

تهیه کنسانتره پروتئینی از کنجاله پنبه دانه جهت مصرف انسان به روش مخلوط حلال‌ها (آب : استن :

هگزان)

محمد علی نجفی* و محمد حسین حداد خداپرست**

پنبه دانه دارای ۲۶ درصد چربی است و کنجاله حاصل از فرآیند روغن‌کشی آن دارای حدود ۴۵ درصد پروتئین است ولی به دلیل داشتن ترکیب سمی گوسیپول از آن برای تغذیه دام استفاده می‌شود. اثر مخلوط حلال‌های آب : استن : هگزان به نسبت‌های (۱:۳۹:۶۰)، (۳:۵۳:۴۴) و (۳:۶۷:۳۰) و نیز انجام فرآیند استخراج مرطوب پروتئین برای تهیه کنسانتره پروتئینی خوراکی از کنجاله پنبه دانه رقم ورامین بررسی شد.

در کنسانتره‌های تولید شده میزان فیبر خام، ازت محلول، چربی، طبق روش‌های استاندارد و گوسیپول آزاد و کل به روش HPLC تعیین شد. نتایج نشان داد که کنسانتره حاصل از استخراج با حلال آب : استن : هگزان به نسبت (۱:۳۹:۶۰) بدون انجام فرآیند استخراج مرطوب، براساس استانداردهای جهانی برای انسان قابل استفاده است.

واژه‌های کلیدی: پنبه دانه؛ پروتئین؛ کنجاله؛ کنسانتره؛ مخلوط حلال‌ها

* - مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، سیستان و بلوچستان - ایران

** - دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، خراسان - ایران

مقدمه

پروتئین‌های غیرذخیره‌ای با نقطه ایزوالکتریک ۴ و وزن ملکولی زیاد پروتئین‌های فعال سیتوپلاسم بوده و سبب چسباندن سلول‌ها به یکدیگر می‌شوند (۳ و ۵).

از مهمترین خواص پروتئینی فرآورده‌های پنبه دانه، طعم شیرین، رنگ روشن، زیاد بودن ارزش تغذیه‌ای، شکل‌پذیری در تولید، ماشین‌پذیری مناسب، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، قابلیت جذب روغن، خاصیت امولسیفایری، قابلیت جذب آب و بهبود رنگ محصولات تولید می‌باشد (۹).

مواد و روشها

در این تحقیق ۲۰ کیلوگرم پنبه دانه رقم ورامین به طور تصادفی از انبار مرکز اصلاح بذر ورامین نمونه‌برداری و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از بوجاری و جدا کردن پوست، مغز دانه‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در دستگاه خردکن مدل Super national خرد و در تیمارهای معینی استفاده شد (جدول ۱).

در ابتدا حلال‌های آب، استن و هگزان به نسبت‌های حجمی جدول (۱) با یکدیگر مخلوط و سپس روغن موجود در مغز دانه‌ها طی چند مرحله به کمک دستگاه سوکسله (Electro thermal) استخراج شد. فرآیند استخراج گوسیپول به مدت چهار ساعت به کمک حلال تهیه شده (با نسبت ۱۵:۱ حلال به کنجاله) در نقطه جوش انجام و پس از خاتمه عمل

به دلیل رشد جمعیت و افزایش تقاضا برای مواد غذایی و گران بودن پروتئین‌های حیوانی استفاده از محصولات فرعی منابع گیاهی مورد توجه قرار گرفته است. پنبه دانه دارای ۲۶ درصد چربی است و کنجاله حاصل از فرآیند روغن‌کشی آن دارای ۴۵ درصد پروتئین است (۱).

مشکل مهم پنبه دانه وجود یک ترکیب سمی به نام گوسیپول در مغز آن است. این ماده دارای ساختمان پلی‌فنلیک بوده و به دو شکل آزاد و باند شده وجود دارد. گوسیپول آزاد در درون غدد رنگین قرار دارد و دارای اثر منفی و نامطلوب برای حیوانات یک‌معه‌ای و احتمالاً انسان است. این ترکیب به سرعت با گروه اپسیلون آزاد آمینو اسید لیزین و احتمالاً آرژنین و سیستئین واکنش داده و سبب دناتوراسیون پروتئین می‌شود که در نتیجه آن راندمان استحصال پروتئین کاهش می‌یابد. اگر گوسیپول با پروتئین و یا هر ترکیب دیگر پیوند دهد آن را گوسیپول پیوندی می‌نامند (۳، ۷ و ۸).

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که میزان گوسیپول آزاد درحین فرآیند استخراج روغن ۷۱ تا ۷۸ درصد کاهش می‌یابد (۶).

پروتئین‌های پنبه دانه به دو گروه کلی ذخیره‌ای و غیرذخیره‌ای تقسیم‌بندی می‌شوند. پروتئین‌های ذخیره‌ای در بذر گیاه و درون دانه‌های آلرون قرار دارند و وزن ملکولی آنها زیاد است و با داشتن نقطه ایزوالکتریک ۷ در حلال‌های قلیایی محلول می‌باشند (۳). ولی

جدول ۱ - نسبت حلال‌های مورد استفاده برای مغز پنبه دانه

روش استخراج	نسبت حلال‌ها (آب: استن: هگزان)
کنجاله	
استخراج مرطوب اسیدی	۱:۳۹:۶۰
استخراج مرطوب کلاسیک	
کنجاله	
استخراج مرطوب اسیدی	۳:۵۳:۴۴
استخراج مرطوب کلاسیک	
کنجاله	
استخراج مرطوب اسیدی	۳:۶۷:۳۰
استخراج مرطوب کلاسیک	

کمک اسید کلریدریک ۰/۰۱ نرمال به عدد پنج رسانده شد. پس از ۳۰ دقیقه، مخلوط به کمک کاغذ واتمن ۳ مجدداً صاف و بخش فوقانی آن در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون خشک شد.

آزمایشات فیزیکی و شیمیایی

خواص کیفی کنجاله و نیز کنسانتره‌های تولید شده (نظیر فیبر خام، ازت، چربی و رطوبت) براساس روشهای مندرج در AOCS (۱۹۹۰) تعیین شد.

برای اندازه‌گیری میزان حلال بودن ازت محلول طبق روش مندرج در AOCS (1990) اقدام شد.

برای اندازه‌گیری گوسیپول از دستگاه HPLC و با مشخصات زیر استفاده شد :

نوع ستون : (C18DS: 4.6cm × 15cm)

نمونه حاصل به مدت ۱۰ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون قرار داده شد تا حلال از آن جدا شود. سپس کنجاله حاصل آسیاب و پس از فرآیند درجه‌بندی (الک مش ۸۰) با بخش زیرین الک به روشهای ذیل عمل گردید :

روش استخراج مرطوب اسیدی پروتئین

در این روش ۷۰ گرم از آرد حاصل با نسبت ۱۵:۱ با آب اسیدی (PH = ۴/۵) به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط، سپس به کمک کاغذ واتمن ۳ صاف و خمیر روی فیلتر در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون خشک شد.

روش استخراج مرطوب کلاسیک پروتئین

در این روش ۷۰ گرم از آرد حاصل با نسبت ۱۵:۱ با آب قلیایی (PH = ۱۰/۵) به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط و سپس به کمک کاغذ واتمن ۳ صاف و محلول زیر صافی جدا شد و PH آن به

معرف : مخلوط ۳- آمینو ۱- پروپانول + ۲۰ اسید استیک گلاسیال که پس از سرد شدن توسط دی متیل فرمالدئید به حجم ۲۰۰ سی سی می رسد. محلول استاندارد : مخلوط ۲۵ میلی گرم گوسیپول - اسید استیک + ۲۵ سی سی محلول معرف - منحنی استاندارد با تزریق مقادیر : ۰/۲، ۰/۵، ۱/۰، ۲/۰، ۳/۰ و ۵/۰ سی سی از محلول استاندارد رسم شد (نمودار ۱).

دستگاه تزریق : Shimadzu مدل C-R3A 6-Slot

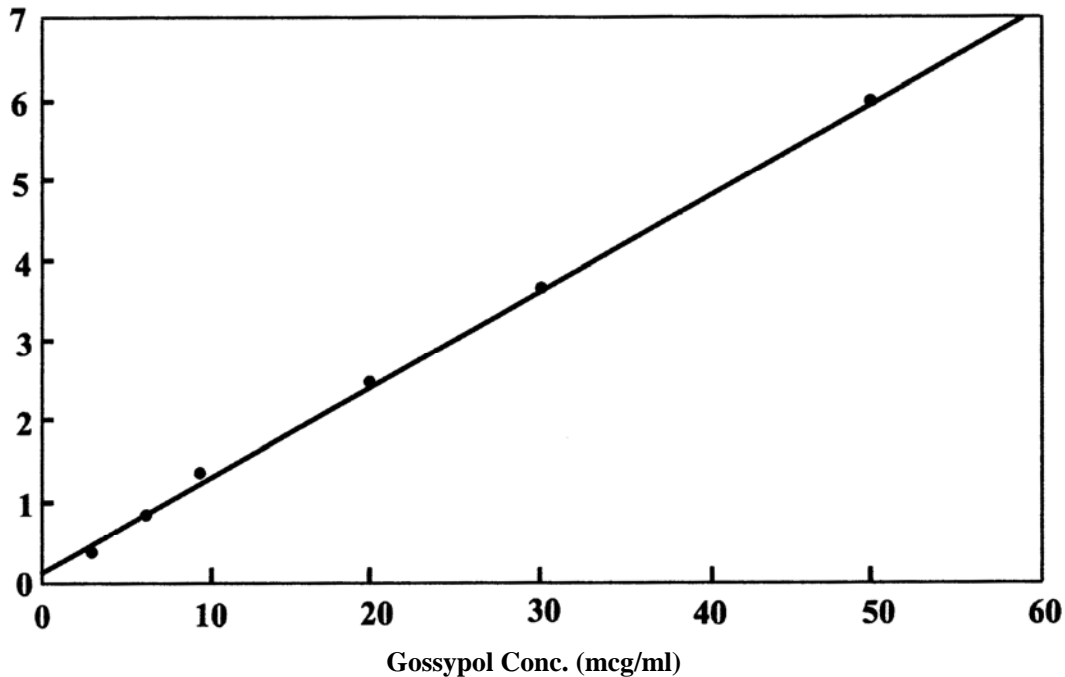
اسپکتروفتومتر : Shimadzu مدل SPD-2AS

رایانه : Shimadzu مدل SIL-2AS

چاپگر : Shimadzu مدل C-R3A

فاز متحرک : از اختلاط متانول با آب به نسبت ۸۷:۱۳ به همراه ۰/۱ درصد اسید فسفریک تهیه شد.

نمودار ۱ - منحنی استاندارد گوسیپول



نتایج و بحث

مقایسه میانگین اثر ساده و اثر متقابل سطوح مختلف تیمارها بر متغیرهای مورد بررسی در جدول (۲) ارایه شده است. اثر ساده نوع حلال بر تغییرات میانگین ازت، ازت محلول، چربی، فیبر خام، گوسیپول

طرح آماری

اعداد حاصل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی بررسی و نتایج پس از تجزیه واریانس با آزمون دانکن با یکدیگر مقایسه شد.

اثر متقابل سطوح بر تفاوت میانگین متغیر ازت معنی‌دار بود. بیشترین مقدار ازت از روش حلال آب : استن : هگزان (۱:۳۹:۶۰) و روش استخراج کلاسیک حاصل شد. ولی اثر متقابل سطوح و تیمارهای مختلف بر محلول بودن ازت معنی‌دار نبود ($P > 0/05$).

اثر متقابل تیمارها بر متغیر چربی معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که مناسب‌ترین میزان چربی به کمک حلال آب : استن : هگزان (۱:۳۹:۶۰) بدون فرآیند استخراج و نیز با استفاده از همین نوع حلال همراه با روش استخراج اسیدی حاصل می‌شود. اثر متقابل تیمارهای مختلف بر متغیر فیبر خام معنی‌دار بود. کمترین مقدار فیبر خام به کمک حلال آب : استن : هگزان (۱:۳۹:۶۰) با روش استخراج کلاسیک و حلال آب : استن : هگزان (۳:۵۳:۴۴) حاصل شد. اثر متقابل تیمارها بر صفت گوسپیول کل معنی‌دار بود و کمترین میزان گوسپیول کل به کمک حلال آب : استن : هگزان (۳:۶۷:۳۰) و استخراج اسیدی حاصل شد.

استاندارد جهانی برای کنسانتره پروتئین پنبه دانه مناسب برای مصرف انسان براساس جدول (۳) می‌باشد :

مقایسه نتایج حاصل با استاندارد جهانی نشان می‌دهد که مقادیر فیبر خام، ازت و ازت محلول درحد استاندارد و حتی بیشتر است. برای انتخاب مناسب‌ترین روش تولید کنسانتره مقادیر چربی، گوسپیول کل و آزاد اهمیت دارند. بررسی نهایی

کل معنی‌دار بود ($P < 0/05$). ولی اثر این عوامل بر متغیر گوسپیول آزاد معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). بیشترین میزان ازت از حلال با نسبت ۱:۳۹:۶۰ حاصل شد که علت را می‌توان ناشی از کاهش سایر ترکیبات (مانند چربی و فیبر خام) در نظر گرفت. پروتئین حاصل از حلال با نسبت ۳:۶۷:۳۰ دارای بهترین کیفیت بود. کم بودن نقطه جوش استون نسبت به هگزان و کاهش اثر دنا تورا سیون در این امر مؤثر می‌باشد. کمترین میزان چربی و فیبر خام از حلال با نسبت ۱:۳۹:۶۰ حاصل شد. کمترین میزان گوسپیول کل از حلال با نسبت ۳:۶۷:۳۰ حاصل شد که این امر به دلیل اثر حلال بودن این مخلوط بر ترکیبات مورد نظر می‌باشد.

اثر ساده روش استخراج بر تفاوت میانگین متغیرهای ازت، ازت محلول، چربی، فیبر خام، گوسپیول کل معنی‌دار بود ($P < 0/05$). ولی اثر آن بر میانگین گوسپیول آزاد معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). بیشترین میزان ازت، حلال بودن ازت و کمترین میزان فیبر خام از روش استخراج کلاسیک حاصل شد که دلیل آن را می‌توان ناشی از محلول شدن پروتئین‌ها در اسیدیته (PH) بیشتر از نقطه ایزوالکتریک و جدا کردن مؤثر ناخالصی‌ها دانست. زیاد بودن میزان چربی در این روش نیز مربوط به زیاد بودن درصد پروتئین و قابلیت امولسیفیکاسیون این پروتئین‌ها می‌باشد. بهترین میزان چربی از روش استخراج اسیدی حاصل شد. کمترین میزان گوسپیول کل نیز در روش استخراج اسیدی بود که علت آن ناشی از کم بودن درصد پروتئین کنسانتره است.

جدول ۲ - اثر نسبت حلال و روش استخراج بر میانگین متغیرهای مورد بررسی

تیمارها	ازت (درصد)	ازت محلول (درصد)	چربی (درصد)	فیبر خام (درصد)	گوسیپول کل (درصد)	گوسیپول آزاد (درصد)
حلال آب : استن : هگزان	*	*	*	*	*	n.s
۱:۳۹:۶۰	^a ۱۳/۳۶۷	^a ۷۶/۹۴	^c ۴/۱۲	^c ۱/۶۸	^c ۰/۲۸۲۵۹	^b ۰/۰۴۰۱۰
۳:۵۳:۴۴	^b ۱۲/۶۱۷	^b ۸۵/۵۱	^b ۷/۷۶	^b ۱/۹۲	^a ۰/۰۸۵۸۶	^a ۰/۰۹۶۰۴
۳:۶۷:۳۰	^c ۱۲/۸۱۰	^c ۸۹/۸۴	^a ۱۱/۱۸	^a ۲/۸۴	^b ۰/۰۸۵۳۶	^c ۰/۰۲۱۲۹
روش استخراج	*	*	*	*	****	n.s
کنجاله	^c ۹/۹۲۸	^c ۸۳/۸۸	^b ۶/۷۷	^b ۲/۴۲	^c ۰/۱۲۴۴۳	^a ۰/۰۹۱۲۱
استخراج اسیدی	^b ۱۲/۶۲۹	^b ۸۳/۹۳	^b ۶/۹۷	^a ۲/۹۴	^b ۰/۱۵۷۹۰	^b ۰/۰۴۱۷۸
استخراج کلاسیک	^a ۱۵/۵۸۷	^a ۸۴/۵۰	^a ۹/۳۲	^c ۱/۰۶	^a ۰/۱۶۱۳۹	^c ۰/۰۲۴۴۱
اثر متقابل	*	n.s	*	*	*	n.s
کنجاله	^b ۱۰/۳۱۷	^f ۷۶/۷۷	^d ۳/۵۱	^d ۱/۸۰	^a ۰/۲۹۶۰۳	^{ab} ۰/۰۳۸۴۹
استخراج اسیدی	^d ۱۳/۵۴۱	^f ۷۶/۸۰	^d ۶/۹۰	^c ۲/۱۶	^c ۰/۲۷۳۷۷	^{ab} ۰/۰۱۹۷۵
استخراج کلاسیک	^a ۱۶/۱۹۲	^f ۷۷/۲۷	^c ۸/۲۱	^e ۰/۶۳	^b ۰/۲۷۷۹۷	^{ab} ۰/۰۲۱۱۹
کنجاله	^h ۹/۹۱۰	^c ۸۵/۲۷	^c ۷/۵۵	^c ۲/۴۶	ⁱ ۰/۱۴۴۷۰	^a ۰/۰۵۳۸۰
استخراج اسیدی	^e ۱۲/۳۵۸	^d ۸۵/۳۴	^{bc} ۸/۷۳	^c ۲/۴۷	^f ۰/۱۱۸۹۳	^{ab} ۰/۰۳۳۹۱
استخراج کلاسیک	^b ۱۵/۵۸۴	^c ۸۵/۹۷	^c ۷/۰۱	^e ۰/۹۲	^d ۰/۱۲۴۲۰	^{ab} ۰/۰۴۰۹۲
کنجاله	ⁱ ۹/۵۵۸	^b ۸۹/۶۰	^{bc} ۹/۲۶	^b ۳/۱۴	^f ۰/۰۹۲۸۰	^{ab} ۰/۰۲۱۳۸
استخراج اسیدی	^f ۱۱/۹۹۷	^b ۸۹/۶۷	^{ab} ۱۱/۵۶	^a ۲/۷۳	^h ۰/۰۸۱۰۰	^b ۰/۰۱۰۵۷
استخراج کلاسیک	^c ۱۴/۹۸۵	^a ۹۰/۲۷	^a ۱۲/۷۳	^d ۱/۶۳	^g ۰/۰۸۲۳۰	^b ۰/۰۱۱۶۹

* تفاوت میانگین‌ها معنی‌دار است ($P < 0/05$).

n.s تفاوت میانگین‌ها معنی‌دار نیست ($P > 0/05$).

جدول ۳ - استاندارد جهانی کنسانتره خوراکی

ترکیبات	چربی خام	گوسیپول کل (حداکثر)	گوسیپول آزاد (حداکثر)	ازت (حداقل)	پروتئین محلول (حداقل)	فیبر خام (حداکثر)
میزان (درصد)	۶/۶۷	۱/۳۳۳۳	۰/۰۶۶۶۷	۸/۸۸۹	۶۵/۰۰	۵/۵

منابع مورد استفاده

- نشان داد که کنسانتره حاصل از تیمار حلال آب : استن : هگزان به نسبت (۱:۳۹:۶۰) بدون استخراج مرطوب تنها روش تولید کنسانتره با کیفیت مصرف انسانی می باشد.
- ۱ - کهل. آر. چی. و لوئیس. سی. اف، ۱۳۷۴. پنبه، فرشته ناصری، معاونت فرهنگی آستان قدس رضوی، صص ۸۱۰-۷۸۳.
 - 2 . Helrich K (1990) Official methods of analysis. Fifteenth edition. Association of official analytical chemists, Inc. 780 pp.
 - 3 . Kadan RS, Ziegler GM and Spadaro JG (1978) Color of cottonseed flour and isolates as affected by mixed solvent extraction. Cereal chemistry 55(6): 919-926.
 - 4 . Lusase EW and Jividen GM (1987) Glandless Cottonseed: a review of the first 25 years of processing and utilization research. J.A.O.C.S., 6(64): 839-853.
 - 5 . Martinez WH, Berardi LC and Goldblat IA (1970) Cottonseed protein product-composition and functionality. J. Agric food chem. 6(18): 961-976.
 - 6 . Michael DB and Hamed KA (2001) Mechanically processing cottonseed to reduce Gossypol and Aflatoxin levels, J. of Toxicology 3(20): 179-208.
 - 7 . Stolof L and Trucksess M (1976) The flat of aflatoxins in the preparation of protein concentrated and isolates from contaminated peanut and cottonseed flours. J. of food science 3(56): 422-424.
 - 8 . Verery MC (1971) Technology for the production of protein foods from cottonseed flour. F.A.O. Rom. 12-35.
 - 9 . Wan PJ, Green J and Cater CM, Mattil KF (1979) Factors influencing the color of cottonseed protein products. J. of food science 2(44): 475-479.

Production of edible Cottonseed protein concentrates by Mixed Solvent (Water: Acetone: Hexane)

M. A. Najafi * and M. H. Hadad Khodaparast **

Abstract

Cottonseed is considered among most important crops. It contains about 26 percent oil that is used for vegetable oil production. After oil extraction, the remaining part of the seed known as cottonseed cake with 45 percent protein is routinely used as a protein supplement in feed rations for livestock and less for food use due to presence of gossypol, a toxic constituent of cottonseed.

In this study, the production of edible protein concentrate from Varamin variety of cottonseed cake was evaluated according to protein Advisory Group Standard by using mixture of water: acetone: hexane in a ratio of (1: 39: 60), (3: 53: 44) and (3: 67: 30) respectively as a solvent for wet extraction of protein. The fiber content, Protein content, Nitrogen solubility value, oils and free as well as total gossypol contents of all samples were determined. The results showed that the protein concentrate extracted by the mixture of water: acetone: hexane in a ratio of 1: 39: 60 respectively meet the world standards as edible protein.

Key words: Concentrate; Cottonseed; Meal; Mixed solvent; Protein

* - Academic member, Food science Department, Agriculture Faculty, Zabol University, Sistan Baloochestal - Iran

** - Associate Professor, Food science Department, Agri. Faculty, Ferdosy Uni., Khorasan – Iran