

تأثیر روش های استخراج بر ویژگی های عملکردی ایزوله پروتئین نخود

فرناز بخشی مقدم^۱، الناز میلانی^{۲*}، سید علی مرتضوی^۳، سید محمد مشکانی^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه صنایع غذایی، سبزوار، ایران

۲- استادیار پژوهش گروه فرآوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۲۳)

چکیده

پروتئین نخود (*Cicer arietinum L.*) به دلیل دارا بودن اجزای عملگر و خواص بیولوژیک مطلوب نسبت به سایر پروتئین در سال های اخیر توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. در این پژوهش تأثیر دو روش استخراج اسیدی و قلیایی بر ویژگی های عملکردی ایزوله پروتئین تولیدی از دانه های نخود کابلی بررسی شد. استخراج پروتئین در pH ۲/۵ و ۹/۵ و به دنبال آن ترسیب در نقطه ایزوالکتریک معادل pH ۴/۵ انجام شد. خواص عملکردی ایزوله پروتئین نخود کابلی تولید شده تحت شرایط مذکور شامل ظرفیت جذب آب و چربی، ظرفیت کف و دوام آن، ظرفیت امولسیون و ثبات و پایداری امولسیون تولیدی مورد بررسی قرار گرفت. کلیه آزمون ها در سه تکرار انجام شد و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام پذیرفت. نتایج نشان داد؛ ایزوله حاصل از روش اسیدی خصوصیات امولسیون کنندگی (ظرفیت امولسیون ۸۷/۷۷٪ و پایداری ۸۷/۹۲٪) و ویژگی های کف کنندگی (ظرفیت تولید کف ۴۱/۴۲٪ و دوام ۵۷/۱۶٪) بالاتری نسبت به روش قلیایی دارا بوده است. در حالیکه روش قلیایی باعث تقویت ظرفیت جذب آب (۱/۵۲g/g) و روغن (۱/۶۸ g/g) گردید. با توجه به خصوصیات عملکردی مطلوب ایزوله های پروتئینی نخود، می توان از این منبع مفید در فرآورده های غذایی برای جایگزینی سایر منابع پروتئینی بهره برد.

کلید واژه گان: ایزوله پروتئین، ویژگی های عملکردی، نخود

۱- مقدمه

نخود Chickpea با نام علمی (*Cicer arietinum L.*) گیاهی است یکساله که بلندی بوته آن به حدود ۳۰ سانتی متر می رسد. پروتئین های اصلی بنیادی درحبوبات گلوبولین ها و آلبومین ها هستند؛ دو نوع اصلی نخود، کابلی و دسی می باشند. واریته های کابلی، بزرگ، کرم رنگ و دارای پوشش دانه نازک هستند درحالیکه واریته دسی کوچکتر، تیره تر، با پوشش دانه ضخیم تر و محتوای پروتئینی بالاتری نسبت به کابلی است [۱]. علاوه بر خصوصیات تغذیه ای، پروتئین بقولات به عنوان عملگر نقش مهمی در فرمولاسیون فرآورده های غذایی دارند. برخی از خصوصیات عملکردی شامل حلالیت، ظرفیت اتصال آب، ظرفیت جذب چربی، خاصیت امولسیفایری و تولید کف می باشد. استخراج قلیایی و ترسیب پروتئین ها در نقطه ایزوالکتریک متداول ترین راه برای آماده سازی ایزوله های پروتئینی در صنعت غذا است [۲]. خواص عملکردی یک معیار بزرگ برای پذیرش پروتئین در فرآورده های غذایی به شمار می رود و به ویژگی های فیزیکی شیمیایی و ساختاری پروتئین ها وابسته است. این ویژگی ها بر بافت غذا و خواص حسی آن مؤثر بوده و به عنوان یک عامل ضروری در تولید شیرینی ها، نوشیدنی ها، چاشنی ها، محصولات گوشتی، محصولات اکستروود شده و اسنک های آماده مطرح می باشد [۳]. انتخاب شرایط و تکنولوژی مناسب برای استخراج پروتئین می تواند در کارایی و ویژگی های تغذیه ای فرآورده نهایی مؤثر باشد. مطالعات گوناگون نشان می دهد که برخی از خصوصیات عملکردی پروتئین نظیر پروتئین سویا میتواند قابل مقایسه با پروتئین های آب پنیر باشد [۴]. برخی از محققین ویژگی های عملکردی و ترکیبات ایزوله های پروتئینی دانه های نخود در ارتباط با امکان استفاده ایزوله ها در صنعت غذا را بررسی کردند [۳]. گزارش شده که ایزوله ها با قابلیت جذب آب و چربی بالا برای تهیه پنیر، فرآورده های گوشتی و نانویی مناسب بوده در حالی که ایزوله ها با ظرفیت امولسیون خوب برای محصولاتی از قبیل فرانکفورتر یا خامه مناسب هستند [۳]. در این پژوهش تلاش شده است که با بررسی خصوصیات عملکردی و تغذیه ای ایزوله پروتئین نخود امکان استفاده از این

منبع مفید به عنوان جایگزین منابع پروتئین حیوانی در فرمولاسیون فرآورده های غذایی رافراهم آید.

۲- مواد و روش ها

ماده ی اولیه شامل نخود واریته فیلیپ تهیه شده از شرکت خدمات حمایتی کشاورزی اردبیل بود. سایر مواد شیمیایی شامل هیدروکسید سدیم، اسید کلریدریک ۳۷٪، اسید سولفوریک ۹۶٪، هگزان نرمال، سولفات مس، سولفات پتاسیم، اسید بوریک از شرکت مرک آلمان، برموفنل بلو، اتانول ۹۶٪، برموکروزول گرین از شرکت سیگما و روغن ذرت از شرکت سی تو پک کیش، بود. تجهیزات نیز شامل؛ آسیاب صنعتی توس شکن (ایران)، pH متر (JENWA 3020)، همزن مغناطیسی (Heidolph)، خشک کن انجمادی (CHRIST MARTIN)، ترازوی دیجیتال ۱۰^{-۴} و ۱۰^{-۳}، سانتریفوژ Herolab، هیتر Sanijders، هموژنایزر التراتوراکس (T25 basic)، شیکر، دستگاه سنجش پروتئین کجالدال مدل Gerhardt و کاغذ صافی واتمن ۴۰ همگی ساخت کشور آلمان بود.

۲-۱- تهیه ایزوله پروتئین

ایزوله پروتئینی نخود بر اساس روش بویی و همکاران (۲۰۱۰) و کائور و سینگ (۲۰۰۷) همراه با اصلاحات تهیه گردید [۵].

۲-۱-۱- آماده سازی آرد نخود

برای تهیه ایزوله پروتئین نخود، ابتدا نخود آسیاب گردید، سپس برای یکنواختی ابعاد از مش ۶۰ عبور داده شدند. آرد حاصله جهت حذف چربی به نسبت ۱ به ۵ وزنی-حجمی با هگزان نرمال مخلوط گردید و برای ۱ ساعت در دمای آزمایشگاه و به کمک همزن مغناطیسی، چربی گیری شد. سپس این مخلوط برای ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ با دور ۸۰۰۰g

که در این رابطه ضریب پروتئین ۶/۲۵ و نرمالیت اسید کلریدریک مصرفی ۰/۱ مول بر لیتر می باشد.

۲-۲- ظرفیت جذب چربی

ظرفیت جذب چربی عبارت است از مقدار گرم روغن که توسط یک گرم پروتئین جذب شود. یک گرم نمونه پروتئین با ۱۰ میلی لیتر روغن ذرت (دانسیته ۰/۹۲ در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد) در یک لوله سانتریفوژ از قبل توزین شده به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد. پس از سانتریفوژ کردن در ۲۰۰۰ xg در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد برای ۱۵ دقیقه، بخش مایع فوقانی دور ریخته شد و لوله ها به مدت چند دقیقه روی کاغذ صافی واژگون نگه داشته شدند و سپس لوله مجدد توزین گردید [۷].

۲-۳- ظرفیت جذب آب

اگرم نمونه در مبنای خشک در لوله سانتریفوژ از پیش توزین شده اضافه شد، سپس ۲۰ میلی لیتر آب مقطر به آن افزوده شد و برای ۱۰ دقیقه به سرعت هم زده شد. سپس مخلوط حاصل در ۲۰۰۰ برای ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتریفوژ کردید. مایع رویی حاصل از سانتریفوژ دور ریخته شد و سپس برای اطمینان از تخلیه کامل آب لوله ها به مدت چند دقیقه روی کاغذ صافی واژگون نگه داشته شدند. پس از توزین مجدد لوله، میزان ظرفیت نگه داری آب محاسبه شد [۷].

۲-۴- ویژگی های کف

کف در واقع حباب های گازی می باشد که با لایه نازکی از مایع حاوی پروتئین احاطه شده است [۸]. بر این اساس، یک گرم ایزوله پروتئین با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۳ دقیقه در دمای محیط توسط هموژنایزر التراتوراکس با سرعت ۱۹۰۰۰ دور بر دقیقه مخلوط شد و در پایان کار سریع به مزور ۲۵۰ میلی لیتر انتقال یافت. حجم کف تولید شده بعد از ۳۰ دقیقه به عنوان ظرفیت کف (FC^۱) ثبت شد. و ثبات کف (FS)^۲ با کنترل حجم کف با گذشت زمان ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۱۲۰ دقیقه نگه داری، تعیین شد [۹].

ودمای ۴°C جهت جداسازی آرد از هگزان قرار داده شد [۵و۴].

۲-۱-۲- استخراج پروتئین نخود

ورود پروتئین ها به فاز محلول با روش اسیدی (ایزوله A) و قلیایی (ایزوله B) انجام گردید. به طور متداول برای استخراج پروتئین از نسبت های ۱۵-۱۰ قسمت آب به یک قسمت آرد نخود استفاده می شود [۶و۴]. آرد نخود چربی گیری شده به نسبت ۱۵:۱ با آب مقطر به خوبی مخلوط شد سپس برای ایزوله B، pH توسط سود یک نرمال تا ۹/۵ و برای ایزوله A توسط اسید کلریدریک یک نرمال تا ۲/۵ تنظیم گردید، مخلوط حاصل برای ۴۰ دقیقه به کمک همزن مغناطیسی با دور ۱۴۰۰ دور بر دقیقه هم زده شد. پس از گذشت زمان استخراج برای ۳۰ دقیقه در ۷۰۰۰ g سانتریفوژ شد. لازم به ذکر است؛ به دلیل بالاتر بودن راندمان استخراج پروتئین در pH های اسیدی و قلیایی، استخراج پروتئین در pH ۲/۵ و ۹/۵ پی گیری شد [۷].

۲-۱-۳- ترسیب ایزوالکتریک

برای ترسیب پروتئین، pH محلول حاصل از سانتریفوژ، به کمک اسید کلریدریک و سود یک نرمال در ۴/۵ (نقطه ایزوالکتریک) تنظیم شد و در ۷۰۰۰ g برای مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید، سپس محلول شفاف رویی دور ریخته شد. برای داشتن خلوص بالاتر پروتئین بازیابی شده به کمک سانتریفوژ در دور ۵۰۰۰ g برای ۵ دقیقه طی دو مرحله شستشو داده شد، سپس پروتئین نهایی توسط خشک کن انجمادی به صورت پودر خشک گردید و تا زمان استفاده در دمای ۲ درجه سانتیگراد نگهداری شد و در مرحله بعد برای تعیین خلوص پروتئین از دستگاه کلجدال استفاده گردید [۱۲]. (رابطه ۱)

وزن نمونه ۱/۴۰۱ x نرمالیت اسید x حجم مصرفی اسید = درصد ازت

ضریب پروتئین x درصد ازت = درصد پروتئین

1. Foam capacity
2. Foam stability

شد. برای انجام آنالیز واریانس از نرم افزار SAS ver 9.01 و رسم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۰۷ استفاده گردید [۱۱].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تولید ایزوله پروتئینی از نخود کابلی و

تعیین راندمان و خلوص آن

کیفیت پروتئین نخود معادل پروتئین سویا است [۱۱]. با این وجود دانه های نخود حاوی چندین فاکتور ضد تغذیه ای هستند که قابلیت استفاده آنها را در محصولات غذایی کاهش می دهند. این مشکل با ایزوله کردن پروتئین نخود می تواند کاهش یابد [۱۱]. فرآیند تولید ایزوله شامل استخراج آبی پروتئین های محلول از آرد یا بلغور، جدا کردن بقایای نا محلول از فاز آبی، رسوب پروتئین در نقطه ایزوالکتریک (تشکیل لخته پروتئینی)، جدا کردن لخته پروتئینی از فاز آبی، شستشو و خشک کردن می باشد [۶]. ویژگی های فیزیکوشیمیایی ایزوله A تولیدی به روش اسیدی $pH=2/5$ و ایزوله B تولیدی به روش قلیایی $pH=9/5$ تحت شرایط نسبت آب به ماده جامد ۱:۱۵، زمان استخراج ۴۰ دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، در جدول ۱ قابل مشاهده است. نتایج استخراج قلیایی، با مشاهدات سایر محققین برای نخود [۱۳، ۱۲، ۱۱، ۳، ۵، ۱۴] و عدس [۱۵]، کنسانتره پروتئین سویا [۱۶]، ایزوله پروتئین سویا [۱۷] مطابقت داشت. همچنین آلی و همکاران (۱۹۹۳) با روش اسیدی ($pH=4$) اقدام به تولید ایزوله پروتئین لوبیا با خلوص ۹۵ درصد نمودند [۱۸].

جدول ۱ خصوصیات فیزیکوشیمیایی ایزوله پروتئین نخود

| نوع ایزوله | ٪ خلوص | ٪ زلالمان | ٪ خاکستر | ٪ چربی | وزن توده مترام g/ml | وزن توده نلترام g/ml |
|------------|--------|-----------|----------|--------|-----------------------|------------------------|
| A | ۹۱/۱۹ | ۱۰ | ۱/۱ | ۰/۹۹ | ۰/۶۰۸ | ۰/۴۸ |
| B | ۸۹ | ۱۴/۸۵ | ۰/۸۹ | ۰/۴۷ | ۰/۶۷۸ | ۰/۵۲۲ |

۳-۲ ظرفیت جذب چربی

مکانیسم جذب روغن شامل اتصالات فیزیکی روغن با اجزاء پروتئینی و تمایل و میل ترکیبی زنجیره پروتئین های غیر قطبی برای اتصال با چربی می باشد [۱۹]. اتصال چربی در واقع توانایی پروتئین ها برای جذب و حفظ آب و چربی می باشد که این دو

۲-۵- تشکیل امولسیون

امولسیون یک سیستم دو فازی است که از دو مایع مخلوط نشدنی که یکی از آنها به صورت قطرات مایع در فاز دیگر پراکنده شده است. تشکیل، ظرفیت و مقاومت امولسیون در برابر حرارت با استفاده از روش پاپالامپور و همکاران (۲۰۰۹) همراه با کمی تغییرات ارزیابی گردید [۱۰]. برای تهیه امولسیون، ۰/۹ گرم ایزوله نخود با ۹۰ گرم آب مخلوط شد تا محلول شفاف ۱٪ بدست آید و قسمت اعظم ایزوله در آب حل شده باشد. امولسیون روغن در آب ($V/V=10/90$) (O/W) با افزودن ۱۰ میلی لیتر روغن به ۹۰ میلی لیتر محلول ایزوله ۱٪ با $pH=7$ در حالیکه نمونه توسط همزن مکانیکی در حال همزدن بود، تهیه شد و امولسیون اولیه بعد از ۱۰ دقیقه مخلوط شدن با استفاده از هموژنایزر التراتوراکس با سرعت ۱۱۰۰۰ دور بر دقیقه تحت دمای اتاق به مدت یک دقیقه هموژن گردید.

۲-۵-۱ ظرفیت امولسیون کنندگی

امولسیون ها بلافاصله بعد از هموژن شدن در ۱۱۰۰g برای ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. ظرفیت امولسیون کنندگی^۱ (EC) از تقسیم حجم امولسیون به حجم کل بدست می آید [۱۰].

۲-۵-۲ ثبات امولسیون

امولسیون تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرارگرفت و سپس با دور ۱۱۰۰g به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق، سانتریفوژ شد. ثبات امولسیون (ES)^۲ از تقسیم حجم نهایی امولسیون به حجم اولیه بدست آمد [۱۰].

۲-۷- آنالیز آماری

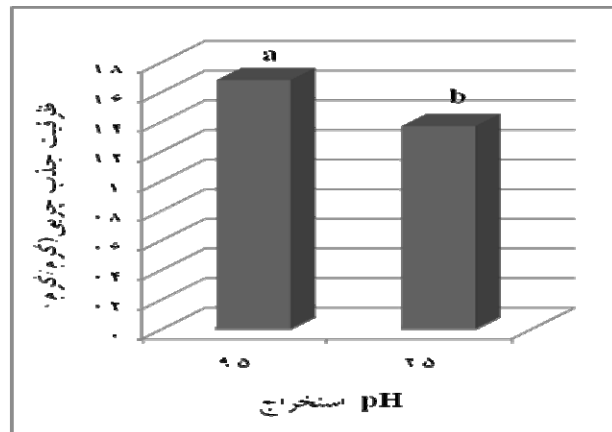
تجزیه و تحلیل نتایج در رابطه با ایزوله پروتئین نخود دو فاکتوره کاملاً تصادفی و در سه تکرار و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام

1. Emulsion capacity
2. Emulsion stability

۳-۳ - ظرفیت جذب آب

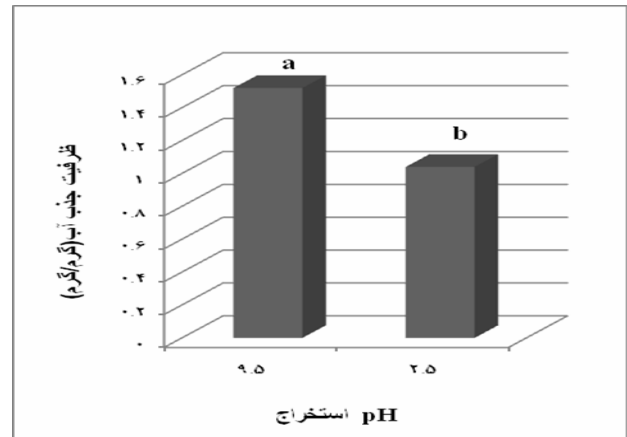
جذب آب را باید مهمترین خصوصیت فیزیکی پروتئین ها دانست. این پدیده نه تنها بر ساختمان فیزیکی و خصوصیات ماده غذایی حاوی پروتئین (نظیر خشک شدن) به شدت اثر می گذارد، بلکه از نقطه نظر فساد ماده غذایی نیز، به دلیل تأثیری که بر میزان فعالیت آب دارد بسیار حائز اهمیت است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد؛ نوع روش بکار گرفته شده جهت استخراج ایزوله پروتئین نخود اثر معنی داری بر ظرفیت جذب آب ایزوله پروتئینی داشت ($p < 0.05$)، به طوری که ایزوله تهیه شده به روش قلیایی ($pH=9.5$) نسبت به روش تهیه اسیدی ظرفیت جذب آب بالاتری داشت (شکل ۲) پدیده اخیر بیانگر این امر بود که دنا تورا سیون ایجاد شده در روش قلیایی و خروج بیشتر چربی نسبت به روش اسیدی به افزایش ظرفیت جذب آب کمک کرده است [۱۶]، همچنین یکی دیگر از دلایل بالاتر بودن ظرفیت جذب آب ایزوله تولیدی به روش قلیایی می تواند ناشی از کمتر بودن خلوص پروتئینی این ایزوله نسبت به ایزوله تولید شده به روش اسیدی باشد. نتایج سایر محققین در بررسی ظرفیت جذب آب ایزوله پروتئین نخود تولیدی با روش قلیایی، شامل موارد زیر می باشد؛ ظرفیت جذب آب ایزوله پروتئین نخود های کابلی (L-550) و (L-551) به ترتیب معادل $2.1(g/g)$ و $2.7(g/g)$ بود [۳] و [۲۱]. ووس و همکاران (۱۹۸۰)؛ نیز ظرفیت جذب آب ایزوله پروتئین نخود فرنگی که با روش اسیدی بدست آمده بود را $2.7(g/g)$ گزارش نمود [۲۴]. ظرفیت جذب آب ایزوله هایی که در این پژوهش با دو روش (قلیایی و اسیدی) تهیه شده بودند، کمتر از نتایج محققین نام برده در بالا بود؛ دلیل این پدیده می تواند ناشی از اختلاف وارسته های نخود و تفاوت در محتوای مواد غیر پروتئینی ایزوله های ایزوالکتریک باشد [۵]. بر اساس نتایج بویی و همکاران (۲۰۱۰) نوع وارسته بر ظرفیت جذب آب پروتئین تأثیر بیشتری از نوع روش استفاده شده برای تهیه آن دارد [۳].

عامل از عوامل مؤثر در کیفیت بافت و ساختار ماده غذایی و مزه و طعم غذا ها می باشد و در غذا هایی نظیر محصولات گوشتی، خمیر شیرینی ها، سوپ ها به عنوان یک فاکتور با اهمیت محسوب می شود [۲۰]. نتایج پژوهش، اختلاف معنی داری را در سطح ۹۵ درصد بین دو روش اسیدی و قلیایی تهیه ایزوله به لحاظ جذب چربی نشان داد (شکل ۱). ایزوله تولید شده به روش قلیایی ظرفیت جذب چربی بالاتری داشت که احتمالاً ناشی از خروج بیشتر چربی و تغییرات ناشی از دنا تورا سیون در روش قلیایی بود [۱۶]. چندین محقق مطالعاتی در رابطه با ظرفیت جذب چربی ایزوله پروتئین نخود که با روش قلیایی تولید شده بودند، انجام داده بودند که نتایج آنها به این شرح است؛ بویی و همکاران (۲۰۱۰) ظرفیت جذب چربی ایزوله پروتئین نخود کابلی (L-550) را $1.2(g/g)$ ، سینگ و همکاران (۲۰۰۸) نخود کابلی (L-551) $5.65(g/g)$ کاتور و همکاران (۲۰۰۷) $3.96(g/g)$ لویز و همکاران (۱۹۹۱) $1.7(g/g)$ گزارش کردند [۳، ۲۱ و ۲۲]. ظرفیت جذب چربی ایزوله پروتئینی نخود حاصل از دو روش قلیایی و اسیدی در این پژوهش به ترتیب $1.68(g/g)$ و $1.38(g/g)$ بود.



شکل ۱ ظرفیت جذب چربی ایزوله های پروتئینی تولید شده با دو روش استخراج اسیدی و قلیایی تفاوت آنها با موارد گزارش شده ممکن است به علت حضور متفاوت زنجیره های غیر قطبی که با زنجیره های هیدرو کربنی چربی متصل می شوند، مربوط باشد [۲۴].

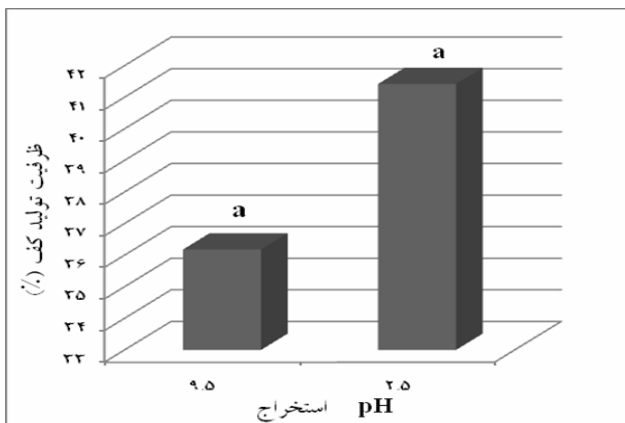
باعث کاهش در ظرفیت تولید کف و پایداری آن نسبت به کنسانتره تولید شده به روش اسیدی می گردد مطابقت داشت. نتایج مطالعات مختلف، که به بررسی ویژگی های کف ایزوله پروتئین نخود تولیدی با روش قلیایی پرداخته اند، شامل موارد زیر می باشد؛ کاور و سینگ (۲۰۰۷)، ظرفیت تولید کف ایزوله پروتئین نخود کابلی را ۴۴٪-۴۱٪ گزارش نمودند [۵]؛ همچنین ظرفیت کف ایزوله پروتئین نخود کابلی و پایداری آن به ترتیب ۴۷/۵٪ و ۶۶/۶٪ گزارش شد [۲۳]، که تقریباً مشابه نتایج این پژوهش می باشد. اختلاف در نتایج مطالعات گوناگون می تواند مربوط به اختلاف در خلوص پروتئین نمونه های مطالعه شده و همچنین شرایط خاص استفاده شده جهت بررسی تولید کف باشد [۳].



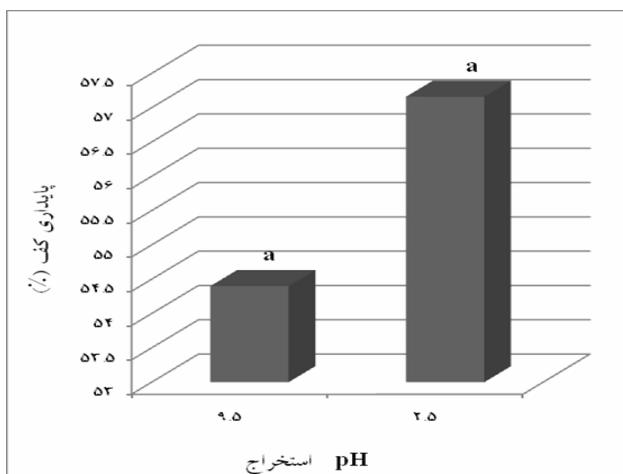
شکل ۲ ظرفیت جذب آب ایزوله های تهیه شده با دو روش استخراج اسیدی و قلیایی.

۳-۴ خصوصیات کف کنندگی

در محصولات غذایی پروتئین ها به عنوان مهمترین عوامل فعال سطحی محسوب می شوند که برای ثبات فاز گازی پخش شده، مورد نیاز است. در فرآیند تشکیل کف، مولکول های آب اطراف ذرات هوا (که فاز غیر قطبی است) را احاطه کرده، پروتئین ها نیز در سطح مشترک آب-هوا با ایجاد فیلمی چسبنده و مقاوم به تنش های داخل مولکولی و خارج مولکولی موجب پایداری کف تولیدی می شوند [۲۶]. تشکیل کف در مواد غذایی مانند نوشابه، خامه فنادی، کیک ها بسیار با اهمیت است [۳]. توانایی تولید کف به انعطاف پذیری پروتئینی که باعث کاهش کشش سطحی می شود وابسته است. کف پروتئین ها در اثر ویژگی های فعال سطحی حین هم زدن تولید می شود [۵]. نتایج تجزیه تحلیل نشان داد که روش تهیه ایزوله پروتئین بر خصوصیات کف کنندگی پروتئین تأثیر معناداری نداشت ($p < 0.05$). ایزوله تهیه شده به روش اسیدی به دلیل خلوص بالاتر نسبت به ایزوله قلیایی دارای حلالیت بیشتری بود، و از آنجایی که پروتئین ها برای ایجاد کف بایستی در فاز مایع محلول بوده تا در سطح مشترک آب و گاز تجمع یابند [۲۷]، ایزوله تهیه شده به روش اسیدی دارای ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف بیشتری بود (شکل ۳ و شکل ۴). افزایش در حلالیت پروتئین سبب نفوذ سریعتر آن به فواصل بین هوا و آب شده و تولید کف را بهبود می دهد [۲۱]. نتایج این تحقیق با نتایج رواقی (۱۳۸۹) که اظهار داشت؛ روش قلیایی به دلیل دناتوره شدن پروتئین ها و کاهش حلالیت



شکل ۳ ظرفیت تولید کف ایزوله های تولید شده به روش اسیدی و قلیایی



شکل ۴ پایداری کف ایزوله های تولید شده به روش اسیدی و قلیایی

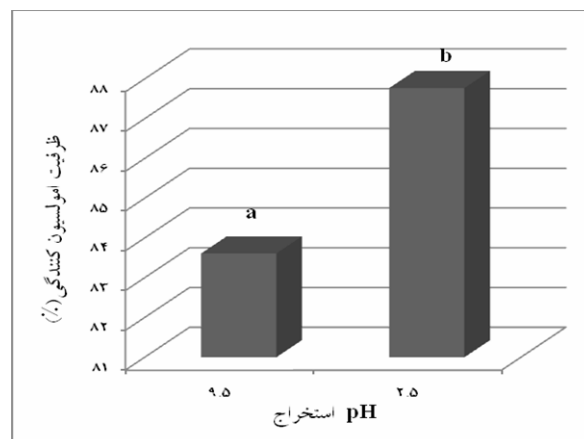
۳-۵- خصوصیات امولسیون کنندگی

پروتئین ها از آمینواسیدهای باردار، آمینو اسیدهای قطبی بدون بار و آمینو اسید های غیر قطبی تشکیل شده اند که این عوامل باعث شده اند پروتئین به عنوان امولسیفایر محسوب شود [۲۶]. داشتن هر دو خصوصیت آبدوستی و آبگریزی پروتئین را قادر ساخته بتواند به اتصال آب و روغن در سیستم غذایی متصل شود [۲۶]. حضور سورفاکتانت ها و ویژگی های فیزیکی شیمیایی آنها، تشکیل و ثبات امولسیون را تعیین می کنند. ظرفیت امولسیون کنندگی با افزودن پیوسته روغن به سوسپانسیون رقیق پروتئینی اندازه گیری می شود و نتایج به صورت حجم روغن امولسیفیه شده به ازای واحد وزنی پروتئین بیان می گردد [۲۸]. در حالیکه پایداری امولسیون مربوط به مقاومت آن در برابر تغییرات ساختاری (از قبیل؛ انعقاد، خامه ای شدن، لخته شدن و ترسیب) و تغییراتی که با گذشت زمان روی می دهد، می باشد [۲۹]. نتایج آنالیز واریانس نشان داد نوع روش تهیه ایزوله پروتئین دارای اثر معنی داری بر خصوصیات امولسیون کنندگی در سطح اطمینان ۹۵ درصد بود (شکل ۵ و شکل ۶). بکارگیری روش اسیدی ایزوله هایی با ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری بیشتر نسبت به روش قلیایی تولید نمود، که از دلایل این امر، می توان به تأثیرات نامطلوب دناتوراسیون قلیایی [۱۶] و حلالیت بالاتر ایزوله های تولید شده به روش اسیدی اشاره کرد. حلالیت در تشکیل امولسیون نقش مهمی را ایفا می کند، پروتئین هایی که حلالیت کمتری دارند امولسیفایر های خوبی نیستند و باعث لخته شدن امولسیون می شوند [۳۰]. افزایش حلالیت پروتئین باعث نفوذ سریعتر پروتئین به داخل اتصالات آب-روغن می شود و باعث فعالیت امولسیون کنندگی پروتئین ها می شود [۲۱]. دناتوراسیون پروتئین ها قبل از امولسیون کردن به طوری که منجر به نامحلول شدن نشود به علت افزایش قابلیت انعطاف مولکولی و هیدروفوبیسیته سطحی، معمولاً باعث بهبود خصوصیات امولسیون کنندگی می شود [۳۱-۳۳]. در این پژوهش پایداری امولسیون ایزوله ای که به روش اسیدی تهیه شده بالاتر از پایداری امولسیون ایزوله تولید شده به روش قلیایی بود ($p < 0.05$)، از آنجا که تغییرات حین فرآیند می تواند منجر به

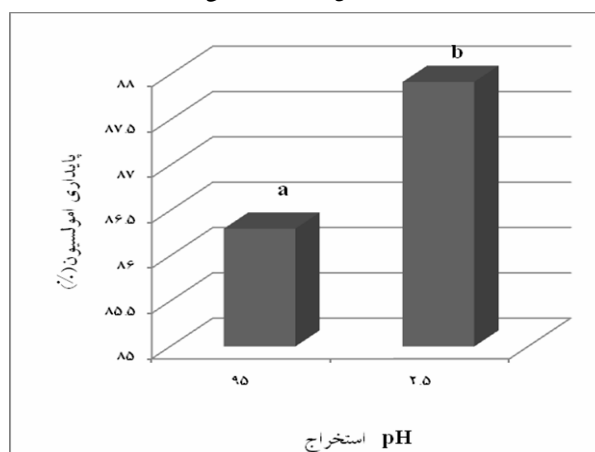
تغییر نسبت گروههای هیدروفیل و هیدروفوب سطحی گردد فرآیند اسیدی اثری مثبت بر پایداری امولسیون داشته است، پایداری امولسیون بیشتر تابع نسبت گروههای هیدروفوب و هیدروفیل است؛ این پایداری توسط روش اسیدی بهبود بخشیده شده است [۱۶]. تفاوت در محتوی پروتئینی و تغییری که در ساختار مولکول در حین فرایند (در اثر pH، دما، قدرت یونی، هیدرولیز و غیره) اتفاق می افتد می تواند تفاوت در ویژگی های امولسیون را توضیح دهد [۳]. ظرفیت و پایداری امولسیون پروتئین نخود بدست آمده به روش قلیایی توسط چندین محقق مورد ارزیابی واقع شد، که نتایج آنها به این شرح است؛ سینگ و همکاران (۲۰۰۸) خصوصیات امولسیون کنندگی کنسانتره های پروتئینی نخود در محلول هایی با pH های ۴/۵ و ۷ در حضور یا غیاب شکر و نمک مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند؛ کنسانتره های پروتئینی نخود قادر به تولید امولسیون هایی با ثبات در غذاهای حاوی نمک و شکر می باشند [۲۱]، ظرفیت امولسیون کنندگی ۶۳/۷٪ برای ایزوله پروتئین نخودی که حاوی ۸۴/۸٪ پروتئین بود توسط پردس-لوپز (۱۹۹۱) گزارش شد [۲۱]. ژانگ و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت امولسیون کنندگی برای ایزوله پروتئین نخود در $pH = 7$ را معادل $2/253 \text{ m}^2/\text{g}$ گزارش نمودند [۱۳]. بویی و همکاران (۲۰۱۰) خصوصیات امولسیون کنندگی نخود، عدس، نخود فرنگی را باهم مقایسه کردند؛ بر اساس نتایج آنها، بالاترین فعالیت امولسیون کنندگی را پروتئین نخود های کابلی و دسی از خود نشان دادند [۳]. مقایسه ظرفیت امولسیون کنندگی بین مطالعات مختلف به دلیل اثرات چشمگیر تغییرات اندک شرایط آزمایشگاهی بر ظرفیت امولسیون کنندگی دشوار است [۲۸]. ظرفیت و ثبات بالای امولسیونی پروتئین برای استفاده از آن فراورده های غذایی نظیر؛ کیک، قهوه، سس، بسیار با اهمیت می باشد [۳۴]. با توجه به ظرفیت و ثبات امولسیونی بالای ایزوله پروتئین نخود که در این پژوهش بدست آمد، می توان از نخود در فرمولاسیون فراورده های غذایی استفاده نمود.

۵- منابع

- [1] Dhawan, K., Malhotra, S., Dahiya, B. S., & Singh, D. 1991. Seed protein fractions and amino acid composition in gram (*Cicer arietinum*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 41: 225–232.
- [2] Han, Z., & Hamaker, B. R. 2002. Partial leaching of granule-associated proteins from rice starch during alkaline extraction and subsequent gelatinization. *Starch–Starke*, 54(10), 454–460.
- [3] Boye, J.I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., Rajamohamed, S.H. 2010. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *J. Food Research International*. 43: 537–546
- [4] Boye, J. Zare, F. Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *J. Food Research International* 43: 414–431
- [5] Kaur, M., & Singh, N. 2007. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chemistry*. 102: 366–372.
- [6] Farhoosh, R. 1995. Soy Protein Assessment of Producibility. MS.c Thesis. Department of Food Science and Technology School of Agriculture Tarbiat M odarres University.
- [7] AACC (2000). American association of cereal chemists. Approved method 56-30 (10th ed.). St. Paul, MN, USA.
- [8] Kshun, L. 1997. Soy beans. Chapman and Hall, UK. 380-438
- [9] Lin, M. J. Y., Humbert, E. S., & Sosulski, F. W. 1974. Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science*. 39: 368–370.
- [10] Papalamprou, E.M., Doxastakis, G. I., and Kiosseoglou, V. 2009. Chickpea protein isolates obtained by wet extraction as emulsifying agent. *Journal Sci Food Agric* 90: 304–313.
- [11] Friedman, M. 1996. Nutritional value of proteins from different food sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 6-29.
- [12] Sanchez-Vioque, R., Climente, A., Vioque, J., Bautista, J., & Millan, F. 1999. Protein



شکل ۵ ظرفیت امولسیون کنندگی ایزوله پروتئین نخود بدست آمده با دو روش اسیدی و قلیایی



شکل ۶ پایداری و ثبات امولسیون ایزوله پروتئین نخود در برابر حرارت

۴- نتیجه گیری

فرآیند استخراج اسیدی در مقایسه با روش قلیایی، با خروج بهتر کربوهیدرات ها، میزان حلالیت و خلوص پروتئین را افزایش داد. از مزایای روش اسیدی به تولید محصولی نسبتاً محلول و از معایب آن به بازده کمتر این روش نسبت به روش قلیایی می توان اشاره کرد. در روش قلیایی ظرفیت جذب چربی ایزوله به علت خروج بیشتر چربی و تغییرات ناشی از دناتوراسیون نسبت به روش اسیدی، بالاتر بود در حالیکه در روش اسیدی ایزوله ها به دلیل انحلال پذیری بالاتر نسبت به روش قلیایی ویژگی های کف کنندگی و امولسیون پذیری بهتری از خود نشان دادند. بطور کلی با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که هر دو ایزوله خواص عملکردی مناسب و مطلوبی جهت استفاده در فرآورده های غذایی برای جایگزینی با دیگر منابع پروتئینی دارا هستند.

- (*Cajanus cajan* L.) cultivars. *J. Food Chemistry* 104: 259–267
- [23] Paredes-Lopez, O., Ordorica-Falomir, C., & Olivares-Vazquez, M. R. 1991. Chickpea protein isolates: physicochemical, functional and nutritional characterization. *Journal of Food Science*, 56(3), 726–729
- [24] Sathe, S. K., Deshpande, S. S., & Salunkhe, D. K. 1982. Functional properties of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* L. DC) proteins. *Journal of Food Science* 47: 503–509.
- [25] Vose, J. R. 1980. Production and functionality of starches and protein isolates from legume seeds Field peas (*Pisum sativum* cultivar trapper) and Horse beans (*Vicia Faba-equina* cultivar Diana). *Cereal Chemistry* 57:406–410
- [26] Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I. 2007. Peanut proteins concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Journal of Food Chemistry* 103: 121–129.
- [27] Philips, R.D., and Finely, J.W. 1989. Protein quality and the effects of processing, Marcel Dekker Incorporation, USA.
- [28] Liu, k., and Limbert, W.F. 2004. Soy flour: varieties, processing, properties, and application. In: Liu, K., soy bean as functional foods and ingredients. AOCS press. USA.
- [29] Liu, C., Wang, X., Ma, H., Zhang, Z., Gao, W., & Xiao, L. 2008. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. *Food Chemistry* 111: 29–37.
- [30] Moure, A., J. Sineiro, J., Herminia Dominguez, H., Parajo, J.C. 2006. Functionality of oilseed protein products: A review. *J. Food Research International* 39: 945–963.
- [31] Sun, X.S., Wang, D., Zhang, L., Mo, X., Zhu, L., and Bolye, D. 2008. Morphology and phase separation of hydrophobic clusters of soy globular protein polymers. *Macromolecular Bio science* 8: 295-303.
- [32] Fenema, O.R. 1996. Food chemistry. 3rd ed, Marcel Dekker Incorporation. USA.
- [33] Fillery-Travis, A., Mills, E.N.C., and Wilde, P. 2000. Protein-lipid interaction at interfaces. *Grasas Y Aceites*, 51: 50-55.
- [34] Adebowale, Y. A., Adeyemi, I. A., Oshodi A. A. 2005. Functional and physicochemical properties of flours of six *Mucuna* species. *Journal of Biotechnology* Vol. 4 (12), pp. 1461-1468.
- isolate from chickpea (*Cicer aretinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization. *J. Food Chemistry*.64: 237–243.
- [13] Zhang, T, Jiang, B Mu, W., Wan, Zh. 2009. Emulsifying properties of chickpea protein isolates: Influence of pH and NaCl. *Journal of Food Hydrocolloids* 23: 146–152.
- [14] Papalamprou, E.M., Doxastakis, G.I., Biliaderis, C.G., Kiosseoglou, V. 2009. Influence of preparation methods on physicochemical and gelation properties of chickpea protein isolates. *J. Food Hydrocolloids*, 23: 337–343.
- [15] Bora, P. S., 2002, Functional properties of native and succinylated lentil (*Lens culinaris*) globulins. *Food Chemistry* 77: 171–176.
- [16] Ravaghi Darani, M . 2010. Effect of Production Procedures and Drying Step on Functional Properties of Soy protein concentrates Produced from Industrial soy flours. MS.c Thesis. Ferdowsi university of Mashhad Faculty of Agriculture.(in farsi)
- [17] Martins, V.B, Netto, F.M. 2006. Physicochemical and functional properties of soy protein isolate as a function of water activity and storage. *Journal of Food Research International* 39: 145–153
- [18] Alli, I., Gibbs, B.F., Okoniewska, M.K., Konishi, Y., & Dumas, F. 1993. Identification and characterization of phaseolin polypeptides in crystalline protein isolated from white kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41:1830–1834.
- [19] Kinsella, J.E. 1979. Functional properties of soy proteins. *Journal of American oil society chemists* 56: 242-258.
- [20] Okezie BO, Bello AB .1988. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy Isolate. *J. Food Sci.* 53: 450-454.
- [21] Singh, G. Wani, A.A, Kaur, D, and Dalbir Singh Sogi, D. 2008. Characterisation and functional properties of proteins of some Indian chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *J Sci Food Agric* 88:778–786
- [22] Kaur, M., Sandhu, K.S., Singh, N. 2007 . Comparative study of the functional, thermal and pasting properties of flours from different field pea (*Pisum sativum* L.) and pigeon pea

Effect of extraction methods on functional properties of Chickpea protein isolated

Bakhshi moghadam, F.¹, Milani, E.^{2*}, Mortazavi, S. A.³, Meshkani, S. M.¹

1. Department of Food Science & Technology , Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

2. Iranian Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Mashhad Branch, Iran

3. Member of scientific mission and professor food science and technology department. Ferdowsi university of Mashhad.

(Received:89/11/6 Accepted:90/11/23)

Chickpea proteins have received attention during recent years owing to their higher biological values and better functional properties than oilseed proteins. In present study, the effect of protein extraction method from kabuli chick pea seeds on functional properties obtained by tow extraction method includes alkaline extraction and acidic extraction was investigated. In research protein extraction had to pH=2.5 and pH=9.5 and followed by Isoelectric precipitation (pH =4.5). Functional properties of Kabuli chickpea protein isolates such as oil absorption capacities, water absorption capacities, foaming capacity and stability, emulsion capacity and stability were evaluated. All experiments were performed in triplicate and Duncan multiple range tests with a confidence interval of 95% was used to compare the means. Results showed that; Isolates obtained by acid method had higher emulsification (capacity emulsion 87.77% and stability emulsion 87.92%), and foam properties (capacity foam41.42% and stability 57.16%) than alkalin method. While alkalin method enhanced water absorption capacities (1.52 g/g) and fat binding capacities (1.68g/g). Whereas suitable functional properties of chick pea protein isolate could be used for substituting other proteins in food systems.

Key words: Protein isolate, Functional properties, Chick pea

* Corresponding Author E-mail address: e_milani81@yahoo.com