <sup>a</sup>	۴۴/۲۱ <sup>d</sup>	۵۰/۵۰ <sup>bc</sup>
۴ ساعت	۹۶/۳۰ <sup>a</sup>	-/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۲۳ <sup>a</sup>	۳۸/۷۵ <sup>abc</sup>	۵۲/۶۵ <sup>a</sup>
۵ ساعت	۹۶/۵۰ <sup>a</sup>	-/۳۵ <sup>a</sup>	۱/۲۵ <sup>a</sup>	۳۸/۶۶ <sup>ab</sup>	۵۲/۸۲ <sup>a</sup>
دمای ۵۵ °C					
۳ ساعت	۹۰/۲۶ <sup>b</sup>	-/۳۹ <sup>a</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۴۱/۰۵ <sup>c</sup>	۴۸/۷۸ <sup>cde</sup>
۴ ساعت	۹۵/۴۶ <sup>a</sup>	-/۴۱ <sup>a</sup>	۱/۲۴ <sup>a</sup>	۳۸/۵۰ <sup>ab</sup>	۵۱/۲۰ <sup>abc</sup>
۵ ساعت	۹۶/۳۳ <sup>a</sup>	-/۴۳ <sup>a</sup>	۱/۲۶ <sup>a</sup>	۳۹/۱۰ <sup>abc</sup>	۵۱/۵۳ <sup>ab</sup>
غلظت ۳٪					
دمای ۳۵ °C					
۳ ساعت	۶۵/۲۳ <sup>e</sup>	-/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۱۹ <sup>a</sup>	۴۶/۱۰ <sup>de</sup>	۴۸/۲۰ <sup>def</sup>
۴ ساعت	۷۰/۴۰ <sup>cd</sup>	-/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۴۹/۱ <sup>f</sup>	۴۹/۴۳ <sup>bcd</sup>
۵ ساعت	۷۱/۳۰ <sup>cd</sup>	-/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۲۲ <sup>a</sup>	۴۸/۱۱ <sup>fe</sup>	۴۹/۹۶ <sup>bcd</sup>
دمای ۴۵ °C					
۳ ساعت	۹۰/۹۶ <sup>b</sup>	-/۳۵ <sup>a</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۴۴/۱۶	۵۰/۱۵ <sup>bcd</sup>
۴ ساعت	۹۶/۱۳ <sup>a</sup>	-/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۲۵ <sup>a</sup>	۴۰/۶۵ <sup>bc</sup>	۵۲/۵۸ <sup>a</sup>
۵ ساعت	۹۶/۴۰ <sup>a</sup>	-/۳۶ <sup>a</sup>	۱/۲۶ <sup>a</sup>	۴۰/۷۰ <sup>bc</sup>	۵۱/۹۸ <sup>ab</sup>
دمای ۵۵ °C					
۳ ساعت	۹۱/۴۳ <sup>b</sup>	-/۴۰ <sup>a</sup>	۱/۲۲ <sup>a</sup>	۳۸ <sup>ab</sup>	۴۸/۹۸ <sup>cde</sup>
۴ ساعت	۹۵/۶۰ <sup>a</sup>	-/۴۲ <sup>a</sup>	۱/۲۴ <sup>a</sup>	۳۷/۷ <sup>ab</sup>	۵۰/۵۹ <sup>b</sup>
۵ ساعت	۹۶/۳۰ <sup>a</sup>	-/۴۳ <sup>a</sup>	۱/۲۷ <sup>a</sup>	۳۷/۳ <sup>a</sup>	۵۱/۶۸ <sup>ab</sup>

کاربردی دانه‌های روغنی و روغن‌های نباتی ایران، ۲۲ مرداد ۱۳۸۶، تهران، ایران، شماره ۷۵.  
عالم‌زاده، ا. (۱۳۷۷). فرآیندهای آنزیمی. تهران: مؤسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف.  
قدس‌ولی، ع. (۱۳۸۶). افزایش راندمان استخراج روغن از طریق کاربرد آنزیم در صنایع روغن‌کشی. کرج: مؤسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، شماره ۸۶/۶۹۸.  
میرنظامی، ح. (۱۳۷۶). فن آوری و پالایش روغن، نشر علوم کشاورزی، صفحات ۲۴۱-۲۶۰.  
یزدی صمدی، ب.، رضایی، ع. و ولی زاده، م. (۱۳۹۰). طرح‌های آماری در پژوهش‌های کشاورزی، انتشارات دانشگاه تهران صفحات ۲۷۲-۲۹۶.

American Oil Chemist's Society, (AOCS). (1993). Official methods and Recommended Practices of the American oil chemist's Society, 5<sup>th</sup> Ed, Ba 6-84. The American Oil Chemist's Society Champaign.

Association of Official Analytical Chemists, (AOAC). (2005). Official Methods of Analyses, 14 Ed; Association of official Analytical Chemists: Washington, DC, USA.

Deng, Y., Pyle, D. L. & Zhang, W. (1999). Studies on aqueous enzymatic extraction of oil from rapeseed. Journal of Agriculture Engineering, 12 (3), 990-195.

Dominguez, H., Nunez, M. J. & Lema, Y. M. (1994). Enzymatic treatment to enhance oil extraction from fruit and oilseeds: A review. Food Chemistry, 49, 271-286.

Marek, E., Schalinatus, E., Weigelt, E., Meith, G., Kerns, G. & Kude. J. (1990). On the application of enzymes in the production of vegetable oil. Prog. Biotech, 6, 471-476.

Miller-Cebert, R., Sistani, N. & Cebert, E. (2009). Comparative mineral composition among canola cultivars and other cruciferous leafy greens. Journal of Food Composition and Analysis, 22, 112-116.

Moreau, R. A., Johnston, D. B., Powell, M. J. & Hicks, K. (2004). A comparison of commercial enzymes for the aqueous enzymatic extraction of corn oil from corn germ. Journal of the American Oil Chemists society, 81, 1071-1075.

Moreau, R. A. (2002). Corn Oil, in Vegetable Oils in Food Technology, Edited by F.D. Gunstone, Sheffield Academic Press, Sheffield, United Kingdom, pp. 278-296.

یکی دیگر از مزایای استخراج آنزیمی روغن تولید آرد کنجاله پر پروتئین می‌باشد (کنجاله کلزا در روش استخراج با حلال حداکثر دارای ۳۸-۴۰٪ پروتئین می‌باشد) که نتایج حاصله به خوبی این مطلب را نشان می‌دهد. بیشترین مقدار پروتئین در غلظت آنزیمی ۲ و ۳٪ و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۴ و ۵ ساعت با مقدار حداکثر ۵۲/۸۲٪ بدست آمده است. البته لازم به ذکر است آزمون مقایسه میانگین‌ها بین شرایط مذکور با حداکثر مقدار ۵۱/۶۸٪ حاصل از غلظت‌های ۲ و ۳٪ در زمان‌های ۴ و ۵ ساعت و دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به گسترش کشت کلزا بعنوان یکی از منابع غنی روغن در کشور ما توجه به مسائل پس از برداشت و روش‌های فرآوری این محصول ارزشمند از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. لذا نتایج حاصل از این تحقیق جهت بهبود کیفیت روغن و پروتئین کلزا و بکارگیری در صنعت روغن می‌تواند راه‌گشا باشد. بنابراین در نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت در استخراج آنزیمی، پراکسید و اسیدیته روغن و ترکیبات آن تحت تأثیر تیمار آنزیمی قرار نمی‌گیرد و پروتئین نیز در سطح بالایی قرار می‌گیرد. استراتژی مناسب برای استفاده از فرآیند آنزیمی اساساً به دانه مورد استفاده در فرآیند و نیز فرآیند استخراجی که بازیافت روغن را تحت تأثیر قرار می‌دهد، بستگی دارد. با توجه به نتایج حاصله از راندمان و خصوصیات روغن، همچنین صرفه اقتصادی و زمانی در عوامل تولید، می‌توان غلظت آنزیمی ۲٪، دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و زمان واکنش ۴ ساعت را بعنوان شرایط مناسب استخراج آنزیمی روغن کلزا پیشنهاد کرد. نتایج این تحقیق زمینه را برای اجرای پروژه‌های تحقیقاتی مکمل که می‌تواند در ادامه‌ی این تحقیق به مرحله اجرا درآید، فراهم می‌آورد.

### منابع

رادفر، ر. (۱۳۸۶). بررسی سیاست‌های حمایتی اعمال شده از سوی کشورهای منتخب برای توسعه بخش دانه‌های روغنی و روغن خوراکی. دومین سمینار علمی-

Najafian, L., Ghodsvali, A., Haddad khodaparast, M. H. & Diosady, L. L. (2009). Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. *Food Research International*, 42, 171-175.

Ohlson, R. (1995). Modern processing of rapeseed. *Journal of the American Oil Chemists society*, 69(3), 995 –997.

Pereira, S., Hartman, L. & Couri, S. (2002). The combined application of extraction and enzymatic for soybean oil. *Fett. Lipid*, 99 (9), 333 – 337.

Passos, C. P., Yilmaz, S., Silva, C. M. & Coimbra, A. C. (2009). Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food chemistry*, 115, 48-53.

Ranalli, A. & De Mattia, G. (1997). Characterization of olive oil produced with a

new enzyme processing aid. *Journal of the American Oil Chemists society*, 74(9), 1105-1112.

Shahidi, F. (1990). Canola and rapeseed production, chemistry, Nutrition and processing Technology. Van Nostrand Reinhold New York, pp. 175-350.

Shanta, N. C. & Rekce, D. E. A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of the American Oil Chemists society*, 77, 21–424.

Zhang, B., Zhang, W. & Xu, S. (2007). Optimization of enzymatic extraction of rapeseed protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists society*, 84, 97-105.