تهیه ایزوله پروتئینی از کنجاله کلزا به دو روش فرآوری شده صنعتی و آزمایشگاهی

ابوالفضل بوژمهرانی[1*] ، مسعود شفافی زنوزیان[2]، محمد حسین حداد خداپرست[3]، امیرحسین الهامی راد[2]، مرتضی محمدی[4]

[1]عضو هیئت مدیره و مدیر تولید کارخانه روغن کشی پنبه و دانه های روغنی خراسان، نیشابور، ایران

[2]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

[3]استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

[4] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

تاریخ دریافت:1392/5/21 تاریخ پذیرش: 1393/2/7

چکیده

در این تحقیق تاثیر روش آماده سازی کنجاله برروی ترکیبات شیمیایی کنجاله های آزمایشگاهی (استخراج روغن توسط سوکسله)وصنعتی (استخراج روغن توسط تجهیزات کارخانه)رقم کلزای ایران به نام هایولا 401 بررسی گردید. تاثیر روش آماده سازی کنجاله کلزا روی پروتئین،گلوکوزینولات واسیدفیتیک تعیین گردید و شرایط بهینه تولید ایزوله پروتئینی کنجاله آزمایشگاهی و صنعتی مورد آزمایش قرار گرفت. بدلیل اینکه استخراج پذیری و رسوب پروتین های کنجاله تابعی ازpH بوده و در هر رقم متفاوت است لذا در این تحقیق با دو تیمار pH استخراج پروتئین(11و12) و pH ترسیب پروتئین(4/5و5/5)در نظر گرفته شد. مقدار اسید فیتیک پروتئین ایزوله در این شرایط کم واختلاف معنی داری مشاهده نشد (p>0/01). بیشترین مقدار اسید فیتیک در کنجاله صنعتی استخراج شده در pH=11 و pH ترسیب 4/5 به میزان 1/11% مشاهده شد همچنین کمترین اسید فیتیک در pH=12 و pH ترسیب 5/5 ، میزان4/% گزارش شد.نتایج نشان داد در کنجاله آزمایشگاهی وpH استخراج 12 بیشتر از سایر شرایط مورد مطالعه پروتئین استخراج شده به میزان 50/03 همچنین بیشترین مقدار ترسیب پروتین در کنجاله صنعتی وpH= 4/5 به مقدار51/08 بدست آمد که اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند (p<0/01).بیشترین مقدار راندمان استخراج پروتئین به اثر متقابل کنجاله آزمایشگاهی استخراج شده درpH=11 و pH ترسیب 5/5 به مقدار 88/50 % بود.

واژه های کلیدی: کنجاله کلزا، پروتئین ایزوله، گلوکوزینولات، اسید فیتیک

*مسوول مکاتبات: ab_mehrani2000@yahoo.com

1-مقدمه

کلزا در طی قرن سیزدهم در اروپا کشت می شد اما احتمالا کشت آن در آسیا به هزاران سال قبل بر می گردد (2).

در کانادا برای اولین بار در سال 1956 روغن خوراکی از دانه های کلزا استخراج و به مصرف رسید. این روغن که دارای مقدار زیادی اسید ایکوزانوئیک و اسید اوروسیک بود و مقدار زیادی گلوکوزینولات در کنجاله باقیمانده از روغن کشی وجود داشت و از بدو مصرف از نظر تغذیه ای مورد سئوال قرار گرفت.

دانه روغنی کلزا از خانواده چلیپائیان و جنس کلمیان حاوی حدود 40 درصد روغن و 26 -17 درصد پروئئین (N × 6/25)می باشد (17) . دانه های کلزا Nrassicanapus و سایر دانه های روغنی وابسته به خانواده چلیپائیان نظیر *B. compestris* , *B. joncea* , *B. carinata* و *B. nigra* غنی از پروتئین خوراکی می باشند(14).

عمده مصرف کانولا در تولید روغن و در مرتبه بعدی تولید کنجاله و محصولات پروتئینی از آن است. پسماند کنجاله آن پس از روغن کشی حاوی 50-40 درصد پروتئین با ترکیب خوب و متوازنی از اسیدهای آمینه و مقادیر زیادی از اسیدهای آمینه ضروری لیزین و متیونین می باشد(6، 8، 15). کنجاله کلزا دارای ترکیب بسیار خوبی از اسیدهای آمینه ضروری بوده که با مقررات بهداشتی جهانی در خصوص نیاز انسان به اسیدهای آمینه مطابقت داردو دارای ارزش بیولوژیکی بالایی است(3و13).کنجاله کلزا دارای خصوصیات عملکردی قابل قبول برای مصرف در انواع فرمولاسیون مواد غذایی است (10 و20).کیفیت پروتئین های کلزا مشابه کازئین شیر و برتر از سایر منابع پروتئینی گیاهی نظیر سویا ، نخود و گندم می باشد(13 و15).

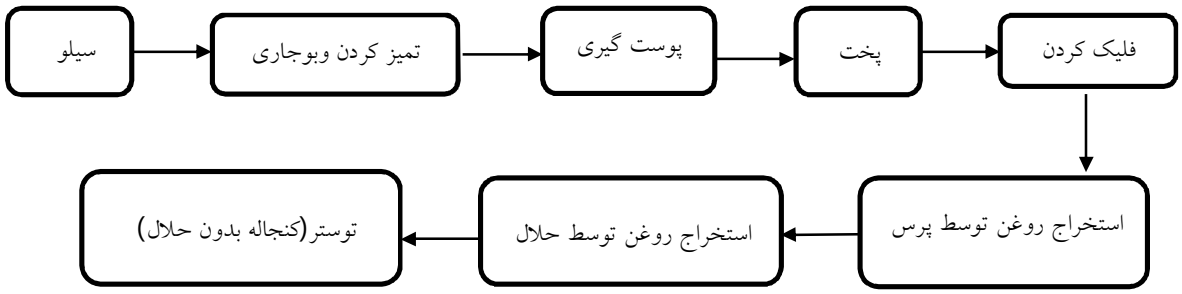
استفاده از کلزا به عنوان یکی از منابع پروتئینی غذایی ، شدیدا توسط حضور اجزا نامطلوب نظیر گلوکز کزینولات ، فیتات ها ، ترکیبات فنلی و الیاف خام (پوسته) محدود می شود(12). در حضور آنزیم مایروزیناز (تیوگلوکوزید و گلوکوزیداز) گلوکزینولات تجزیه و ترکیباتی نظیر تیوسیانات ها، ایزوتیوسیاناتها ، نیتریل و اگزازولیدین تولید می شود (16 و 18).

این ترکیبات عامل ایجاد تاثیر نامطلوب روی رشد و تولید مثل دام و طیور می باشند (5 ، 13). با غیر فعال نمودن مایروزیناز به وسیله حرارت می توان از تشکیل محصولات سمی جلوگیری نمود(9). در صورتی که آنزیم مایروزیناز غیر فعال نشده باشد احتمال شکستن گلوکزینولات و تولید ترکیبات سمی در دستگاه گوارش وجود دارد و نیتریل حاصل از تجزیه گلوکزینولات موجب آسیب کبد و کلیه ها می گردد (11). فیتاتها ظرفیت دسترسی حیاتی به اکثر یونهای فلزی چند ظرفیتی خصوصا روی و آهن را کاهش داده و لذا در متابولسیم آنها خلل ایجاد می نمایند.(10). این ترکیبات سمی و ضد تغذیه ای باید قبل از اینکه محصولات پروتئینی کانولا به عنوان یک منبع پروتئینی در رژیم غذایی انسان وارد شود به صورت کامل از آن جدا گردد و یا به حداقل ممکن رسانده شود. سم زدایی و حذف ترکیبات نامطلوب موجود در کنجاله کلزا مزیتهای اقتصادی– اجتماعی بسیاری را برای اکثر کشورهای پرجمعیت و در حال توسعه به همراه داشته است (1،3،19).

2-مواد و روش ها

هیبرید هایولا دارای سازگاری خصوصی بوده و در نواحی شمال کشور (گلستان) و شالیزارهای جنوب کشت می شود. جزو ارقام دوصفر بوده و عملکرد بیش از 3 تن دارد.

نمونه برداری به صورت کاملا تصادفی از کامیونهای وارد شده از مزارع به کارخانه پنبه و دانه های روغنی خراسان (نیشابور)، انجام شد.



2-1- مراحل آماده سازی کنجاله به روش صنعتی

2-1-1- بوجاری

اولین مرحله فرایند دانه های روغنی تمیز کردن دانه ها و جداکردن مواد خارجی است.

2-1-2-پوست گیری

برای افزایش کیفیت کنجاله و تولید پروتئین با کیفیت خوب باید لوبیا کلزا پوست گیری شود(1).

2-1-3 - دیگ پخت یا کوکر

درجه حرارت در هر طبقه متفاوت بوده است و ژاکتهایی ما بین دیگها وجود دارد که حرارت در آنها جریان دارد و به طور غیر مستقیم حرارت تزریق می شود که چنانچه از کنجاله استفاده شود باعث غیر فعال کردن آنزیمهایی مانند لیپاز می شود(1).

2-1-4- ورقه ورقه شدن سویای پخته شده یا فلیک کردن

در آخرین مرحله دانه های پخت شده توسط دستگاه فلیکر، فلیک یا ورقه ورقه شده برای اینکه سطح تماس فلیک افزایش یافته و در مرحله بعد یا تزریق هگزان عمل روغن کشی بهتر صورت گیرد.

2-1-5-استخراج روغن

استخراج 20%روغن کلزا توسط پرس صورت می گیرد و بقیه با حلال استخراج می شود که به دلیل اعمال درجه حرارت های پایین از کیفیت بالایی برخوردار است. راندمان استخراج با حلال تقریبا 12-10% بیشتر از روش استخراج با پرس است.

2-1-6-توستر

کنجاله حاوی 25- 35% حلال می باشد حلال در دمای 70 از کنجاله جدا میشود. بخار غیر مستقیم باعث جداشدن حلال از کنجاله شده و حلال به صورت گاز توسط مکنده به کندانسور انتقال داده می شود.

2-2-مرحله آماده سازی کنجاله به روش آزمایشگاهی

2-2-1-آسیاب کردن و پوست گیری

در هر بار آزمایش، 100 گرم دانه کامل با استفاده از یک آسیاب آزمایشگاهی (مدل مولینکس ، اسپانیا) به پودر نرم تبدیل شد..پوسته به وسیله هوادهی و نیروی باد و استفاده از اختلاف وزن و شکل جداسازی گردید. یک کیلوگرم آرد از رقم مورد مطالعه، تهیه شد.

مقدار20 گرم از هر یک از پودرهای آسیابی نرم حاصل از واریته مورد آزمایش، تهیه واستخراج روغن توسط حلال هگزان در دستگاه سوکسله در مدت زمان 18 ساعت صورت گرفت. دراین مرحله تهیه 1000 گرم کنجاله از هردو نمونه کنجاله(آزمایشگاهی و صنعتی) ادامه یافت و شستشوی هردو نمونه کنجاله توسط اتانول انجام شد.

2-3-مراحل تولید ایزوله پروتئین از کنجاله آزمایشگاهی و صنعتی

2-3-1-استخراج قلیایی

نتیجه آزمایشات و تحقیقات متعدد پژوهشگران مختلف نشان داد که در pH قلیایی، استخراج بیشتری انجام می شود (4،3). دیسپرسیونی شامل 10 گرم نمونه مورد نظر در 180 میلی لیتر آب مقطر در دمای اتاق تهیه گردید و مخلوط حاصل در یک pH از پیش تعیین شده نگهداری شد. مقادیرpH بین 11 و 12 مورد آزمایش قرار گرفت. با افزودن هیدروکسید سدیم 5 درصد در pH مورد نظر تنظیم و ثابت نگاه داشته شد. برای جلوگیری از رقیق شدن محلول از محلول هیدروکسید سدیم بین 1و6 نرمال استفاده شد ومدت زمان نگهداری در pH خاص، برای نمونه های هگزانی 30 دقیقه در نظر گرفته شد. سپس سانتریفوژ محلول آبی تهیه شده در 5000 دور در دقیقه و به مدت 15 دقیقه صورت گرفت و با فیلتراسیون خلائی، محلول رویی با کاغذ صافی واتمن40 جدا و نمونه استخراج شده، پس از سانتریفوژ و صاف کردن، در دو مرحله و هر بار با نسبت حلال به کنجاله 6 به 1، به وسیله آب مقطر شستشو داده شد. در هر مرحله از فرآیند شستشو به مدت 15 دقیقه صورت گرفت.

2-3-2-ترسیب ایزوالکتریک

در ابتدا انتخاب pH در دامنه 4/5 و 5/5 و اضافه کردن اسید کلریدریک 6 نرمال به 300 میلی لیتر از محلول تهیه شده در مرحله استخراج قلیایی و پایین آوردن pH تا حد مورد نظر صورت گرفت که اعمال دوره استراحت 15 دقیقه ای و ثابت نگاه داشتن pH با استفاده از اسید کلریدریک 1 نرمال سپس سانتریفوژ سوسپانسیون حاصل در 5000 دور در دقیقه و به مدت

20 دقیقه انجام گردید و فیلتراسیون خلائی محلول رویی با کاغذ صافی و اتمن 40جدا و شستشوی یک مرحله ای رسوب به نسبت 1 به 10 با آب مقطر اعمال شده که در مدت زمان 7تا10 دقیقه صورت پذیرفت.

در پایان محاسبه راندمان پروتئین رسوبی بر حسب وزن رسوب به دست آمد، محاسبه گردید.

2-3-3-خشک کردن ایزوله پروتئین

پروتئین های رسوب داده شده را توسط نیتروژن مایع منجمد و سپس درخشک کن انجمادی به مدت 72 ساعت عمل خشک کردن ادامه یافت.

2-4-تجزیه های شیمیایی

2-4-1-تعیین گلوکزینولات: اندازه گیری میزان گلوکزینولات براساس جذب ویژه نور فوق بنفش ترکیبات تیواوره و اگزازولیدین 2 تیون انجام شد(4،3).

روش آزمایش

1- توزین 100 میلی گرم نمونه در یک ویال 4 میلی لیتری مجهز به درب پیچشی تفلون دار.

2- اضافه نمودن 1 میلی لیتر بافر سیترات فسفات حاوی 3 میلی گرم آنزیم مایروزیناز.

3- افزودن دقیقا 2/5 میلی لیتر کلرید متیلن.

4- قرار دادن ویال درب دار حاوی مواد بالا به علاوه یک ساچمه شیشه ای در یک لرزاننده نوسانی به مدت 2 ساعت و در درجه حرارت اتاق.

5- پس از اتمام اینکوباسیون آنزیم امولسیون توسط سانتریفوژ 1000×g در درجه حرارت اتاق و برای مدت 30 دقیقه شکسته می شود. ظاهر شدن لایه شفافی از کلرید متیلن ضروری است. زیرا وجود مقادیر ناچیز عصاره آب خطای بسیاری را در بر خواهد داشت.

6- افزودن 50 میکرولیتر از عصاره کلرید متیلن به 3 میلی لیتر اتانول آبی 20 درصد حرارت دهی برای مدت 2 ساعت در حمام آب گرم 50 درجه سانتی گراد واکنش در داخل لوله کشت 16mm ×125 مجهز به درب پیچشی انجام می شود.

7- سرد کردن تا درجه حرارت اتاق.

8- تعیین دانسیته نوری(OD) در 235 و 245 و 255 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر.

9- تهیه شاهد افزودن 50 میکرو لیتر کلرید متیلن به 3 میلی لیتر اتانول آمونیاکی 20 درصد.

10- تعیین دانسیته نوری تصحیح شده

$$OD_{245\ corr}=OD_{245}\times-0.5(OD_{235}+OD_{255})$$

11- محتوای ایزوتیوسیانات کل بر حسب میلی گرم 3- بوتنیل ایزوتیوسیانات 3- BITC هر گرم نمونه بیان می شود.

میلی گرم 3- بوتنیل ایزو تیوسیانات در گرم نمونه = $OD_{245\ corr}$ × (28/55)

12- میزان 5- وینیل اگزازولیدین 2- تیون طبق مراحل بالا تعیین می گردد به جز این که بجای اتانول آمونیاکی ازاتانول 95 درصد استفاده می شود میزان آن بر حسب میلی گرم ماده در گرم نمونه گزارش می گردد.

میلی گرم 5- وینیل اگزازولیدین2- تیون در گرم نمونه= $OD_{245corr}$ × 22/1

نکته: حد تشخیص روش وتر و یانگ 1/7 میکرومول در گرم نمونه می باشد. از فاکتور 8/5 برای تبدیل میلی گرم در گرم نمونه به میکرومول در گرم استفاده می شود

2-4-2-تعیین اسید فیتیک:تعیین میزان اسید فیتیک طبق روش فبلز و همکاران انجام شد(4،3).

روش آزمایش

1- مخلوط کردن 2گرم نمونه با 40 میلی لیتر از محلولc در لوله آزمایش فالکون و تکان دادن برای مدت 2 ساعت.

2- سانتریفوژ کردن محلول در 5000 دور در دقیقه و به مدت 15 دقیقه.

3- صاف کردن محلول رویی با کاغذ صافی واتمن نمره 45 .

4- انتقال 20 میلی لیتر از محلول شفاف به یک لوله هضم و افزودن 20 میلی لیتر از محلول c، 20 میلی لیتر از محلول a و 20 میلی لیتر از محلول d .

5- مخلوط کردن محلول و هضم در حمام آب برای مدت 15 دقیقه.

6- تکان دادن لوله هضم و سرد کردن تا زمان ته نشین شدن رسوبات.

7- انتقال 20 میلی لیتر از محلول شفاف رویی به یک ارلن مایر 250 میلی لیتری و رقیق کردن تا 200 میلی لیتر با آب یون زدایی شده.

8- تنظیم pH در حد 2/5 با گلایسین و یا هیدروکسید سدیم

9- گرم کردن مجدد محلول تا 70 درجه سانتی گراد و تیتراسیون با محلول 0/01 مولار EDTA .

10- محاسبه

P /1/(B-V) = اسید فیتیک (درصد)

B: تیتراسیون شاهد

V: حجم محلول EDTA مصرفی (میلی لیتر)

P: وزن نمونه گرم

2-4-3-**تعیین پروتئین**: برای تعیین پروتئین نمونه های دانه کامل و بدون پوسته و نیز نمونه های کنجاله صنعتی، آزمایشگاهی وهمچنین میزان پروتئین ایزوله، توسط دستگاه پروتئین گیر Gerhardt انجام شد.

روش آزمایش

الف- مرحله هضم

1- برای تعیین پروتئین نمونه های دانه کامل و بدون پوسته و نیز نمونه های کنجاله صنعتی، آزمایشگاهی ومیزان پروتئین ایزوله یک گرم و برای ایزوله پروتئینی هر گرم در یک کاغذ فاقد نیتروژن توزین می گردد و در داخل لوله هضم انتقال داده می شود.

2- افزودن 2gr کاتالیزور که شامل 15gr دی اکسید سلنیم، gr 96 سولفات پتاسیم ، 3/5 gr سولفات فنل است و 20cc اسید سولفوریک غلیظ به نمونه.

3- در داخل تیوپ در 30 دقیقه در 250 درجه به مدت نیم ساعت و سپس در دمای 390 درجه حداقل ب مدت یک ساعت (پایان مرحله هضم تشکیل ژل سبز روشن است) .

4- بعد از کمی سرد شدن تیوپ 50cc آب مقطر به آن می افزاییم .

ب- مرحله تقطیر

50 ml اسید بوریک 2% به اضافه 2-3 قطره متیل در داخل ارلن ریخته و در دستگاه جایگزینی می کنیم تیوپ را نیز در محل خود نصب می کنیم پس از روشن کردن دستگاه و انجام تنظیمات انجام واکنش صورت می گیرد.

پ- مرحله تیتراسیون

تیتر با HCl تا ظهوررنگ ارغوان

میزان پروتئین: $\frac{vHcl\times0.1\times6.25(\frac{1}{4})}{\mathrm{m-h}} = \frac{0.875\times vol(cc)}{m-h}$

3-تجزیه و تحلیل آماری

داده ها با آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار تجزیه و تحلیل شدند. آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری(LSD[1]) بین میانگین‌ها نیز انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزارSAS نسخه 9.1.3 استفاده شد.

4- نتایج و بحث

4-1- بررسی مقدار اسید فیتیک موجود در کنجاله های آزمایشگاهی و صنعتی

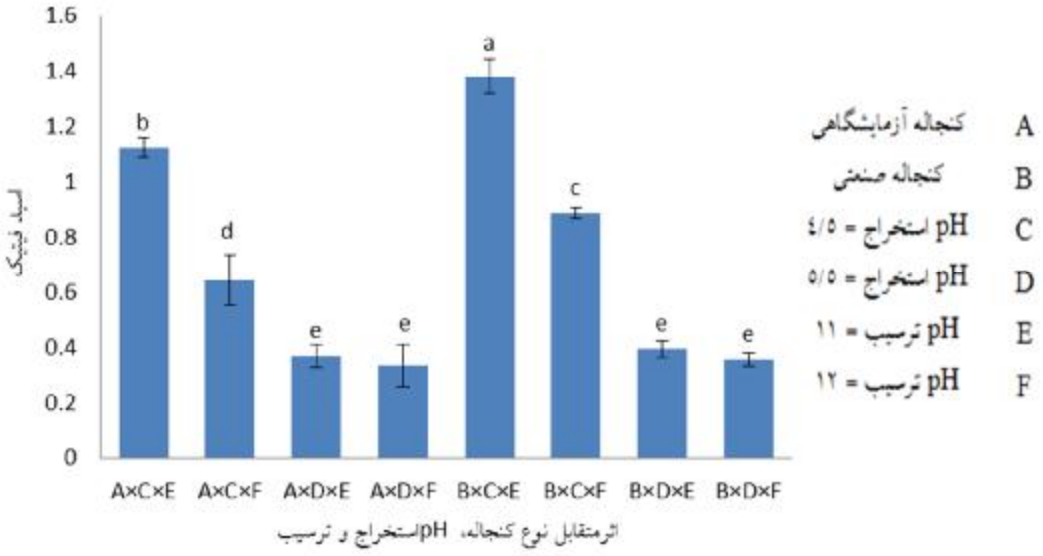
نتایج مربوط به جدول تجزیه واریانس تغییرات اسید فیتیک در شرایط اثر متقابل سه گانه پارامترهای مورد مطالعه (نوع کنجاله و pH ترسیب و pH استخراج) حاکی از این بود که بیشترین مقدار اسید فیتیک در کنجاله صنعتی استخراج شده در pH=11 و pH 4/5 ترسیب مشاهده شد و کمترین مقادیر اسید فیتیک نیز به ترتیب در شرایط pH استخراج 12 و ترسیب 5/5 با کنجاله صنعتی مشاهده شد که اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند(p>0/01). اطلاعات دیگری نیز برای میزان استخراج اسید فیتیک ازکنجاله های کلزا گزارش شده است از جمله: بیشینه استخراج معادل 13/5 درصد در pH=12 و کمینه استخراج نزدیک صفر درصد در pH=11 برای کنجاله دوفازی رقم آلترا(18)؛حداکثر 21/3 درصد در pH=12 برای کنجاله دوفازی کلزای چینی (18) ؛ حداکثر استخراج معادل 18/1 درصد در pH 12 و حداکثر استخراج حدود 30 درصد در دامنه pH بین 12 تا 13 برای کنجاله های هگزانی تهیه شده از ارقام دو صفر سریز و کبری(14، 18) .

1- Least Significant Difference

جدول1- تغییرات مقدار اسید فیتیک تحت تاثیر متغیرهای ثابت مطالعه.

متغیرهای ثابت	نوع کنجاله		pHاستخراج		pH ترسیب	
	آزمایشگاهی	صنعتی	11	12	4/5	5/5
اسید فیتیک (%)	0/6167[a*]	0/7533[a]	0/8158[a]	0/5542[a]	1/0083[a]	0/36167[b]
پروتئین (%)	48/57±3/51[a]	49/21±8/47[a]	50/29±5/57[a]	47/49±4/76[a]	51/08±6/94[a]	46/70±5/05[a]
پروتئین(%)	88/51±4/21[a]	81/48±1/52[b]	48/57±3/51[a]	86/36±4/22[a]	83/54±3/55[a]	86/45±5/76[a]

*- اعداد دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند (α=0.01).



شکل1- اثر متقابل سه گانه نوع کنجاله، pH استخراج و pH ترسیب بر مقدار اسید فیتیک.

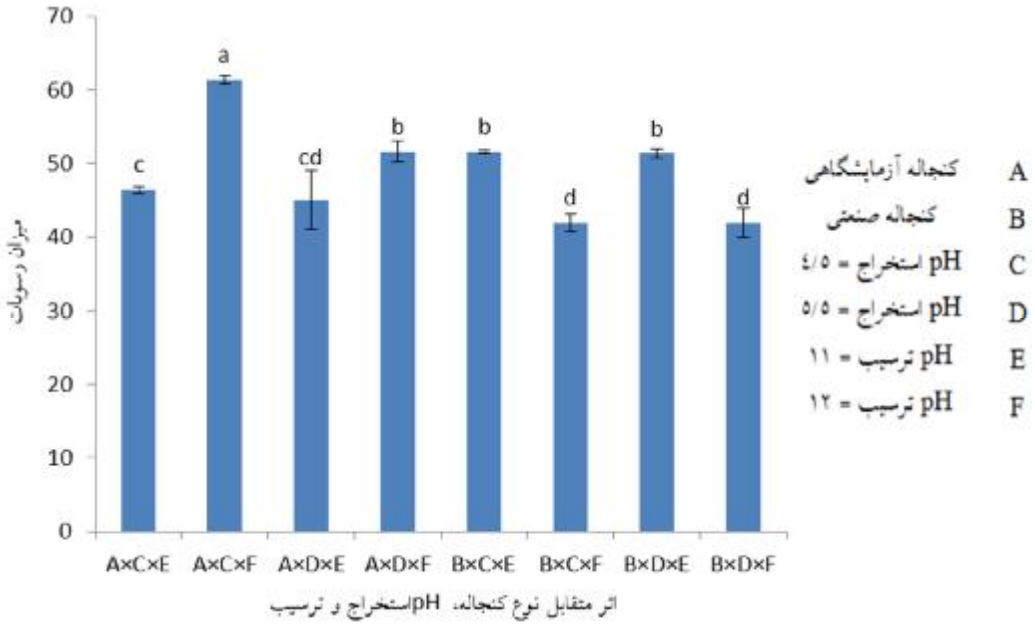
4-2-بررسی تاثیر pH و نوع کنجاله بر روی ظرفیت استخراج و ترسیب پروتئین

در بررسی اثر متقابل سه گانه پارامترهای این مطالعه مشاهده شد که بیشترین مقدار رسوبات بر حسب گرم به اثر متقابل کنجاله صنعتی استخراج شده در pH= 11 و ترسیب شده در pH= 4/5 مشاهده شد.کمترین مقدار رسوب نیز هنگامیکه از کنجاله آزمایشگاهی برای استخراج در pH های 11 و 12 و ترسیب در pH= 5/5 استفاده شده به دست آمد.

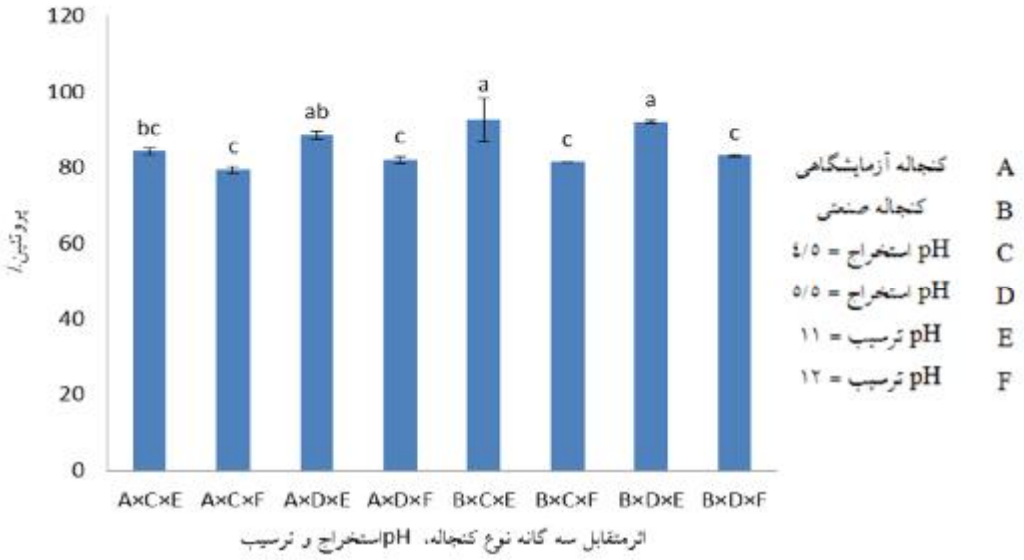
نتایج تحقیقات گذشته نشان می دهد که در pH کمتر از 4/0 فقط بخش کوچکی از پروتئین های محلول رسوب می‌کنند و با افزایشpH تا 5/5، میزان بازیافت پروتئین بیشتر و پروتئین های محلول بیشتررسوب می کند. و با افزایش pH ، بیشتر از5/5 میزان بازیافت پروتئین شدیدا افزایش می یابد. از pH=6 به بالا میزان بازیافت پروتئین شروع به کاهش می نماید و لذا می توان نقاط ایزوالکتریک متفاوتی را تعریف نمود.

4-3-بررسی راندمان استخراج پروتئین ایزوله در نمونه ها

بیشترین مقدار راندمان استخراج پروتئین مربوط به اثر متقابل کنجاله آزمایشگاهی استخراج شده در pH= 11 و pH ترسیب 5/5 بود بنابراین می توان چنین نتیجه گرفت که نقطه ایزوالکتریک پروتئین های رقم هایولا در pH = 5/5 می باشد که در این نقطه، پروتئین از نظر بارالکتریکی خنثی و تحت تاثیر هیچگونه نیروی داخلی قرار نداشته و کاملا رسوب می نماید به عبارت دیگر پروتئینها در این نقطه دارای حداقل حلالیت می باشند. نتایج پژوهش با گزارش گیلبرگ و ژو(17) که بالاترین استخراج پذیری پروتئین کلزا را در pH بالای 11 و در حدود 86 درصد گزارش کردند مطابقت دارد و اختلاف اندکی که ملاحظه می گردد مربوط به واریته و شرایط آزمایش و منطقه ای می باشد.



شکل2- اثر متقابل سه گانه نوع کنجاله، pH استخراج و ترسیب برمقدار رسوبات بدست آمده.



شکل3- اثر متقابل سه گانه نوع کنجاله، pH استخراج و ترسیب بر راندمان استخراج پروتئین.

5- منابع

1- حداد خداپرست ، م ، تکنولوژی روغن های خوراکی ، 1373، انتشارات حداد خداپرست،صفحات400-345

2- خلیلی ، ا. 1382 ، صادرات روغن نباتی و موانع موجود صنعت روغن نباتی ، مجله *آفتابگردان انجمن صنفی صنایع روغن کشی و روغن نباتی*، شماره 11 ص 2.

3- قدس ولی ، ع ، حدادخداپرست ، م.ح و وثوقی ، م ، 1386 ، ارزیابی خصوصیات عملکردی کنجاله هگزانی و دوفازی سه رقم کانولا، *مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی*، جلد چهاردهم، شماره دوم، خرداد- تیر.

4- محمد زاده ، ج، یغبانی ، م و قدس ولی ، ع .ر . 1387 تهیه ایزوله پروتئینی از کنجاله کلزا و تعیین خصوصیات عملکردی آن . هجدهمین کنگره ملی علوم و منابع غذایی مشهد.

5- Brune , M. Halberg,L. and Skanberg, L. 1991. Determination of iron- binding phenolic groups in foods, *J. Food Sci* 56, 128-131.

6- El Nockrashy, A.S., Mukherjee, K.D., and Mangold, H.K., 1977. Rapeseed protein isolates bycountercurrent extraction and isoelectric precipitation. *J. Agric. Food Chem*. 25, 193-197

7- Fao/ who/unu. 1985. Energy and protein requirements. Report of a joint fao/ who/ unumeeting .who, genva, technical Report series no. 724.

8- Finalayson, A. J. 1974. The amino acid composition of rapeseed hulls. *Can J. Anim Sci* 54, 495- 496.

9- Gillberg, L., and Törnell, B., 1976. Preparation of rapeseed protein isolates: Dissolution and precipitation behavior of rapeseed proteins. *J. Food Sci*. 41, 1063-1069

10- Jones, J.D. 1979. Rapeseed protein concentrate: preparayion and evaluation. *J. Am. Oil Chem.Soc* 56, 716- 720.

11- Lu, S. Kim H. Eskin, N.Latta, M. and Johnson, S. 1987. Changes in phytase activity and phytate during the germination of six canola cultiars. *J. Food Sci*. 52, 173 -175.

12- Maheshwari, P.N., Stanley D.W., and Gray, J.I., 1981. Detoxification of Rapeseed Products. *J. Food Prot*. 44, 459

13- Naczk , M. Amarowicz, R. Sullivan, A. and SHahidi, F. 1998. Current research developments on polyphenolics of Rapeseed/ Canola: A review. *Food Chem.*, 62(4) 489- 502.

14- Ohlson r. and Anjou k. 1979. Rapeseed protein products. *J. Am Oil Chem. Soc*. 56, 431.

15- Sarwar, G.R., Blair, R., Friedman, M., Gumbmann, M.R., Hackler, L. R., Pellet, P.L., and Smith ,T.K., 1984. Inter- and intra- laboratory variability in rat growth assays for estimating protein quality of foods. *Assoc. Official Anal. Chem*. 67, 976

16- Slominski, B.A. and Campbell, L.D. 1990. Non- starch polysaccharides of Canola Meal: quantification, digestibility in Poultry and Potential benefit of dietary Enzyme Supplementation. *J. Sci. Food Agric*. 53, 175-184.

17- Uppstrom, D.I. (rd) processing of the eighth international rapeseed congress, Saskatoon, Canada. Organizing committee, Saskatoon, pp. 1377- 1379.

18- Wetter, C.R., and Youngs, C.G., 1976. A thiourea U.V assay for total glucosinolate content in rapeseed meals. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 53, 162-165

19- Xu, L. and Diosady, L.L. 1994. The production of Chinese Rapeseed Protein isolates by membrane processing. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71, 935-939.

20- Xu, L. and Diosady, L.L. 1994. Functional properties of Chinese protein isolate. *Journal of Food Sci* . 59 (5) : 1127- 1130.