مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد دوم، شماره اول، بهار ۸۹
۸۹-۶۹
http://ejfpp.gau.ac.ir

# نگرشی جدید در تولید کنسانتره پروتئینی کانولا: هیدرولیز *in vitro* محصولات کانولای (*Brasscia napus*) فرآوری شده منتخب با غلظت‌های مختلف آنزیم فیتاز و شستشو با محلول متانول آمونیاکی

*امید صفری[۱]، مهرداد فرهنگی[۲]، کریس کارتر[۳]، باقر یخچالی[۴] و پروین شورنگ[۵]
[۱]استادیار گروه محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد، [۲]استادیار گروه شیلات دانشگاه تهران، [۳]استاد پژوهشکده شیلات و آبزی‌پروری دانشگاه تاسمانیا، استرالیا، [۴]دانشیار گروه زیست فناوری صنعت و محیط زیست پژوهشکده ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، [۵]استادیار پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای سازمان انرژی اتمی
تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۸

## چکیده

استفاده از کنجاله کانولا به‌رغم ترکیب پروتئینی مناسب آن به‌دلیل وجود برخی ترکیبات ضدتغذیه‌ای هم‌چون فیبر، فیتات، گلوکوسینولات و تانن محدود می‌باشد. در این آزمایش برای بررسی تأثیر فرآوری با آنزیم فیتاز و شستشو با محلول متانول آمونیاکی بر ترکیبات شیمیایی سه محصول فرآوری شده کنجاله کانولا با همی‌سلولاز (۰/۱۰ و ۰/۱۵ درصد از کنجاله) و پکتیناز (۰/۱۵ درصد از کنجاله)، از ۳ غلظت (۴۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۶۰۰۰ واحد در کیلوگرم) آنزیم فیتاز در سه تکرار در قالب یک طرح فاکتوریل استفاده گردید. با افزایش غلظت فیتاز مقدار فیتات کاهش و میزان پروتئین خام افزایش یافت. شستشو با محلول متانول آمونیاکی در تمام کنجاله‌های فرآوری شده با آنزیم‌های کربوهیدراز به‌طور میانگین مقدار گلوکوسینولات (از ۴/۹۳ به ۱/۹۸ میکرومول در گرم ماده خشک) و تانن (از ۱/۵۳ به ۱/۱۴ درصد) را کاهش و میزان پروتئین خام (از ۴۱/۸۷ به ۴۲/۷۹ درصد)، فیتات (از ۲/۰۶ به ۳/۰۲ درصد)، فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی (از ۲۴/۵۰ درصد به ۲۶/۸۴ درصد) و خنثی (از ۲۷/۳۵ به ۲۹/۱۱ درصد) را افزایش داد. محصول فرآوری شده با پکتیناز ۰/۱۵، فیتاز و محلول متانول آمونیاکی حاوی کم‌ترین مقدار گلوکوسینولات (۳/۲۶ میکرومول در گرم ماده خشک)

* مسئول مکاتبه: omid_safary@yahoo.com

در مقایسه با بقیه محصولات بود. در نهایت، از طریق آزمون تجزیه به مؤلفه اصلی شاخص‌های مورد مطالعه، اولویت نسبی انتخاب تیمارها براساس میانگین وزنی به‌صورت پکتیناز ۰/۱۵ و ۵۰۰۰ و ۶۰۰۰ واحد فیتاز در کیلوگرم و سپس پکتیناز ۰/۱۵ به‌همراه ۴۰۰۰ واحد فیتاز در کیلوگرم تعیین شد.

***واژه‌های کلیدی***: کنجاله کانولا، فرآوری، فیتاز، گلوکوسینولات، کنسانتره پروتئینی

**مقدمه**

کانولا یکی از دانه‌های مهم روغنی محسوب می‌شود. در سال زراعی ۲۰۱۱-۲۰۱۰، تولید جهانی دانه کلزا/ کانولا به ۵۸ میلیون تن (۱۳ درصد از تولید کل) رسید که بعد از دانه سویا (۵۷ درصد تولید جهانی) در مقام دوم قرار دارد [۳۱]. کنجاله کانولا دومین فرآورده پروتئینی گیاهی بعد از کنجاله سویا محسوب می‌شود که ۱۳ درصد از تولید جهانی کنجاله‌های پروتئینی (۲۵۳/۲۷ میلیون تن) را به خود اختصاص می‌دهد [۳۱].

استفاده از کنجاله کانولا در تغذیه انسان یا حیوانات به‌رغم ترکیب پروتئینی مناسب آن به‌دلیل وجود برخی ترکیبات ضدتغذیه‌ای محدود گردیده است [۲]. علاوه‌بر فیبر، وجود مواد ضدتغذیه‌ای هم‌چون فیتات، گلوکوسینولات و تانن، استفاده از این منبع پروتئینی ارزشمند را با مشکل مواجه نموده است. فیتات، گلوکوسینولات و تانن حداکثر ۱۰ درصد وزن کنجاله کانولا را به خود اختصاص می‌دهند [۲]. مقدار فیتات در دانه خشک کانولا ۲/۵ درصد [۱٤] و در کنجاله آن ٦-۳ درصد [۲] است. نسبت فسفر فیتاته به فسفر کل در کنجاله کانولا ٦٦ درصد می‌باشد که از این نظر در بین دانه‌های روغنی پس از کنجاله پنبه دانه در مقام دوم قرار دارد [۳]. روش‌های متنوعی مانند خیساندن، پختن، جوانه‌زنی، استفاده از روش اکستروژن، پوسته‌زدایی، تخمیر، ذخیره در انبار، اشعه‌دهی و استفاده از آنزیم فیتاز برای کاهش مقدار فیتات در اجزای غذایی وجود دارد [۲٦]. استفاده از آنزیم فیتاز یکی از مؤثرترین روش‌ها در این زمینه محسوب می‌شود [۳]. عملکرد آنزیم فیتاز به عواملی مختلفی مانند درجه حرارت، pH، نسبت کلسیم به فسفر، نوع افزودنی‌های غذایی (ویتامین D و اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک)، نوع روش فرآوری (هیدرولیز *in vivo* یا *in vitro*)، منشاء آنزیم (میکروبی، گیاهی و حیوانی) و نحوه عمل آنزیم (مؤثر بر روی یکی از گروه‌های فسفاته سوم، پنجم یا ششم) بستگی دارد

[۳، ٢٤]. از این آنزیم به دو صورت *in vivo* (اسپری بر روی غذا و یا به‌صورت مخلوط در غذا برای مصرف مستقیم توسط موجود هدف) یا *in vitro* (پیش هضم اقلام غذایی به‌صورت هدفمند) استفاده می‌گردد. به تازگی هیدرولیز *in vitro* به‌دلیل کارآیی بالا، مقدار آنزیم مصرفی کمتر [۳، ٤] و چالش در پیش روی ایمنی غذایی [۲۰] مورد توجه بیشتری قرار گرفته است. هر چند اطلاعات گسترده‌ای در ارتباط با تاثیرات منفی فیتات بر قابلیت هضم پروتئین، چربی و کربوهیدرات و استفاده از مواد معدنی در منابع وجود دارد با این‌حال تاثیرات مثبت آن به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی (روده بزرگ، سینه، پروستات، لوزالمعده و خون/ مغز استخوان) و ضد بیماری قلبی و چربی [۱۳]، این ترکیب را به‌همراه آنزیم فیتاز به‌عنوان غذا دارو [٢٤] مطرح نموده است. حداکثر سطح قابل تحمل فیتات در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان به‌عنوان موجود مدل حساس ۰/۵ درصد گزارش شده است [۱۷]، با این‌حال در ارتباط با حداکثر سطح مجاز فیتات [۱۳] موجود در جیره غذایی انسان اطلاعاتی در دست نیست.

گلوکوسینولات، ترکیبی تیوگلوکوسیدی است که مقدار آن در کنجاله کانولا باید کمتر از ۳۰ میکرومول در گرم باشد. این ترکیب تحت‌تأثیر نوع واریته [۳۰]، اقلیم و زمان کشت قرار داشته و به دست‌کاری‌های ژنتیکی نیز جواب می‌دهد [۱۵]. روش‌های فرآوری متفاوتی برای حذف یا کاهش گلوکوسینولات (هم‌چون پرتودهی با میکروویو، استفاده از روش اکستروژن، میکرونه‌سازی، عصاره‌گیری با آب، تخمیر در شرایط جامد و...) پیشنهاد شده است [۳۰]. در این ارتباط، عصاره‌گیری با آب، الکل (عمدتاً متانول) و آمونیاک به نسبت ۵، ۸۵ و ۱۰ درصد به‌طور عمده یکی از روش‌های مؤثر در این زمینه می‌باشد [۲۷، ۱۸]. به‌رغم تاثیرات منفی گلوکوسینولات و مشتقات هیدرولیزی آن (پرکاری تیروئید به‌دلیل کمبود ید، پرکاری کلیه، کاهش رشد و...) [۳۰]، این ترکیب دارای ویژگی‌های کارکردی مهمی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی است [۲۱]. آستانه قابل تحمل ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان به گلوکوسینولات مشابه حیوانات تک‌معده‌ای مثل موش ٤-۰/۵ میکرومول در گرم [۳۰] ماده خشک جیره گزارش شده است با این‌حال خلاء اطلاعاتی زیادی در مورد مقادیر مجاز گلوکوسینولات برای بهره‌برداری از پتانسیل غذا دارویی این ترکیب و ترکیبات مشتق شده از آن وجود دارد [۱۱].

ترکیبات فنلی به سه شکل اسیدهای فنلی آزاد (۱۵ درصد)، استری شده (۸۰ درصد) و دارای پیوند نامحلول (۵ درصد) در کنجاله کانولا یافت می‌شوند [۱۲]. تانن‌ها ترکیبات نیتروژن‌دار اسیدهای فنولیک می‌باشند که به مقدار ۳-۱/۵ درصد در کنجاله کانولا وجود دارند [۲]. تانن‌ها از طریق چهار نوع پیوند (هیدروژنی، هیدروفوبی، الکترواستاتیک و کووالانسی) ترکیبات محلول و یا نامحلولی با پروتئین‌ها ایجاد می‌کنند [۱۰]. این ترکیبات در فرآیند هضم مواد غذایی از طریق ایجاد اتصال با آنزیم‌های گوارشی (لیپاز و آمیلاز)، پروتئین‌ها و یا برخی مواد معدنی (مس، کبالت و آهن) دخالت کرده و موجب کاهش جذب ویتامین $B_{۱۲}$ می‌شوند [۱۲، ۹]. هم‌چنین تانن‌ها با ترکیبات ضدتغذیه‌ای دیگر نیز واکنش داده و به‌این طریق اثر تانن یا ترکیب ضدتغذیه‌ای دیگر [۹] را کاهش داده و یا حذف می‌کنند. روش‌های متنوعی (شامل پوسته‌زدایی، اتوکلاو، تخمیر با لاکتوباسیل‌ها، عصاره‌گیری با آب یا با محلول متانول آمونیاکی و...) برای جداسازی تانن متراکم [۱۸، ۹] و ترکیبات فنلی وجود دارد. استفاده از روش عصاره‌گیری با محلول متانول آمونیاکی به نسبت ۵ درصد (آب): ۸۵ درصد (متانول): ۱۰ درصد (آمونیاک) موجب کاهش ۹۷-٦٦ درصدی [۲۷، ۱۲] ترکیبات فنلی و تانن متراکم گردید. هدف از این آزمایش تعیین بهترین سطح استفاده از آنزیم فیتاز و بررسی تأثیر آن به‌همراه شستشو با محلول متانول آمونیاکی بر ترکیب شیمیایی سه محصول کانولا منتخب فرآوری شده (پکتیناز ۰/۱۵ و همی‌سلولاز ۰/۱۰ و ۰/۱۵) (داده‌های منتشر نشده) به‌منظور کاهش میزان فیتات، گلوکوسینولات، تانن، فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی و افزایش مقدار پروتئین خام در راستا تولید کنسانتره پروتئینی کانولا می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

از کنجاله کانولا دو صفر (*Brasscia napus*) شرکت دانه‌های روغنی بهپاک واقع در شهرستان بهشهر استان گلستان، ایران استفاده شد. کنجاله یاد شده در طرحی غربال‌گری با الک استاندارد آزمایشگاهی شماره ١٦ غربال و سپس به‌صورت جداگانه با یکی از آنزیم‌های همی‌سلولاز (در غلظت‌های ۰/۱۰ و ۰/۱۵ درصد از سوبسترا) و پکتیناز (۰/۱۵ درصد از سوبسترا) هیدرولیز گردید (داده‌های منتشر نشده). در این ارتباط از آنزیم فیتاز با منشاء گندم (EC 3.1.3.26) (ساخت شرکت Sigma- Aldrich- Fluka) استفاده شد. تمام مواد مورد استفاده (متانول، آمونیاک، اسید کلریدریک، سولفات سدیم، آنزیم مایروزیناز و...) از نوع درجه آزمایشگاهی بودند.

## روش‌ها

**شرایط هیدرولیز با آنزیم فیتاز و شستشو با محلول متانول آمونیاکی:** شرایط هیدرولیز (pH و درجه حرارت یاد شده) طبق توصیه شرکت سازنده آنزیم به‌ترتیب در حد ۵/۱۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. از آنزیم یاد شده در ۳ غلظت ٤٠٠٠، ٥٠٠٠ و ٦٠٠٠ واحد در کیلوگرم کنجاله کانولا در سه تکرار استفاده گردید. در نهایت محصول تولیدی سه بار با محلول متانول آمونیاکی (آب: متانول: آمونیاک به نسبت ۱۰: ۸۵: ۵ درصد) به‌مدت ۲ ساعت شستشو داده شد. در این مطالعه، یک واحد فیتاز عبارت است از مقدار آنزیمی که یک میکرومول فسفر معدنی را از ۱/۵ میلی‌مولار فیتات در مدت یک دقیقه در شرایط استاندارد (pH ۵/۱۵ و دما ۵۵ درجه سانتی‌گراد) آزاد نماید (شرکت Sigma- Aldrich- Fluka).

برای انجام تیمارهای آنزیمی، ابتدا ۵۰ گرم کنجاله کانولا فرآوری شده به‌دست آمده از مراحل قبل (در سه تکرار) توزین و در ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و پس از تنظیم رطوبت (در حد ۸۰ درصد) به‌مدت ۲۰ دقیقه بر روی شیکر معمولی با ۱۷۰ دور در دقیقه قرار گرفت. در نهایت pH با کمک اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تنظیم و نمونه‌ها به‌مدت ٦ ساعت در داخل حمام شیکردار با ۱۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. درصورت لزوم در فواصل زمانی یک ساعته pH مجددا تنظیم شد. بعد از خشک نمودن کنجاله فرآوری شده با آنزیم فیتاز، نمونه‌ها با محلول متانول آمونیاکی به نسبت ۱۰ برابر وزنی خود در دمای اتاق شستشو داده شدند [۱۸]. برای بررسی تاثیر فرآوری، برای هر یک از تیمارها یک تیمار شاهد نیز در نظر گرفته شد.

**شاخص‌های مورد مطالعه:** ماده خشک نمونه‌ها در دما ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٦ ساعت و پروتئین خام با استفاده از روش کلدال (N×٦/٢٥) تعیین گردید [۱]. ترکیبات فیبری همچون فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی به‌صورت مرحله‌ای با استفاده از تجزیه‌کننده اتوماتیک فیبر (Fibertec System, M, Tecator, Hoganas, Sweden) اندازه‌گیری شدند [۳۲]. مقدار فیتات از طریق عصاره‌گیری با اسید کلریدریک و سولفات سدیم و قرائت در طول موج ٦٦٠ نانومتر [۵]، تانن از طریق روش وانیلین- اسید کلریدریک و قرائت در طول موج ۵۰۰ نانومتر [۲۲] و گلوکوسینولات با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی با کارآئی بالا و براساس اندازه‌گیری گلوکز به‌دست آمده از شکسته شدن گلوکوسینولات به‌وسیله آنزیم مایروزیناز [۲۳] تعیین گردید.

**آنالیز آماری:** همه داده‌های درصدی به‌صورت $\arcsin \sqrt{x}$ تبدیل شدند. بعد از پژوهش دو شرط اصلی تجزیه واریانس (همگن بودن واریانس و نرمال بودن داده‌ها به‌ترتیب با استفاده از آزمون‌های

لیونز و کولموگروف اسیمرنوف) [۳٤]، از آزمون تجزیه واریانس سه‌طرفه (آنزیم‌های کربوهیدراز منتخب x غلظت آنزیم فیتاز x شستشو با محلول متانول آمونیاکی) برای مقایسه واریانس بین تیمارها و از آزمون دانکن برای بررسی وجود یا نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (در سطح اعتماد ۵ درصد) از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد. در نهایت برای تعیین تیمار منتخب از طریق غربال‌گری با استفاده از روش تجزیه به مؤلفه اصلی در آزمون تجزیه واریانس چند متغیره و از طریق میانگین وزنی، تیمارها (در سطح اعتماد ۵ درصد) گروه‌بندی شدند. در ادامه گروه‌بندی تیمارها به‌طور نسبی انجام گردید [۳۳]. در انتها برای تأیید نتایج ناشی از آنالیز تجزیه به مؤلفه اصلی، از آنالیز خوشه‌ای استفاده شد.

## نتایج و بحث

روش‌های متنوعی (مانند اختلاف در حلالیت پروتئین و فیتات، جداسازی غشایی، رزین تعویض یونی، تیمار آنزیمی و...) برای کاهش فیتات موجود در کنجاله کانولا به‌ویژه در زمان تهیه ایزوله و کنسانتره پروتئینی کانولا وجود دارد [۲۹]. هر چند هیدرولیز کامل فیتات با ۵۰۰۰ واحد بر کیلوگرم فیتاز در دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد و با نسبت آب به کنجاله ۲:۱ در مدت ۲۳ ساعت گزارش گردیده است [۱۹]، با این حال در رابطه با تاثیر پیش تیمار توصیه شده کنجاله کانولا یا هر فرآورده پروتئینی گیاهی دیگری مانند کنجاله سویا از طریق تنظیم pH، درجه حرارت، رطوبت، افزودن آنزیم‌های غیرفیتازی مانند پروتئازها و کربوهیدرازها با هدف هیدرولیز فیتات مقاوم به هیدرولیز مطالعه‌ای صورت نگرفته است [۲۵،۱۸،۸،٤]. در تعریف واحد بین المللی آنزیم فیتاز با هدف تعیین غلظت مطلوب اطلاعات پراکنده‌ای وجود دارد. به‌عنوان مثال، برخی ۵۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز در کیلوگرم کنجاله کانولا را مناسب اعلام نموده‌اند و یک واحد فیتاز را برابر با آزاد شدن یک میلی‌مول فسفات در دقیقه تعریف کرده‌اند [۱۹] ولی میزان فعالیت در این غلظت، ۱۰۰۰ برابر بیشتر از غلظت توصیه شده [۲، ۱۸] ۵۰۰۰ واحد فیتاز در گرم کنجاله کانولا موجود در گزارش‌های دیگر است. در این مطالعه، یک واحد فیتاز برابر با آزادسازی یک نانو مول فسفات در دقیقه در نظر گرفته شده است. در منابع موجود ارتباط بین غلظت آنزیم فیتاز و مقدار فعالیت آن به روشنی مورد توجه قرار نگرفته است. با استناد به مشاهدات ارائه شده، توصیه می‌شود که در آینده فعالیت آنزیم‌های مختلف به‌صورت یکسان در قالب استانداردهای بین المللی مدون تعریف شود تا مقایسه نتایج پژوهش‌های مختلف به‌صورت دقیق‌تری انجام شود. تغییر در یک جزء ماتریکس غذایی موجب تغییر در ترکیب شیمیایی بقیه اجزاء می‌گردد. مطالعات محدودی در ارتباط با تأثیر فیتاز و شستشو با محلول متانول آمونیاکی

بر ترکیب شیمیایی (پروتئین خام، فیتات، تانن، گلوکوسینولات، فیبرهای به‌دست آمده از هضم بـا محلـول اسیدی و خنثی) محصولات فرآوری شده کنجاله کانولا وجود دارد [۱۸] ولـی تـاکنون هـیچ‌گونـه تحلیـل آماری برای مقایسه تأثیر تیمارها در این زمینه انجام نشده است. در این مطالعه سعی شد تا با ثابـت نمـودن عوامل مؤثر بر هیدرولیز (طبق توصیه شرکت سازنده) نسبت به تعیین مؤثرترین غلظت آنزیم فیتاز و سپس شستشو با محلول متانول آمونیاکی بر سه ترکیب شیمیایی کنجاله کانولا فرآوری شده منتخب در راستا تولید کنسانتره پروتئینی اقدام شود. در این آزمایش محصولات هیدرولیز شده با آنزیم‌های همی‌سلولاز و پکتیناز و سپس فیتاز به نام محصول اولیه هیدرولیز شده با آنزیم‌های کربوهیدرازی نام‌گذاری گردیدند.

## پروتئین خام

**تأثیر کربوهیدرازهای منتخب و تأثیر غلظت فیتاز:** همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود مقدار پروتئین خام محصول فرآوری شده با پکتیناز ۰/۱۵ به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیش‌تر (٤٦/٣٨ درصد) از محصولات فرآوری شده با همی‌سلولاز ۰/۱۵ (٤١/٣ درصد) و همی‌سلولاز ۰/۱۰ (٣٩/٤٨ درصد) بود. مقدار پروتئین خام محصولات فرآوری شده (به‌طور میانگین) با افزایش غلظت آنزیم فیتاز از ٤٠٠٠ تا ٥٠٠٠ واحد به‌ازای هر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش و سپس با افزایش غلظت از ٥٠٠٠ به ٦٠٠٠ واحد به‌ازای هر کیلوگرم کاهش یافت (جدول ۱). با افزایش غلظت فیتاز (از ٤٠٠٠ به ٦٠٠٠ واحد به‌ازای هر کیلوگرم) در مورد تمام محصولات فرآوری شده مقدار پروتئین خام تفاوت آماری معنی‌داری (P<۰/۰۵) با تیمار شاهد داشت (جدول ۲)، مرحله قبل از شستشو با محلول متانول آمونیاکی نشان‌دهنده تأثیر فیتاز بر مقدار پروتئین خام می‌باشد. در این ارتباط هیدرولیز با فیتاز بر مقدار پروتئین خام محصول فرآوری شده با پکتیناز (به‌طور میانگین) بیشترین تأثیر (٤٥/٤ درصد در مقایسه با ٣٧/٤٦ درصد تیمار شاهد) را بر جای گذاشت ولی در مورد دو تیمار همی‌سلولاز ۰/۱۰ (٣٩/٣٥ درصد در مقایسه با ٣٨/٣٧ درصد) و همی‌سلولاز ۰/۱۵ (٤٠/٨٧ درصد در مقایسه با ٣٨/٨٥ درصد) دارای روند ملایم‌تری بود (جدول ۲).

در این مطالعه نوع سوبسترای تیمار شده بر مقدار پروتئین خام مؤثر بـود. کنجالـه تیمـار شـده بـا پکتیناز ۰/۱۵ درصد حاوی بیش‌ترین مقدار پروتئین خام (٤٦/٣٨ درصد) بود. با توجه به بررسی منـابع انجام شده گزارشی برای مقایسه در این زمینه یافت نگردید. بیش‌ترین مقدار ترکیبات پلـی‌سـاکاریدی دیواره سلولی کانولا مربوط به ترکیبات پکتینی (٣٩ درصد) و همی‌سلولز (٢٩ درصد) می‌باشد [٦]. بـا توجه به ماهیت زمینه‌ای پکتین به‌عنوان سوبسترا، در این مطالعه فرآوری کنجاله کانولا با آنزیم پکتینـاز

از طریق تغییر در ساختار کربوهیدراتی، آن را برای فرآوری‌های بعدی (تیمار با آنزیم فیتاز و شستشو با محلول متانول آمونیاکی) آماده نمود. به‌عبارت دیگر استفاده از آنزیم پکتیناز به‌عنوان پیش‌تیمار، نقش مؤثرتری نسبت به سایر کربوهیدرازها داشته است. در این مطالعه مقدار پروتئین خام کنجاله کانولای تیمار شده با آنزیم فیتاز (از ٤٠٠٠ تا ٥٠٠٠ واحد در کیلوگرم کنجاله) افزایش و سپس با افزایش غلظت فیتاز (از ٥٠٠٠ تا ٦٠٠٠ واحد در کیلوگرم کنجاله) کاهش یافت. آنزیم فیتاز از طریق هیدرولیز [٢٤،١٣،٤] پیوندهای پروتئین با فیتات باعث افزایش مقدار پروتئین خام شد. برخی نیز افزایش مقدار پروتئین خام کنجاله کانولا فرآوری شده با آنزیم فیتاز (از ٣٩/١ درصد به ٤٨/٢ درصد) [١٨] را گزارش نموده‌اند. با افزایش غلظت آنزیم فیتاز از ٥٠٠٠ به ٦٠٠٠ واحد در کیلوگرم، مقدار پروتئین خام کاهش یافت. دلیل این امر ممکن است مربوط به افزایش غلظت ترکیبات محلول در فاز مایع و تأثیر بر کارآیی عملکرد آنزیم فیتاز باشد.

**تأثیر شستشو با محلول متانول آمونیاکی:** مقدار پروتئین خام محصولات فرآوری شده با محلول متانول آمونیاکی به‌صورت معنی‌داری (P<٠/٠٥) از ٤١/٨٧ درصد به ٤٢/٧٩ درصد افزایش یافت (جدول ١). افزایش مقدار پروتئین خام در کنجاله فرآوری شده با پکتیناز ٠/١٥ پس از شستشو با محلول متانول آمونیاکی از نظر آماری مشهودتر از بقیه تیمارها بود (جدول ٢)، هر چند در این گروه نیز به‌طور میانگین مقدار پروتیئن خام از ٤٥/٤ درصد قبل از شستشو به حدود ٤٧/٤ درصد بعد از شستشو با محلول متانول آمونیاکی افزایش یافت. مقدار پروتئین خام تمام محصولات فرآوری شده (همی‌سلولاز ٠/١٠ و ٠/١٥ و پکتیناز ٠/١٥) بعد از شستشو با متانول آمونیاکی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری (P<٠/٠٥) داشت (جدول ٢). بررسی نقش شستشو با محلول متانول آمونیاکی امکان مطالعه تأثیر این روش فرآوری را بر مقدار ترکیبات شیمیایی محصولات آشکار می‌نماید. در این ارتباط بیش‌ترین تأثیر بر مقدار پروتئین خام به‌ترتیب مربوط به همی‌سلولاز ٠/١٥ (٤٣/٣٨ درصد در مقایسه با ٤٠/٨٧ درصد)، محصولات پکتیناز ٠/١٥ (٤٧/٤ درصد در مقایسه با ٤٥/٤ درصد) و همی‌سلولاز ٠/١٠ (٣٩/٣٥ درصد در مقایسه با ٣٩/٦٠ درصد) بود (جدول ٢).

شستشو با محلول یادشده موجب حذف یا کاهش مقدار گلوکوسینولات، ترکیبات فنلی، قندهای محلول (ساکارز) و الیگوساکاریدها (رافینوز و استاچیوز) [٢٧،١٨،١٦] و در نتیجه افزایش مقدار پروتئین خام می‌شود. نتایج این مطالعه با نتایج گزارش‌های قبلی [١٨،١٦] در یک راستا می‌باشد. این محققان نیز افزایش ٢ تا ٨ درصدی مقدار پروتئین خام از طریق شستشو با محلول متانول آمونیاکی را گزارش نموده‌اند هر چند که تأثیر این تیمار به‌دلیل عدم بررسی آماری قابل استناد نبود.

**جدول۱- مقایسه میانگین ترکیب شیمیایی کنجاله کانولای فرآوری شده با غلظت‌های مختلف فیتاز و شستشو با محلول متانول آمونیاکی (مقادیر به صورت میانگین گزارش گردید)**

| مقدار (درصد از ماده خشک) | محصول فرآوری شده (P) با | | | SEM | غلظت فیتاز (D) (IU/ Kg CM) | | | SEM | شستشو (W) با محلول متانول آمونیاکی | | SEM | سطح معنی داری | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | همی-سلولاز (۰/۱۰) | همی-سلولاز (۰/۱۵) | پکتیناز (۰/۱۵) | | ۴۰۰۰ | ۵۰۰۰ | ۶۰۰۰ | | قبل | بعد | | P | D | W | P*D | P*W | D*W | P*D*W |
| پروتئین خام | ۳۹/۴۸$^{a}$ | ۴۱/۱۳$^{b}$ | ۴۶/۳۸$^{c}$ | ۰/۰۵۳ | ۴۱/۶۵$^{a}$ | ۴۲/۸۹$^{c}$ | ۴۲/۴۵$^{b}$ | ۰/۰۵۳ | ۴۱/۸۷$^{a}$ | ۴۲/۷۹$^{b}$ | ۰/۰۴۳ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۲۱۸ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۲۲۳ |
| فیتات | ۳/۲۹$^{c}$ | ۲/۸۵$^{b}$ | ۱/۴۹$^{a}$ | ۰/۰۴۱ | ۳/۲۱$^{b}$ | ۲/۲۲$^{a}$ | ۲/۲۰$^{a}$ | ۰/۰۴۱ | ۲/۰۹$^{a}$ | ۳/۰۲$^{b}$ | ۰/۰۳۴ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۸۷۸ | ۰/۱۱۰ | ۰/۰۰۰۱ | ۱/۰۰ |
| گلوکوسینولات (میکرومول بر گرم) | ۳/۷۰$^{c}$ | ۳/۴۱$^{b}$ | ۳/۲۶$^{a}$ | ۰/۰۳۳ | ۴/۱۵$^{c}$ | ۳/۲۴$^{b}$ | ۲/۹۷$^{a}$ | ۰/۰۳۳ | ۴/۹۳$^{b}$ | ۱/۹۸$^{a}$ | ۰/۰۲۷ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۱۴ | ۰/۰۱۸ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۳۷۹ |
| تانن (میکرومول بر گرم) | ۱/۱۸$^{a}$ | ۱/۵۹$^{c}$ | ۱/۲۶$^{b}$ | ۰/۰۰۷ | ۱/۳۹$^{c}$ | ۱/۳۳$^{b}$ | ۱/۲۹$^{a}$ | ۰/۰۰۷ | ۱/۵۳$^{b}$ | ۱/۱۴$^{a}$ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۱۸ |
| فیبر حاصل از هضم با محلول اسیدی (میکرومول بر گرم) | ۲۶/۳۲$^{b}$ | ۲۴/۱۹$^{a}$ | ۲۶/۵۰$^{b}$ | ۰/۰۷۸ | ۲۵/۶۹$^{a}$ | ۲۵/۶۳$^{a}$ | ۲۵/۶۹$^{a}$ | ۰/۰۷۸ | ۲۴/۵۰$^{a}$ | ۲۶/۸۴$^{b}$ | ۰/۰۶۳ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۸۲۷ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۹۹۷ | ۰/۴۶۳ | ۰/۹۱۳ | ۰/۹۹۹ |
| فیبر حاصل از هضم با محلول خنثی | ۲۸/۶۶$^{b}$ | ۲۵/۴۴$^{a}$ | ۳۰/۵۹$^{c}$ | ۰/۰۶۶ | ۲۸/۲۵$^{a}$ | ۲۸/۱۹$^{a}$ | ۲۸/۲۵$^{a}$ | ۰/۰۶۶ | ۲۷/۳۵$^{a}$ | ۲۹/۱۱$^{b}$ | ۰/۰۵۴ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۷۴۸ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۹۹۱ | ۰/۲۵۳ | ۰/۸۹۴ | ۰/۹۹۹ |

* ردیف‌های با حداقل یک حرف غیر مشترک با یکدیگر تفاوت آماری معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

**جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر هیدرولیز با غلظت‌های مختلف آنزیم فیتاز و شستشو با محلول متانول آمونیاکی بر ترکیب شیمیایی محصولات فرآوری شده.**

| غلظت فیتاز (IU/ Kg) | شستشو با محلول متانول آمونیاکی | پروتئین (درصد) | فیتات (درصد) | گلوکوسینولات (میکرومول بر گرم ماده خشک) | تانن (درصد) | فیبر به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی (درصد) | فیبر به‌دست آمده از هضم با محلول خنثی (درصد) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| فرآورده منتخب تیمار شده با آنزیم همی‌سلولاز (به غلظت ۰/۱۰ درصد از کنجاله کانولا) | | | | | | | |
| شاهد | – | ۳۸/۳۷$^{a}$ | ٦/۸٤$^{d}$ | ۸/۱۱$^{f}$ | ۱/۸۷$^{f}$ | ۲٤/٦٦$^{a}$ | ۲۷/۳۰$^{a}$ |
| ٤۰۰۰ | قبل | ۳۹/۳٤$^{bcd}$ | ۳/۱٤$^{b}$ | ٥/٦۸$^{e}$ | ۱/٤۳$^{d}$ | ۲٥/۱٥$^{a}$ | ۲۷/۸۱$^{a}$ |
| ٥۰۰۰ | | ۳۹/۰۲$^{b}$ | ۲/٦٥$^{a}$ | ٤/۹٦$^{d}$ | ۱/٤۷$^{e}$ | ۲٥/۱۳$^{a}$ | ۲۷/۷۷$^{a}$ |
| ٦۰۰۰ | | ۳۹/۷۰$^{de}$ | ۲/٦٥$^{a}$ | ٤/۷٦$^{d}$ | ۱/٤۰$^{d}$ | ۲٥/۱٤$^{a}$ | ۲۷/۸۰$^{a}$ |
| ٤۰۰۰ | بعد | ۳۹/٥۹$^{cde}$ | ٥/۰۳$^{c}$ | ۳/۳۷$^{c}$ | ۱/۰۸$^{b}$ | ۲۷/٥٦$^{b}$ | ۲۹/٦۰$^{b}$ |
| ٥۰۰۰ | | ۳۹/۱۹$^{bc}$ | ۳/۱٥$^{b}$ | ۱/۹۱$^{b}$ | ۱/۱۷$^{c}$ | ۲۷/٤۱$^{b}$ | ۲۹/٤٥$^{b}$ |
| ٦۰۰۰ | | ٤۰/۰۳$^{e}$ | ۳/۱٥$^{b}$ | ۱/٥۰$^{a}$ | ۱/۰۳$^{a}$ | ۲۷/٥۱$^{b}$ | ۲۹/٥٥$^{b}$ |
| خطای استاندارد | | ۰/۱٤۰ | ۰/۱۰۷ | ۰/۰۹٥ | ۰/۰۱۱ | ۰/۲۲۲ | ۰/۱۹٤ |
| سطح معنی‌داری | | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ |
| فرآورده منتخب تیمار شده با آنزیم همی‌سلولاز (به غلظت ۰/۱٥ درصد از کنجاله کانولا) | | | | | | | |
| شاهد | – | ۳۸/۸٥$^{a}$ | ٦/۲۸$^{d}$ | ۸/۳۸$^{e}$ | ۱/۹۳$^{e}$ | ۲۲/٥٤$^{a}$ | ۲۳/۹٥$^{a}$ |
| ٤۰۰۰ | قبل | ۳۹/۸٦$^{b}$ | ۲/٦۰$^{b}$ | ٥/۲۷$^{d}$ | ۱/٤٦$^{d}$ | ۲۲/۹۷$^{b}$ | ۲٤/٦٥$^{b}$ |
| ٥۰۰۰ | | ٤۲/٥۱$^{c}$ | ۲/۱۹$^{a}$ | ٤/۷٤$^{c}$ | ۱/۳۸$^{c}$ | ۲۲/۹٦$^{b}$ | ۲٤/٦۳$^{b}$ |
| ٦۰۰۰ | | ٤۰/۲٤$^{b}$ | ۲/۱۷$^{a}$ | ٤/٦۸$^{c}$ | ۱/۳۸$^{c}$ | ۲۲/۹۸$^{b}$ | ۲٤/٦۸$^{b}$ |
| ٤۰۰۰ | بعد | ٤۰/۱۲$^{b}$ | ٤/٥٥$^{c}$ | ۲/۷۲$^{b}$ | ۱/۰٦$^{b}$ | ۲٥/۳۹$^{c}$ | ۲٦/۲۰$^{c}$ |
| ٥۰۰۰ | | ٤۳/٤۳$^{d}$ | ۲/۸۳$^{b}$ | ۱/٥۹$^{a}$ | ۰/۸۹$^{a}$ | ۲٥/۳٤$^{c}$ | ۲٦/۱٥$^{c}$ |
| ٦۰۰۰ | | ٤۰/٥۹$^{b}$ | ۲/۷٦$^{b}$ | ۱/٤۷$^{a}$ | ۰/۹۰$^{a}$ | ۲٥/٤۹$^{c}$ | ۲٦/۳۰$^{c}$ |
| خطا استاندارد | | ۰/۲٥۳ | ۰/۰۹۷ | ۰/۰۸٥ | ۰/۰۱٤ | ۰/۱۲٤ | ۰/۱۱۱ |
| سطح معنی‌داری | | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ |
| فرآورده منتخب تیمار شده با آنزیم پکتیناز (به غلظت ۰/۱٥ درصد از کنجاله کانولا) | | | | | | | |
| شاهد | – | ۳۷/٤٦$^{a}$ | ٤/۱٤$^{d}$ | ۷/۸۸$^{f}$ | ۲/۱۸$^{e}$ | ۲٤/۷۲$^{a}$ | ۲۹/۲۸$^{a}$ |
| ٤۰۰۰ | قبل | ٤٤/٦۱$^{b}$ | ۱/۲۱$^{b}$ | ٥/۲۱$^{e}$ | ۱/۸۱$^{d}$ | ۲٥/٤۰$^{a}$ | ۲۹/٦۱$^{a}$ |
| ٥۰۰۰ | | ٤٥/٥۷$^{c}$ | ۰/۹۹$^{a}$ | ٤/٦۸$^{d}$ | ۱/۷۳$^{cd}$ | ۲٥/۳۸$^{a}$ | ۲۹/٦۰$^{a}$ |
| ٦۰۰۰ | | ٤٦/۰۰$^{d}$ | ۰/۹۹$^{a}$ | ٤/٤۱$^{d}$ | ۱/۷۲$^{c}$ | ۲٥/۳۹$^{a}$ | ۲۹/٦۰$^{a}$ |
| ٤۰۰۰ | بعد | ٤٦/٤۰$^{e}$ | ۲/۷٥$^{c}$ | ۲/٦٤$^{c}$ | ۱/٤۸$^{b}$ | ۲۷/٦۷$^{b}$ | ۳۱/٦۳$^{b}$ |
| ٥۰۰۰ | | ٤۷/٥۹$^{f}$ | ۱/٥۰$^{b}$ | ۱/٥۸$^{b}$ | ۱/۳۳$^{a}$ | ۲۷/٥۷$^{b}$ | ۳۱/٥۳$^{b}$ |
| ٦۰۰۰ | | ٤۸/۱۳$^{g}$ | ۱/٤۹$^{b}$ | ۱/۰۲$^{a}$ | ۱/۳۰$^{a}$ | ۲۷/٦۲$^{b}$ | ۳۱/٥۸$^{b}$ |
| خطای استاندارد | | ۰/۰۹۷ | ۰/۱۰۰ | ۰/۰٥۷ | ۰/۰۲٤ | ۰/۲۰۰ | ۰/۱٦۱ |
| سطح معنی‌داری | | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ |

* ستون‌های با حداقل یک حرف غیرمشترک با یکدیگر تفاوت آماری معنی‌دار دارند ($P<۰/۰٥$).

**ترکیبات ضدتغذیه‌ای (فیتات، گلوکوسینولات و تانن)**

**تاثیر کربوهیدرازهای منتخب و تأثیر غلظت فیتاز:** همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود مقدار فیتات محصول فرآوری شده با پکتیناز ۰/۱۵ (۱/٤۹ درصد) به‌صورت معنی‌داری (P<۰/۰۵) کم‌تر از همی‌سلولاز ۰/۱۵ (۲/۸۵ درصد) و همی‌سلولاز ۰/۱۰ درصد (۳/۲۹ درصد) بود. مقدار گلوکوسینولات در محصولات فرآوری شده با پکتیناز ۰/۱۵ به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کم‌تر از همی‌سلولاز ۰/۱۵ و همی‌سلولاز ۰/۱۰ درصد و به‌ترتیب معادل ۳/۲٦، ۳/٤۱ و ۳/۷۰ میکرومول بر گرم ماده خشک بوده است (جدول ۱). مقدار تانن در محصولات فرآوری شده با همی‌سلولاز ۰/۱۰ (۱/۱۸ درصد)، پکتیناز ۰/۱۵ (۱/۲٦ درصد) و همی‌سلولاز ۰/۱۵ (۱/٥٦ درصد) تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) با یکدیگر نشان داد (جدول ۱). با افزایش غلظت فیتاز (از ٤۰۰۰ به ٥۰۰۰ واحد در کیلوگرم) مقدار فیتات در محصولات فرآوری شده به‌صورت معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش یافت (جدول ۱). اگرچه با افزایش غلظت فیتاز به بیش از ٥۰۰۰ واحد بر کیلوگرم، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول‌های ۱ و ۲). هر چند مقدار فیتات در تیمار شاهد محصول پکتیناز ۰/۱۵ کم‌تر از بقیه محصولات بوده ولی با افزایش غلظت فیتاز مقدار کاهش فیتات (۷٤ درصد) در این محصول (از ٤/۱٤ به ۱/۰٦ درصد) بیش‌تر از دو محصول فرآوری شده دیگر بود. مقدار فیتات در همی‌سلولاز ۰/۱۵ حدود ٦۳ درصد (از ٦/۲۸ به ۲/۳۲ درصد) و همی‌سلولاز ۰/۱۰ حدود ٥۹ درصد (از ٦/۸٤ به ۲/۸۱ درصد) کاهش (P<۰/۰۵) یافت (جدول ۲). با افزایش غلظت آنزیم فیتاز از ٤۰۰۰ به ٦۰۰۰ واحد در کیلوگرم، مقدار گلوکوسینولات محصولات فرآوری شده (به‌طور میانگین) به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) از ٤/۱۵ به ۲/۹۷ میکرومول بر گرم ماده خشک کاهش یافت (جدول ۱). مقدار کاهش مقدار فیتات محصولات همی‌سلولاز ۰/۱۵، پکتیناز ۰/۱۵ و همی‌سلولاز ۰/۱۰ نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ٤۱/٥، ۳۹/٥ و ۳٦/۷ درصد بود (جدول ۲). با افزایش غلظت آنزیم فیتاز از ٤۰۰۰ به ٦۰۰۰ واحد در کیلوگرم، مقدار تانن در محصولات فرآوری شده (به‌طور میانگین) به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) از ۱/۳۹ به ۱/۲۹ درصد کاهش یافت (جدول ۱). در محصولات فرآوری شده با همی‌سلولاز ۰/۱۵ (از ۱/۹۳ به ۱/٤۱)، همی‌سلولاز ۰/۱۰ (از ۱/۸۷ به ۱/٤۳ درصد) و پکتیناز ۰/۱۵ (از ۲/۱۸ به ۱/۷٥ درصد)، مقدار تانن در مقایسه با تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵) (جدول ۲).

کم‌ترین مقدار فیتات مربوط به کنجاله تیمار شده با آنزیم پکتیناز ۰/۱۵ درصد (۱/٤۹ درصد) بـود. پیش‌تیمار کنجاله کانولا با آنزیم پکتیناز در راستای پیشنهاد محققان دیگـر [۱۹] در ارتبـاط بـا کـاهش مقدار فیتات مقاوم به هیدرولیز مؤثر بود زیرا هم مقدار فیتات تیمار شاهد یاد شده (٤/١٤ درصد) کم‌تر از سایر تیمارهای شاهد بوده و هم این‌که درصد کاهش فیتات با افزایش غلظت آنزیم فیتاز بیش‌تر (٧٤ درصد) از دو تیمار قبلی (٦٣-٥٩ درصد) بود. غلظت مؤثر ۵۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز در کیلوگرم کنجاله در ارتباط با کاهش مقدار فیتات به‌دلیل عدم نبودن تفاوت آماری معنـی‌دار بـین ۵۰۰۰ و ٦۰۰۰ واحـد انتخاب گردید. اگرچه مقدار غلظت آنزیم فیتاز مورد استفاده در این مطالعه (۵۰۰۰ واحد در کیلوگرم)، غلظت پیشنهادی گزارش‌های قبلی را تأیید می‌نماید [۲۸،۱۸] ولی مقدار فعالیت آن ۱۰۰۰ برابر بیش‌تر از آن گزارش‌ها و در مقابل ۱۰۰۰ برابر کم‌تر از مقدار فعالیت گزارش شـده محققـان دیگـر مـی‌باشـد [۱۹]. آنزیم در طی فرآیند هیدرولیز دست‌نخورده باقی می‌ماند ولی عواملی هم‌چون سرعت تأثیر آنزیم بر روی سوبسترا، نوع سوبسترا (مانند میو- اینوزیتول هگزا فسفات (فیتات) یا پارا نیترو فنیل فـسفات) و دخالت برخی ترکیبات (سولفات آهن دو ظرفیتی، آسکوربیک اسید) در بیـان مقـدار فعالیـت آنـزیم تأثیر می‌گذارند [۷]. از علل این تفاوت فاحش در میزان فعالیـت آنزیمـی مـی‌تـوان بـه نـوع و منـشاء (گیاهی، قارچی و جانوری) تهیه آنزیم، نوع و تاریخچـه قبلـی فـرآوری سوبـسترا، شـرایط و مقیـاس آزمایشگاهی برای بیان هیدرولیز مناسب اشاره نمود. برای مقایسه دقیق‌تـر گـزارش‌هـای بـالا، فعالیـت آنزیمی به‌صورت میکرومول بر دقیقه به‌ازای هر کیلوگرم محصول کانولا محاسبه گردید. بر این اساس، مقدار فعالیت ۵ میکرومول بر دقیقه به‌ازای هر کیلوگرم در ایـن مطالعـه و مطالعـه‌ای دیگـر [۱۹] و در گزارش‌هایی نیز ۰/۰۰۵ میکرومول بر دقیقه به‌ازای هر کیلوگرم کنجاله [۲۸،۱۸] تعیین شد. بنـابراین در صورت در نظر گرفتن هم‌زمان غلظت آنزیم و سرعت هیدرولیز در محاسبات، راهکار عملی‌تری برای بررسی مقدار هیدرولیز سوبسترا به‌دست می‌آید. در این مطالعه غلظت ۵۰۰۰ واحد فیتـاز در کیلـوگرم محصول کانولا فرآوری شده بسیار بیش‌تر از مقدار پیش‌تیمار توصیه شده ۲۵۰ واحد فیتاز در کیلوگرم (یک واحد فیتاز برابر با آزادسازی یک میلی‌مول فسفات در دقیقه می‌باشـد) کنـسانتره پروتئینـی سـویا می‌باشد [٤]. هر چند محققان یاد شده بررسی خاصی در مورد مقدار هیـدرولیز *in vitro* فیتـات ایـن محصول ارایه ندادند. با این‌که مقدار فیتات موجود در کنجاله سویا (۳/۸۸ درصد) تقریباً دو برابر کم‌تر از کنجاله کانولا (٦/٤٥ درصد) [۳] است ولی مقدار غلظت پیشنهادی به‌دست آمده از مطالعـه حاضـر، هنوز زیاد ارزیابی می‌گردد. از این‌رو روش‌های مقرون به صرفه‌تر دیگری مانند تخمیر در شرایط جامد

نیز باید مورد بررسی قرار گیرد. با وجود تشابه در مقادیر فعالیت آنزیمی این مطالعه و مطالعه انجام شده توسط دیگران [۱۹]، عدم مشاهده هیدرولیز کامل با فیتاز را می‌توان به زمان ٦ ساعته در نظر گرفته شده در این مطالعه در مقایسه با زمان به‌نسبت طولانی ۲۳ ساعته محققان یاد شده توضیح داد.

اگرچه کم‌ترین مقدار گلوکوسینولات مربوط به کنجاله تیمار شده با آنزیم پکتیناز ۰/۱۵ درصد (۱/٤۹ درصد) بود ولی در ارتباط با مقدار تانن در کنجاله تیمار شده با آنزیم پکتیناز ۰/۱۵ رفتاری بینابینی مشاهده گردید. با افزایش غلظت فیتاز (از ٤۰۰۰ تا ٦۰۰۰ واحد در کیلوگرم) کاهش معنی‌دار مقدار گلوکوسینولات (از ٤/۱۵ به ۲/۹۷ میکرومول در گرم ماده خشک) و تانن (از ۱/۳۹ به ۱/۲۹ درصد) مشاهده شد. این نتایج بیانگر تأیید کاهش مقادیر این ترکیبات از طریق عصاره‌گیری در آب می‌باشد که با نتایج محققان دیگر در یک راستا است [۳۰،۲۷،۹]. شستشوی کنجاله کانولا با محلول اسیدی در pH ٤/۵ و با نسبت وزنی آب به کنجاله ۱:۹ موجب کاهش ٤۰ درصدی در گلوکوسینولات گردید [١٦]. مقدار حلالیت گلوسینولات در آب و حلال‌های قطبی به طول و نوع زنجیره جانبی آن بستگی دارد [۳۰].

**تأثیر شستشو با محلول متانول آمونیاکی:** مقدار فیتات محصولات فرآوری شده پس از شستشو با محلول متانول آمونیاکی (جدول ۱) به‌صورت معنی‌داری از ۲/۰٦ درصد به ۳/۰۲ درصد افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). مقدار افزایش فیتات محصولات فرآوری شده پکتیناز ۰/۱۵ و همی‌سلولاز ۰/۱۰ و ۰/۱۵ پس از شستشو با محلول متانول آمونیاکی به‌ترتیب ۸۰ درصد (از ۱/۰٦ به ۱/۹۱ درصد)، ٤٦ درصد (از ۲/۳۲ به ۳/۳۸ درصد) و ۳۵ درصد (از ۲/۸۱ به ۳/۷۸ درصد) بود (جدول ۲). شستشو با محلول متانول آمونیاکی موجب کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) مقدار گلوکوسینولات (از ٤/۹۳ به ۱/۹۸ میکرومول بر گرم ماده خشک) در محصولات فرآوری شده در مقایسه با تیمار شاهد گردید (جدول ۱).

افزایش مقدار فیتات به‌دست آمده از این روش فرآوری در گزارش‌های قبلی نیز (از ٤۱/۲ به ٤۹/٤ میکرومول در گرم) گزارش شده‌است [۱۸]. این افزایش در راستا کاهش ترکیبات ضدتغذیه‌ای (مورد اشاره در بند ۳-۱-۲) معقول می‌باشد. محلول متانول آمونیاکی با انحلال ترکیبات قطبی موجب افزایش مقدار فیتات (نامحلول در الکل) در دانه کانولا می‌گردد [۲۷]. برخی نیز افزایش ۳۰-۲۰ درصدی مقدار فیتات را از طریق شستشو با الکل گزارش کرده‌اند [١٦]. با توجه به تغییر در ماتریکس شیمیایی کنجاله کانولا، بررسی ماده غذایی یاد شده بعد از هر روش فرآوری بسیار مهم ارزیابی می‌گردد.

مقدار گلوکوسینولات در محصولات فرآوری شده پکتیناز ۰/۱۵، همی‌سلولاز ۰/۱۵ و ۰/۱۰ پس از شستشو با محلول متانول آمونیاکی به‌ترتیب ٦٣ درصد (از ٤/٧٧ به ١/٧٥ میکرومول بر گرم ماده خشک)، ٦١ درصد (از ٤/٩٠ به ١/٩٣ میکرومول بر گرم ماده خشک) و ٥٦ درصد (از ٥/١٣ به ٢/٢٦ میکرومول بر گرم ماده خشک) کاهش یافت (جدول ٢). شستشو با محلول متانول آمونیاکی موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) مقدار تانن (از ١/٥٣ به ١/١٤ درصد) در محصولات فرآوری شده نسبت به مرحله قبل از شستشو گردید (جدول ١). مقدار تانن در کنجاله کانولای فرآوری شده با همی‌سلولاز ۰/۱۵ و ۰/۱۰ و پکتیناز ۰/۱۵پس از شستشو با محلول متانول آمونیاکی به‌ترتیب ٣٢/٦ درصد (از ١/٤١ به ۰/۹۵ درصد)، ٢٣/٨ درصد (از ١/٤٣ به ١/٠٩ درصد) و ٢١/٧ درصد (از ١/٧٥ به ١/٣٧ درصد) کاهش یافت (جدول ٢).

شستشو با محلول متانول آمونیاکی به‌طور میانگین موجب کاهش گلوکوسینولات (از ٤/٩٣ به ١/٩٨ میکرومول بر گرم ماده خشک) و تانن (از ١/٥٣ به ١/١٤ درصد) گردید. نتایج این مطالعه با نتایج محققان دیگر در رابطه با کاهش مقدار گلوکوسینولات (از ۹/۰ به ۱/۰ میکرومول بر گرم ماده خشک) و ترکیبات فنلی (از ٢/٤٠ به ١/١٠ درصد) در یک راستا می‌باشد [١٨]. متانول و اتانول در حذف گلوکوسینولات از طریق محلول‌های آلکانولی یا آلکانول‌های آمونیاکی مؤثرند [٢٧]. متانول به تنهایی ۵۰ درصد گلوکوسینولات را حذف می‌نماید. افزودن ۱۰ درصد آمونیاک در متانول موجب کاهش ۹۰ درصدی گلوکوسینولات در کنجاله کانولا گردید. افزودن ۵ درصد آب به متانول حاوی ۱۰ درصد آمونیاک تأثیر بیش‌تری در حذف گلوکوسینولات داشت. با افزایش بهبود کارآیی حذف گلوکوسینولات، کنجاله تیره‌تر و چسبناک‌تر [٢٧] می‌شود. هر چند در این مطالعه رفتار چسبناکی در آن مشاهده نگردید. شستشو کنجاله کانولا با اتانول و یا متانول آمونیاکی به‌ترتیب موجب کاهش ۸۰ و ۹۰ درصدی گلوکوسینولات شد [١٦]. استخراج کل ترکیبات فنلی با استفاده از محلول متانول آمونیاکی/ هگزان تقریباً ٧٢/٤ درصد این ترکیبات را [١٢] حذف نمود. همچنین محققان یاد شده با استفاده از متانول به تنهایی ١٦ درصد تانن و با افزودن ۵ درصد آب به متانول، کارآیی استخراج تانن را تا ٣٦ درصد افزایش دادند. حضور آمونیاک به شکل مطلق یا ۹۵ درصد متانول، نیز موجب افزایش استخراج تانن متراکم شد [١٢].

**ترکیبات فیبری (فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی)**

**تأثیر کربوهیدرازهای منتخب و تأثیر غلظت فیتاز:** مقدار فیبر به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی در کنجاله کانولا فرآوری شده با همی‌سلولاز ۰/۱۵ (۲٤/۱۹ درصد) به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کم‌تر از دو فرآورده دیگر بود (جدول ۱). همین روند در ارتباط با مقدار فیبر به‌دست آمده از هضم با محلول خنثی (۲۵/٤٤ درصد) مشاهده گردید. محصول به‌دست آمده از هضم با همی‌سلولاز ۰/۱۵ کم‌ترین مقدار (۲۵/٤٤ درصد) و محصول پکتیناز ۰/۱۵ حاوی بیشترین مقدار (۳۰/۵۹ درصد) فیبر به‌دست آمده از هضم با محلول خنثی بود (جدول ۲). افزایش غلظت آنزیم فیتاز تأثیری بر مقدار فیبر به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی نداشت (جدول ۱). مقادیر فیبر به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی محصولات فرآوری شده به‌ترتیب ۲/۷۱-۱/۹۱ و ۲/۹۲-۱/۰۹ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (جدول ۲)، هر چند که این مقدار افزایش معنی‌دار نبود.

مقدار فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی در محصول کانولا فرآوری شده با همی‌سلولاز ۰/۱۵ کم‌تر از تیمارهای دیگر بود. افزایش غلظت فیتاز (از ٤۰۰۰ تا ٦۰۰۰ واحد در کیلوگرم کنجاله) بر مقدار فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی محصولات فرآوری شده کانولا تأثیر معنی‌داری نداشت. اگرچه مقدار این فیبرها نسبت به تیمار شاهد از نظر عددی بیش‌تر بود. افزایش اندک در میزان فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی (از ۲۳/۹ به ۲۷/٤ درصد) و خنثی (از ۳۱/۱ به ۳۳/۰ درصد) با هیدرولیز کنجاله کانولا با آنزیم فیتاز ۵۰۰۰ واحد در گرم گزارش گردیده است [۱۸] ولی در ارتباط با تحلیل آماری تأثیر این نوع روش فرآوری خلاء مطالعاتی زیادی وجود دارد.

**تأثیر شستشو با محلول متانول آمونیاکی:** شستشو با محلول متانول آمونیاکی به‌صورت معنی‌داری (P<۰/۰۵) موجب افزایش مقدار فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی (۱۰/٦۲-۸/۷۸ درصدی) و خنثی (٦/٦۲-٦/۲٦ درصدی) شد (جدول ۲). افزایش غلظت ترکیبات فیبری یاد شده به‌دلیل حذف ترکیبات ضدتغذیه‌ای هم‌چون گلوکوسینولات، ترکیبات فنلی، قندهای محلول (ساکارز) [۲۷،۱۸،۱٦] و الیگوساکاریدها (رافینوز و استاچیوز) قابل پیش‌بینی بود. نتایج این مطالعه با نتایج گزارش‌های قبلی در یک راستا می‌باشد [۱۸،۱٦]. این محققان نیز به‌طور میانگین به‌ترتیب افزایش ٤۰-٤ و ٦۸-۲٤ درصدی در میزان فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی را در نتیجه شستشو با محلول متانول آمونیاکی گزارش نموده‌اند.

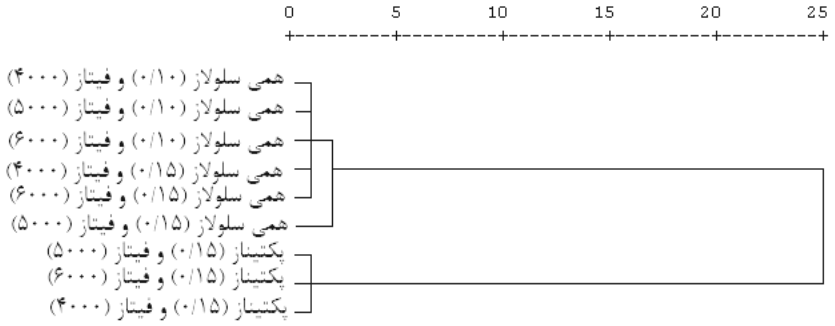
**گروه‌بندی تیمارها و انتخاب تیمار مناسب:** تجزیه به مؤلفه اصلی روش عینی یافتن شاخص‌هایی محسوب می‌شود که قادرند تغییرات داده‌ها را تا ح دامکان به‌صورت فشرده توضیح دهند. بنابراین

برای تعیین بهترین تیمارها، داده‌ها توسط آزمون آنالیز به مؤلفه‌های اصلی در طی دو مرحله مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته و در ادامه با استفاده از ماتریکس کوواریانس مقادیر متغیرهای معنی‌دار و مستقلی (غیرمحاسباتی از متغیرهای دیگر) هم‌چون پروتئین خام، فیتات، تانن، گلوکوسینولات، فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی به‌عنوان مؤلفه‌های اصلی تعیین گردیدند. بیش‌ترین واریانس تجمعی مربوط به مؤلفه اول با مقدار ۷۹/٤ درصد بود. به‌عبارت دیگر مؤلفه اصلی اول میانگین وزنی به‌دست آمده از پنج متغیر منتخب (فیتات، تانن، گلوکوسینولات، فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی) است که ۷۹/٤ درصد از واریانس شاخص‌های مورد سنجش را توضیح می‌دهد. سپس در مرحله دوم، مقدار پروتئین خام به‌صورت هم‌سو وارد مدل گردید. مؤلفه اصلی به‌دست آمده از این قسمت ۸۳/۸ درصد واریانس تجمعی را شامل شد. بنابراین، این مؤلفه برای مقایسه بین تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. فرآورده ناشی از تیمار با پکتیناز ۰/۱۵ در غلظت‌های ٦۰۰۰ و ۵۰۰۰ واحد فیتاز در این گروه‌بندی دارای بیش‌ترین میانگین وزنی بودند (جدول ۳). نتایج به‌دست آمده از تجزیه به مؤلفه اصلی توسط مدل خوشه‌ای نیز مورد تأیید قرار گرفت (شکل ۱). تیمارهای یاد شده تشابه بسیار زیادی با یکدیگر بر حسب فاکتورهای مورد سنجش داشتند.

**جدول ۳- مقایسه میانگین وزنی تیمارهای آزمایشی به‌دست آمده از گروه‌بندی مؤلفه اول.**

| آنزیم (غلظت، درصد از سوبسترا) | غلظت آنزیم فیتاز (واحد در کیلوگرم سوبسترا) به‌همراه شستشو با محلول متانول آمونیاکی | میانگین وزنی (درصد) |
|---|---|---|
| همی‌سلولاز (۰/۱۰) | ٤۰۰۰ | ۱/٤۳ ±۰/٤۱[c] |
| | ۵۰۰۰ | ۱/۲۱ ±۰/۳۵[c] |
| | ٦۰۰۰ | ۲/۰۰ ±۰/۰۳[d] |
| همی‌سلولاز (۰/۱۵) | ٤۰۰۰ | ۰/۰٤ ±۰/۰۱[a] |
| | ۵۰۰۰ | ۲/۹۷ ±۰/۱٤[e] |
| | ٦۰۰۰ | ۰/٦٤ ±۰/۱۱[b] |
| پکتیناز (۰/۱۵) | ٤۰۰۰ | ۸/۵۱ ±۰/۲۲[f] |
| | ۵۰۰۰ | ۹/٦۱ ±۰/۱٦[fg] |
| | ٦۰۰۰ | ۱۰/۱۱ ±۰/۲۲[g] |
| خطای استاندارد | | ۰/۰۱۲ |
| سطح معنی‌داری | | ۰/۰۰۰۱ |

ستون‌های با حداقل یک حرف غیرمشترک با یکدیگر تفاوت آماری معنی‌دار دارند ($P<۰/۰۵$).




**شکل ۱- نمودار خوشه‌ای گروه‌بندی محصولات هیدرولیز شده به‌دست آمده از تیمارهای آنزیمی مختلف.**

## نتیجه‌گیری

از ویژگی‌های برجسته این مطالعه می‌توان به بررسی همه‌جانبه ترکیبات شیمیایی (مغذی و ضدتغذیه‌ای) محصولات فرآوری شده کنجاله کانولا در قالب یک مدل اشاره نمود. استفاده از آنزیم فیتاز موجب کاهش ٦٥ درصدی میزان فیتات و افزایش ۱۰ درصدی مقدار پروتئین خام گردید. شستشو با محلول متانول آمونیاکی حدود ٦۰ درصد مقدار گلوکوسینولات و ٢٦ درصد تانن را کاهش داد و در مقابل موجب افزایش ۳ درصدی مقدار پروتئین خام و به‌ترتیب ۹ و ٦ درصدی فیبرهای به‌دست آمده از هضم با محلول اسیدی و خنثی شد. همچنین تأثیر نوع سوبسترا و تاریخچه قبلی فرآوری آن در راستا کاهش ترکیبات ضدتغذیه‌ای بسیار مهم ارزیابی می‌شود. در مجموع با توجه به نتایج تجزیه به مؤلفه اصلی، کنجاله کانولا فرآوری شده با آنزیم پکتیناز (۰/۱۵ درصد) و آنزیم فیتاز (در غلظت ۵۰۰۰ واحد در کیلوگرم کنجاله) به همراه شستشو با محلول متانول آمونیاکی به‌دلیل میانگین وزنی بالاتر برای فرآوری‌های بعدی انتخاب گردید. بررسی تأثیر روش تخمیر در شرایط جامد به‌عنوان یک روش افزایش مقدار پروتئین خام در مطالعات آینده توصیه می‌شود.

## سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از صندوق محترم پژوهشگران کشور برای حمایت مالی طرح شماره ۸۷۰٤۱۳۸۷ سپاسگزاری می‌نمائیم.

## منابع


1.AOAC. 2005. Official Methods of Analysis (16th edn). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

2.Bell, J.M. 1993. Factors affecting the nutritional value of canola meal: A review. *Canadian Journal of Animal Science*, 73, 679-697.

3.Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang, Y., Diana, J., Yakupitiyage, A., Luo, Z., and Li, D. 2007. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme and Microbial Technology*, 40, 497-507.

4.Carter, C.G., and Sajjadi, M. 2010. Low fishmeal for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using soy protein concentrate treated with graded levels of phytase. *Aquaculture International*, DOI 10.1007/s 10499-010-9358-z.

5.De Boland, A.R., Garner, G.B., and O Dell, B.L. 1975. Identification and properties of phytate in cereal grains and oil seed products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 23, 1186-1189.

6.Domíguez, H., Núňez, M.J., and Lema, J.M. 1994. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: a review. *Food Chemistry*, 49, 271-286.

7.Engelen, A.J., Van Der Heeft, F.C., Randsdorp, P.H.G., and Smit, E.L.C. 1994. Simple and rapid determination of phytase activity. *Journal of AOAC International*, 77 (3), 760-764.

8.Forster, I., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Rowshandeli, M., and Parr, J. 1999. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein and decrease output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11°C fresh water. *Aquaculture*, 179, 109-125.

9.Francis, G., Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternative fish feed ingredient and their effects in fish. *Aquaculture*, 199, 197-227.

10.Goel, G., and Puniya, A.K. 2005. Interaction of gut microflora with tannins in feeds (review). *Naturwissenschaften*, 92, 497-503.

11.Johnson, I.T. 2002. Glucosinolates in the human diet. Bioavailability and implications for health. *Phytochemistry Reviews*. 1, 183-188.

12.Kozlowska, H., Naczk, M., Shahidi, F., and Zadernowski, R. 1990. Phenolic acids and tannins in rapeseed and canola. In: F. Shahidi, (Ed.), Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology, (P. 193-209). New York. Van Nostrand Reinhold.

13.Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: a review. *Food Chemistry*, 120, 945-959.

14.Lot, J.N.A., Ockenden, I., Raboy, V., and Batten, G.D. 2002. A global estimate of phytic acid and phosphorus in crop grains, seeds and fruits. In: N.R., Reddy and Sh.K., Sathe, (Eds.), Food Phytates (P. 23-41). CRC Press.

15.Mailer, R.J., McFadden, A., Ayton, J., and Redden, B., 2008. Anti-nutritional components, fibre, sinapine and glucosinolate content in Australian canola (*Brassica napus* L.) meal. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 85, 937-944.
16.McCurdy, S.M., and March, B.E. 1992. Processing of canola meal for incorporation in trout and salmon diets. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 69, 213-220.
17.Morris, P.C., Gallimore, P., Handley, J., Hide, G., Haughton, P., and Black, A. 2005. Full-fat soya for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in freshwater: Effects on performance, composition and flesh fatty acid profile in absence of hind-gut enteritis. *Aquaculture*, 248, 147-161.
18.Mwachireya, S.A., Beames, R.M., Higgs, D.A., and Dosanjh, B.S. 1999. Digestibility of canola protein products derived from the physical, enzymatic and chemical processing of commercial canola meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in fresh water. *Aquaculture Nutrition*, 5, 73-82.
19.Newkirk, R.W., and Classen, H.L. 1998. In vitro hydrolysis in canola meal with purified and crude sources of phytase. *Animal Feed Science and Technology*, 72, 315-327.
20.Pariza, M.W., and Cook, M. 2010. Determining the safety of enzymes used in animal feed. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 56, 332-342.
21.Pal Vig, A., Rampal, G., Thind, T.S., and Arora, S. 2009. Bio-protective effects of glucosinolates: a review. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 1561-1572.
22.Price, M.L., Van Scoyoc, S., and Butler, L.G. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannins and sorghum grain. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 26 (5), 1214-1218.
23.Quinsac, A., Ribailler, D., Elfkir, C., Lafosse, M., and Dreux, M. 1991. A new approach to the study of glucosinolate by isocratic liquid chromatogramphy: Part I. Rapid determination of desulfated derives of rapeseed glucosinolates. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 74, 932-939.
24.Rao, D.E.C.S., Rao, K.V., Reddy, T.P., and Reddy, V.D. 2009. Molecular characterization, physicochemical properties, known and potential applications of phytases: an overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29 (2), 182-198.
25.Sajjadi, M., and Carter, C.G. 2004. Dietary phytase supplementation and the utilization of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a canola-meal-based diet. *Aquaculture*, 240: 417-431.
26.Sathe, S., and Venkatachalam, M. 2002. Influence of processing technologies on phytate and its removal. In: N.R., Reddy and S., Sathe (Eds.), Food Phytates (P. 149-181). CRC Press.
27.Shahidi, F., and Naczk, M. 1990. Removal of Glucosinolates and other Antinutrients from Canola and Rapeseed by Methanol/ Amonia Processing. In: F. Shahidi (Ed.), Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology (P. 291-306). New York. Van Nostrand Reinhold.

28.Teskeredžić, Z., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., McBride, J.R., Hardy, R.W., Beames, R.M., Jones, J.D., Simell, M., Vaara, T., and Bridges, R.B. 1995. Assessment of undephytinized and dephytinized rapeseed protein concentrate as sources of dietary protein for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 131, 261-277.
29.Thompson, L.U. 1990. Phytates in canola/ rapeseed. In: F. Shahidi (Ed.), Canola and Rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology (P. 173-192). New York. Van Nostrand Reinhold.
30.Tripathi, M.K., and Mishra, A.S. 2007. Glucosinolates in animal nutrition:a review. *Animal Feed Science and Technology*, 132, 1-27.
31.USDA (United States Department of Agriculture) 2010. Oilseeds: World Markets and Trade, online viewed August 2010, http://www.soystat.com.
32.Van Soest, P.J., Robertson, J.B., and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
33.Varmuza, K., and Filzmoser, P. 2009. Principal component analysis. In: K., Varmuza and P., Filzmoser, (Eds.). Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics (P. 59-103). Taylor and Francis Group. CRC Press.
34.Zar, J.H. 1999. Biostatistical Analysis. New Jersy, USA. Prentice-Hall, Inc.

EJFPP., Vol. 2 (1): 69-89
http://ejfpp.gau.ac.ir

# Production of canola protein concentrate: III- hydrolyzing selected processed products of canola meal (*Brasscia napus*) using different inclusion levels of phytase and washing with ammoniated methanol

***O. Safari[1], M. Farhangi[2], C. Carter[3], B. Yakhchali[4] and P. Shawrang[5]**
[1]Assistant Prof., Dept. of Environment, Ferdowsi University of Mashhad, [2]Assistant Prof., Dept. of Fisheries, University of Tehran, [3]Professor, Aquaculture and Fisheries Institute, University of Tasmania, Australia, [4]Associate Prof., Dept. of Biotechnology and Environmetal Technology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, [5]Assistant Prof., Agricultural, Medical and Industrial Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Atomic Energy Organization of Iran
Received: 2011-10; Accepted: 2011-11

## Abstract

Using canola meal in spite of suitable protein compound is limited due to existunce of some antinutritional compounds such as fiber, phytate, glucosinolate and tannin. This study aimed to evaluate the effect of phytase and washing with ammoniated methanol on the chemical composition (crude protein, phytate, glucosinolate, tannin, acid detergent fiber and neutral detergent fiber) of three processed products of canola meal with hemicellulase (0.10 and 0.15% CM) and pectinase (0.15% CM) at three doses (4000, 5000 and 6000 IU/Kg, n=3) of phytase in a factorial design. With an increase in phytase concentration, phytate content decreased and crude protein content increased. Washing with ammoniated methanol decreased the glucosinolate content of all processed products of canola meal with carbohydrases (4.93 *vs* 1.98 μmole/g dry matter) and tannin content (1.53 *vs* 1.14%) but it increased contents of crude protein (41.87 *vs* 42.79%), phytate (2.06 *vs* 3.02%), acid detergent fiber (24.50 *vs* 26.84%) and neutral detergent fiber (27.35 *vs* 29.11%). Processed product with pectinase 0.15% CM, phytase and ammoniated methanol had the lowest content of glucosinolate (3.26 μmole/g dry matter) compared to those of others. Finally, the relative priority of treatments were determined based on the weighted average using principal component analysis as pectinase (0.15% CM) and 5000 and 6000 IU phytase/Kg and then pectinase (0.15% CM) with 4000 IU phytase/Kg.

***Keywords*:** Canola meal; Processing; Phytase; Glucosinolate; Protein Concentrate

* Corresponding author; E-mail:omid_safary@yahoo.com