تعیین شرایط مناسب برای هیدرولیز مواد پروتئینی لوبیا[1] (*Phaseolus vulgaris*)

منصور توکلی و اشرف علوی

بترتیب دانشیار و مربی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی

دانشگاه تهران ـ کرج

تاریخ وصول چهاردهم آبان ماه ۱۳۵۹

چکیده

در این آزمایش اثر نسبت ماده مورد آزمایش به اسیدکلریدریک ۶ نرمال وهمچنین اثر زمان ودرجه حرارت درهیدرولیز مواد پروتئینی لوبیا مورد مطالعه قرار گرفت. مخلوطی از آرد لوبیا و اسید به نسبتهای ۱ و ۱۰ میلی گرم درمیلی لیتر بطور جداگانه برای مدت ۲۲ ساعت در ۱۱۰ درجه سانتیگراد و ۴ ساعت در ۱۴۵ درجه سانتیگراد مورد آزمایش قرار گرفت. اثر دو عامل ترکیبی یعنی نسبت آرد لوبیا به اسید وزمان ودرجه حرارت وهمچنین اثرات متقابل آنها در مقدار اسیدهای آمینه آزاد شده ازنظر آماری معنی دار گردید. میانگین مجموع اسیدهای آمینه مربوط به دو نسبت ۱ و ۱۰ میلی گرم آرد لوبیا درمیلی لیتر اسید به ترتیب ۱۹۴۶۴ و ۱۳۶۸۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه بالغ گردید. هیدرولیز آرد لوبیا برای مدت ۲۲ ساعت در ۱۱۰ درجه وبرای ۴ ساعت در ۱۴۵ درجه سانتیگراد به ترتیب موجب آزاد شدن ۱۷۵۸۴ و ۱۵۵۶۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه ازمجموع اسیدهای آمینه گردید. میزان اسیدهای آمینه آزاد شده ازمخلوط آرد لوبیا و اسید به نسبت ۱ میلی گرم درمیلی لیتر که برای مدت ۲۲ ساعت در ۱۱۰ درجه سانتیگراد هیدرولیز شده بود مجموعاً بالغ بر ۲۱۴۳۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه شد. براساس نتایج بدست آمده حرارت دادن مخلوطی از آرد لوبیا و اسید به نسبت ۱ میلی گرم درمیلی لیتر برای مدت ۲۲ ساعت در ۱۱۰ درجه سانتیگراد مناسب ترین شرایط برای هیدرولیز مواد پروتئینی لوبیا می‌باشد.

۱ـ این بررسی با استفاده از امکانات طرح اصلاح وتوسعه کشت حبوبات انجام گرفته است.

مقدمه

دانه حبوبات بدلیل دارا بودن درصد قابل توجهی از مواد پروتئینی دارای ارزش غذائی زیادی می‌باشد . درحالیکه ارزش غذائی وبه عبارت بهتر ارزش بیولوژیکی مواد خوراکی رابطه مستقیمی با مقدار مواد پروتئینی آنها دارد ولی باید توجه داشت که نوع ومقدار اسیدهای آمینه خصوصا" اسیدهای آمینه ضروری شاخص مهمی درتعیین این ارزشها به حساب می آید .

روش متداول درمطالعه اسیدهای آمینه متشکله مواد پروتئینی که بیشتر به منظور تعیین ارزش غذائی آنها انجام می‌گیرد شامل هیدرولیز مواد پروتئینی وشناخت و اندازگیری اسیدهای آمینه متشکله آنها می‌باشد .زمان لازم برای آزاد ساختن اسیدهای آمینه و ثبات آنها درحین عمل هیدرولیز نه تنها بستگی به نوع ماده پروتئینی دارد ، بلکه تا اندازه زیادی بستگی به ماده هیدرولیز کننده وسایر شرایط خصوصا" درجه حرارت و عاری بودن محیط عمل از اکسیژن دارد (۲). موادی که معمولا" برای هید رولیزمواد پروتئینی بکارمی روند شامل اسیدهای معدنی ، بازها و آنزیم ها می باشد(۲). هریک از این مواد دارای ویژه‌گیهای خاص بوده و تاثیرات گوناگونی رادرچگونگی عمل هیدرولیز باعث می گردند. آنزیمها اساسا" تغییری دراسیدهای آمینه آزاد شده ایجاد نمی‌نمایند وازاین لحاظ بر سایر ترکیبات برتری دارند ولی کاربرد آنها به لحاظ کندی سرعت واکنش واختصاصی بودن عمل آنها محدود است (۲۱) . اسیدها وبازها باوجود آنکه ازقدرت هیدرولیزکنندگی کافی برخوردارهستند ولی‌کم‌وبیش باعث تجزیه و از بین رفتن اسیدهای آمینه آزاد شده می‌گردند. ازاین رو شرایط عمل هیدرولیز بایدبنحوی کنترل گردد که اثرات نامطلوب این مواد به‌حداقل برسد(۲) .دربین ترکیبات فوق اسیدها و خصوصا"اسیدکلریدریک بدلیل سهولت درجدا کردن آن از اسیدهای آمینه پس ازعمل هیدرولیز کاربرد وسیعی‌دارند (۴) . برای هیدرولیزاکثرمواد پروتئینی نمونه مورد آزمایش رادرحضوراسیدکلریدریک ۶ نرمال برای مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در ۱۱۰درجه سانتیگراد حرارت میدهند (۲، ۸، ۹، ۱۲، ۲۱) . اخیرا" سعی شده است زمان لازم برای‌هیدرولیز مواد پروتئینی بمقدار قابل توجهی کاهش داده شود ودرمقابل درجه حرارت تا حدمعینی افزایش یابد . بعنوان مثال کاهش‌دادن زمان هیدرولیز به ۴ ساعت وبالابردن درجه‌حرارت درحد ۱۴۵ درجه سانتیگراد می‌تواند شرایط مطلوبی رابرای هیدرولیز بعضی از مواد پروتئینی ایجاد نماید (۱۱،۱۵). دربعضی موارد زمان هیدرولیز به ۲ ساعت تقلیل داده شده بدون آنکه درجه‌حرارت ازحدمعمول بالاتررود (۸) .ازطرف دیگر غلظت اسیدبکار رفته می‌تواند درکیفیت عمل هیدرولیز موثر باشد ، لیکن چنانچه قبلا" اشاره گردید اسید کلریدریک با غلظت ۶ نرمال بیش ازسایر

غلظت‌ها از همین اسید واسیدهای دیگر در هیدرولیز پروتئینهای مواد خوراکی‌بکاررفته است .

ازعوامل موثردیگردرهیدرولیز مواد پروتئینی نسبت اسیدمصرفی به پروتئین مورد آزمایش است . این نسبت بستگی به نوع ماده پروتئینی و میزان سایرترکیبات ، مخصوصا" هیدروکربورهاکه‌همراه مواد پروتئینی یافت می‌شود ، دارد . بکاربردن‌اسیدبه مقدار زیاد ازطرفی ازتجزیه اسیدهای آمینه آزاد شده جلوگیری می‌نماید و ازجانب دیگرمانع تشکیل هومین (ماده‌ای برنگ قهوه‌ای تیره که‌ازترکیب هیدروکربورها باماده حاصله ازتجزیه تریپتوفان توسط اسیدایجاد میگردد) می‌شود (۲۱). باتوجه به‌مطالب فوق مقدار اسیدبکار رفته بستگی به نوع ماده مورد آزمایش داشته واز ۲/۵ تا ۵۰۰۰ برابر وزن پروتئین موجود درنمونه متغیراست (۱۵،۵).معمولا" برای هیدرولیز مواد خوراکی وغذای دام در حدود ۵۰۰ برابر وزن پروتئین موجود درنمونه‌مورد آزمایش اسید بکارمیرود (۲). مقدار اسید بکار رفته در هیدرولیز لوبیای بزرگ[1] ولوبیای معمولی از ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ برابر وزن پروتئین یافت‌شده درنمونه هیدرولیز شده این محصولات نوسان داشته است (۱۲،۸،۶).باتوجه به تاثیر عوامل یاد شده درچگونگی کیفیت هیدرولیز مواد پروتئینی وبمنظور پی بردن به‌مناسبترین شرایط هیدرولیز دراین آزمایش اثردرجه حرارت‌و زمان هیدرولیز درسطوح مختلف و همچنین اثرنسبت ماده مورد آزمایش‌به اسید در دو سطح واثرات متقابل این عوامل در چگونگی هیدرولیزپروتئین لوبیا موردمطالعه قرارگرفته است .

مواد وروشها

تهیه آرد لوبیا ـ مقدار ۵۰ گرم‌ازدانه ده رقم لوبیا سفیدکه درسال زراعی ۱۳۵۸ در مزرعه آزمایشی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران کشت‌شده بود باهم کاملا" مخلوط گردید ودو نمونه ۱۰۰ گرمی ازاین مخلوط بوسیله آسیاب وایلی[2] مجهز به الک ۴۰ مش[3] آرد گردید بطوریکه ذرات آردحاصله دارای قطرمتوسطی معادل ۴۲۰ میکرون بود .

مواد چربی موجود درآرد لوبیا به‌کمک اتر وتوسط دستگاه سوکسله‌استخراج شد. آردحاصله ابتدا درحرارت معمولی وسپس دراتو ودر ۵۵ درجه سانتیگراد برای مدت ۶ ساعت تحت‌خلاء خشک گردید. آرد خشک شده سپس درهاون چینی کاملا" خرد گردید وتاموقع مصرف دردسیکاتور و درمجاورت P_2O_5 نگهداری شد (۱۷).

هیدرولیز ـ نمونه‌های آرد لوبیا واسید کلریدریک به نسبتهای مشخص‌شده دربالن مخصوص هیدرولیز قرارداده شد وبرای مدت معین شده‌ودرجات‌مختلف بشرح زیرحرارت داده شد.

الف ـ نسبت نمونه به‌اسید : آرد لوبیا و اسیدکلریدریک ۶ نرمال در دو نسبت ۱

1- lima bean 2-Wiley 3-Mesh

میلی‌گرم درمیلی‌لیتر (نسبت ۱به ۵۰۰۰ بر مبنای ۲۰درصدپروتئین درنمونه)و ۱۰میلی‌گرم‌درمیلی لیتر (نسبت ۱ به ۵۰۰ بر مبنای ۲۰درصدپروتئین درنمونه)بکاربرده‌شد.

ب ـ مدت ودرجه‌حرارت : مخلوط آردلوبیا واسیدبه‌نسبتهای فوق بطورجداگانه به مدت ۲۲ ساعت درمجاورت ازت در ۱۱۰ درجه‌وبه مدت۴ساعت در ۱۴۵ درجه‌سانتیگراد حرارت داده‌شد.برای هریک ازدونمونه‌آردکه‌درچهارحالت فوق هیدرولیز گردید ۲تکرار درنظرگرفته شد.برای این منظور ابتداء ۱۰میلی‌لیتر ازاسیدکلریدریک ۱/۱۱نرمال درهریک ازبالنهای‌ته‌گردبه‌ظرفیت ۵۰سانتیمتر مکعب منتقل گردید.مقدار لازم‌ازآردلوبیاکه‌بر اساس‌نسبتهای فوق مشخص‌شده بود به‌بالن مربوط افزوده‌شد.همچنین ۱۰میلی‌لیتر ازمحلول نورلوسین[1] با غلظت ۱/۲۵میکرومول درمیلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۱/۰نرمال‌بعنوان استاندارد داخلی‌بهریک ازبالنهای آزمایش‌اضافه گردید. با توجه‌به اسیدونورلوسین مصرف شده غلظت اسید کلریدریک درمخلوط موردآزمایش معادل ۶نرمال شد. هوای باقیمانده‌دربالنها بلافاصله‌بوسیله گاز ازت جایگزین‌شد وبعدازبستن شیردهانه ، بالنها به‌اتومنتقل وبرای‌مدتهای موردنظرودر حرارتهای مشخص‌شده‌هیدرولیز گردید.

بعدازپایان عمل هیدرولیزوسردشدن بالن‌ها به‌هریک ۲۰۰ میلی‌گرم‌ذغال حیوانی[2] بمنظورجذب هومین افزوده‌شدوپس از ۱۵دقیقه مخلوط حاصله درقیف بوخنربا صافی‌برا ده‌شیشه[3] صاف شده‌وسپس در ۴۰درجه‌سانتیگراددودرخلاء تبخیرگردید.اسیدهای آمینه‌باقیمانده‌دربالن‌تبخیربا افزودن ۲میلی لیتراز محلول با فرسیترات با پ هاش =۲بحالت محلول درآمده‌وپس ازانتقال به‌لوله‌شیشه‌ای درب دار در۴درجه‌سانتیگراد نگهداری گردید (۴،۱۲،۱۶،۲۰).

تجزیه‌اسیدهای آمینه‌ـ مقدار ۴۰ و ۱۰۰ میکرولیتراز هرنمونه‌دردوتکرار بوسیله‌دستگاه اتوآنالیزراسیدهای آمینه ،موردتجزیه‌قرار گرفت .مقدار هریک ازاسیدهای‌آمینه‌با استفاده ازمنحنی‌مربوطه‌درکروماتوگرام‌وبرمبنای ۱۰۰ گرم نمونه‌آردلوبیامحاسبه‌گردید (۲،۱۲،۱۹).

درصدپروتئین آردلوبیاکه‌ازآن برای تعیین میزان نمونه‌های‌موردآزمایش استفاده گردید با روش کلدال (۱) اندازه‌گیری‌شد.لازم‌به یادآوری است‌که ترییپتوفان دراین‌آزمایش اندازه‌گیری‌نگردید.دراین‌آزمایش ازیک طرح‌تصادفی بادوتکرار استفاده‌گردید.اثرات وعوامل مورد مطالعه وتاثیرآنها با انجام‌عملیات آماری‌فاکتوریل تعیین ومیانگین‌های‌مربوطه (اثرات متقابل)با L.S.D. موردمقایسه‌قرارگرفت .

نتایج

اثرنسبت مقدارنمونه‌به‌اسیددرکیفیت

1- Norleucine

2- Darco Activated Carbon, G-60

3- Fritted Glass Funnel

هیدرولیز مواد پروتئینی لوبیاکه‌برمبنای اسیدهای آمینه آزاد شده مشخص‌شده است‌در جدول ۱ مندرج است . مقدارتمام اسیدهای آمینه به‌غیراز هیستیدین و آرجینین و همچنین مجموع اسیدهای آمینه بدست‌آمده از نظر آماری معنی دارگردید. مقدار ایزولوسین وفنیل آلانین حاصله‌ازآزمایشهای مربوط به ۱۰ میلی گرم آرد لوبیا درمیلی لیتر اسید به‌ترتیب ۱۱۱ و ۱۰۵۱ میلی‌گرم‌در ۱۰۰ گرم نمونه بیش‌از مقداری است‌که‌از مخلوط ۱ میلی گرم درمیلی لیتراسیدحاصل شده‌است . مقدارسایراسیدهای آمینه‌درمخلوط اخیربیش‌ازحالتی است‌که‌نسبت‌آردلوبیا به ۱۰ میلی‌گرم درمیلی لیتراسیدافزایش می‌یابد. ازجانب دیگرمجموع اسیدهای آمینه در آزمایشهائی که ۱میلی گرم نمونه به‌کاررفته ۵۷۸۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بیش‌ازمقداری است‌که ازنسبت ۱۰ میلی گرم آرد لوبیا درمیلی لیتراسیدحاصل شده‌است .

اثرزمان ودرجه حرارت درهیدرولیزمواد پروتئینی لوبیا درجدول ۲ منعکس است . نتایج نشان می‌دهدکه‌اختلاف میزان اسیدهای آمینه ترئونین ، آلانین ،والین،متیونین ، ایزولوسین ، فنیل آلانین ومجموع‌اسیدهای آمینه مربوط به دو آزمایش ۲۲ ساعت‌و۱۱۰ درجه سانتیگراد و۴ ساعت‌و۱۴۵ درجه سانتیگراد معنی دار می‌باشد.مقدار هر یک ازاسیدهای آمینه نامبرده دروضعیت ۲۲ساعت و۱۱۰ درجه سانتیگراد تماما" بیش‌ازحالتی بود که آرد لوبیا بمدت ۴ ساعت در۱۴۵ درجه سانتیگراد هیدرولیزشده‌بود. اسیدهای آمینه بدست‌آمده درشرایط ۲۲ ساعت‌و۱۱۰ درجه سانتیگراد مجموعا" ۲۰۲۳ میلی گرم‌در۱۰۰گرم بیش‌ازنتایجی است‌که ازهیدرولیز لوبیا به مدت ۴ ساعت در۱۴۵ درجه‌سانتیگراد حاصل شده است . جدول شماره ۳ اثرات متقابل نسبت نمونه به اسید وزمان ودرجه حرارت را در مقدار اسیدهای آمینه آزاد شده از هیدرولیز آرد لوبیا نشان می‌دهد . اختلاف مقدارتمامی اسیدهای آمینه ، باستثنای هیستیدین ،که‌از هیدرولیز پروتئین لوبیا تحت‌چهارشرایط مختلف بدست‌آمده بودند ازنظرآماری‌معنی‌دار بود .

بحث

روش معمول برای مطالعه‌اسیدهای آمینه متشکله مواد پروتئینی شامل هیدرولیزمواد پروتئینی و اندازه گیری اسیدهای آمینه آزاد شده می‌باشد . اطمینان ازنتایج‌حاصله ازاین بررسیها منوط به فراهم آوردن شرایطی است‌که اولا" بتوان تمامی‌اتصالهای پپتیدی مولکولهای پروتئین موردآزمایش را بمنظور آزادساختن اسیدهای آمینه متشکله شکسته ،و ثانیا" ازتجزیه وازبین رفتن آنها تاحد امکان جلوگیری بعمل آورد. باتوجه‌به‌اختلاف ساختمان مولکولی‌پروتئین ها ونقش سایر عوامل درکیفیت عمل هیدرولیزمی‌توان به تلفیق مناسبی ازاین عوامل دست‌یافت و

جدول۱ـ اثر نسبت نمونه به اسید در میزان اسیدهای آمینه حاصل از هیدرولیز پروتئین لوبیا برحسب میلی گرم درصدگرم نمونه

اسیدآمینه	نسبت نمونه به اسید: ۱میلی گرم در میلی لیتر	نسبت نمونه به اسید: ۱۰ میلی‌گرم در میلی لیتر	اسیدآمینه	نسبت نمونه به اسید: ۱میلی‌گرم در میلی لیتر	نسبت نمونه به اسید: ۱۰میلی‌گرم در میلی‌لیتر
لیزین **	۱۳۱۸	۹۴۸	آلانین **	۱۵۲۷	۵۵۴
هیستیدین	۴۲۶	۴۲۹	والین *	۹۲۱	۶۳۳
آرجینین	۸۸۹	۷۲۸	سیستئین **	۲۵۳	۱۲۹
اسیداسپارتیک **	۲۵۴۴	۱۵۰۹	متیونین **	۴۳۷	۱۹۰
ترئونین **	۷۶۰	۵۹۰	ایزولوسین *	۴۳۳	۵۴۴
سرین *	۱۳۸۴	۸۷۲	لوسین *	۱۳۷۷	۹۷۰
اسیدگلوتامیک **	۲۹۸۴	۱۹۳۸	تیروزین **	۶۰۶	۳۸۳
پرولین *	۱۶۸۳	۸۱۷	فنیل‌آلانین**	۵۵۰	۱۶۰۱
گلیسین *	۱۳۷۲	۸۴۶	مجموع **	۱۹۴۶۴	۱۳۶۸۱

* اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است .

** اختلاف در سطح ۱ درصد معنی دار است .

جدول۲ـ اثر زمان ودرجه حرارت درمیزان اسیدهای آمینه حاصل از هیدرولیز پروتئین لوبیا برحسب میلی‌گرم درصدگرم نمونه

اسید آمینه	زمان ـ درجه حرارت		اسیدآمینه	زمان ـ درجه حرارت	
	۲۲ساعت ۱۱۰درجه	۴ساعت ۱۴۵درجه		۲۲ساعت ۱۱۰درجه	۴ساعت ۱۴۵ درجه
لیزین	۱۱۲۵	۱۱۴۱	آلانین *	۱۱۸۲	۸۹۹
هیستیدین	۴۲۲	۴۳۳	والین *	۹۳۴	۶۱۹
آرجینین	۷۹۴	۸۲۳	سیستئین	۲۰۱	۱۸۱
اسیداسپارتیک	۲۰۸۶	۱۹۶۷	متیونین *	۴۱۰	۲۱۶
ترئونین *	۷۶۴	۵۸۶	ایزولوسین *	۵۹۴	۳۸۴
سرین	۱۰۵۶	۱۲۰۰	لوسین	۱۲۴۳	۱۱۰۵
اسیدگلوتامیک	۲۴۹۲	۲۴۳۰	تیروزین	۵۰۲	۴۸۷
پرولین	۱۱۶۵	۱۳۳۵	فنیل‌آلانین **	۱۴۴۹	۷۰۳
گلیسین	۱۱۶۵	۱۰۵۲	مجموع **	۱۷۵۸۴	۱۵۵۶۱

* اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است.

** اختلاف در سطح ۱ درصد معنی دار است.

جدول ۳ـ اثر متقابل نسبت نمونه به اسید وزمان ودرجه‌حرارت در میزان اسیدهای آمینه حاصل از هیدرولیز پروتئین لوبیا برحسب میلی گرم درصدگرم نمونه

اسیدآمینه	۱ میلی گرم درمیلی لیتر				۱۰ میلی گرم در میلی لیتر			
	۲۲ساعت ۱۱ درجه		۴ساعت ۱۴۵ درجه		۲۲ساعت ۱۱ درجه		۴ساعت ۱۴۵ درجه	
لیزین *	۱۴۲۳	a	۱۲۱۳	b	۸۲۶	d	۱۰۶۹	c
هیستیدین	۴۶۵		۳۸۷		۳۸۰		۴۷۹	
آرجنین*	۸۹۲	a	۸۸۵	a	۶۹۵	b	۷۶۱	b
اسیدا سپارتیک**	۲۷۲۸	a	۲۳۶۱	b	۱۴۴۴	c	۱۵۷۴	c
ترئونین*	۹۸۴	a	۵۳۶	c	۵۴۴	bc	۶۳۶	b
سرین **	۱۳۲۵	b	۱۴۴۳	a	۷۸۷	d	۹۵۷	c
اسیدگلوتامیک **	۳۱۲۸	a	۲۸۴۰	b	۱۸۵۶	c	۲۰۲۰	c
پرولین **	۱۵۳۰	b	۱۸۳۶	a	۸۰۰	c	۸۳۳	c
گلیسین **	۱۵۳۷	a	۱۲۰۶	b	۷۹۳	d	۸۹۸	c
آلانین **	۱۸۴۷	a	۱۲۰۷	b	۵۱۸	c	۵۹۰	c
والین *	۱۱۷۴	a	۶۶۹	bc	۶۹۵	b	۵۷۰	c
سیستئین *	۲۶۵	a	۲۴۲	a	۱۳۷	b	۱۲۱	b
متیونین **	۵۵۱	a	۳۲۲	b	۲۶۹	c	۱۱۱	d
ایزولوسین *	۵۴۵	ab	۳۲۱	c	۶۴۳	a	۴۴۶	b
لوسین *	۱۵۶۷	a	۱۱۸۷	b	۹۱۸	c	۱۰۲۳	c
تیروزین *	۶۱۰	a	۶۰۲	a	۳۹۵	b	۳۷۲	b
فنیل آلانین **	۸۶۵	c	۲۳۵	d	۲۰۳۳	a	۱۱۷۰	b
مجموع **	۲۱۴۳۶	a	۱۷۴۹۲	b	۱۳۷۳۳	c	۱۳۶۳۰	c

* اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است.

** اختلاف در سطح ۱ درصد معنی دار است.

میانگینهائی که در هر ردیف با حروف مشابه مشخص شده اند اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

بهترین شرایط را برای هیدرولیز ماده پروتئینی مورد نظر مشخص نمود.

در این آزمایش اثر مدت و درجه حرارت، نسبت نمونه به اسید و همچنین اثرات متقابل این عوامل در چگونگی هیدرولیز پروتئین لوبیا بر مبنای تغییرات اسیدهای آمینه آزاد شده مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه دو نسبت مختلف نمونه به اسید بکار رفته نشان می‌دهد که به استثنای ایزولوسین و فنیل آلانین، مقدار بقیه اسیدهای آمینه حاصل از هیدرولیز لوبیا به نسبت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسید بیش از نتیجه بدست آمده از نسبت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر می‌باشد. همچنین آزمایش نشان می‌دهد که مجموع اسیدهای آمینه از هیدرولیز لوبیا به نسبت ۱ میلی گرم در میلی لیتر در حدود ۴۲ درصد از نسبت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر زیادتر گردیده است. تقلیل اسیدهای آمینه در حالت اخیر احتمالا" می‌تواند به دلیل زیاد بودن مقدار نمونه و نتیجتا" وجود مقدار زیادتری از مواد هیدروکربور باشد که در تشکیل هومین و از بین بردن اسیدهای آمینه آزاد شده موثر بوده است. بررسیهائی که در این زمینه انجام گرفته، این نظریه را به روشنی تائید نموده و مضافا" ثابت می‌نماید که هیدرولیز مواد پروتئینی در حضور مقدار قابل توجهی از مواد هیدروکربور مثل نشاسته و سلولز و غیره باعث اکسیداسیون سیستئین به اسید سیستئیک و تبدیل متیونین به سولفون متیونین می‌شود (۲، ۳، ۴، ۱۱). در این بررسی نیز مقدار دو اسید آمینه نامبرده که از هیدرولیز آرد لوبیا و اسید به نسبت ۱۰ میلی گرم در میلی‌لیتر بدست آمده است نسبت به مخلوط ۱ میلی‌گرم در میلی لیتر نقصان قابل ملاحظه‌ای داشته است.

نتایج اثر زمان و درجه حرارت در هیدرولیز پروتئین لوبیا نشان می‌دهد که میانگین اسیدهای آمینه ترئونین، آلانین، والین، متیونین، ایزولوسین، فنیل آلانین و مجموع اسیدهای آمینه حاصل از هیدرولیز لوبیا برای مدت ۲۲ ساعت و در ۱۱۰ درجه سانتیگراد بطور معنی‌داری بیش از نتایج مربوط به آزمایش در شرایط ۴ ساعت و ۱۴۵ درجه می‌باشد. در بین این اسیدهای آمینه افزایش فنیل آلانین بطور نسبی بیش از اسیدهای آمینه دیگر بوده است. این افزایش در مورد مجموع اسیدهای آمینه به حدود ۱۳ درصد رسیده است.

روچ وگهرک (۱۵)، اینگلیس و همکارانش (۱۰) وکلدی و مارکاکیاس (۱۱) از هیدرولیز پروتئین های مختلف برای مدت ۴ ساعت و در ۱۴۵ درجه سانتیگراد نتایجی مشابه و در مواردی بهتر از هیدرولیز در مدت ۲۴ ساعت و در ۱۱۰ درجه سانتیگراد بدست آورده اند. بنابه گزارش روچ وگهرک (۱۵) در بین اسیدهای آمینه متشکله ریبونوکلئاز پرولین، ترئونین، سرین، متیونین و آرجینین بیش از سایر اسیدهای آمینه نسبت به افزایش درجه حرارت حساسیت نشان دادند. در هیدرولیز پروتئین لوبیا ملاحظه گردید که کاهش مدت هیدرولیز همزمان با افزایش درجه حرارت بطور معنی داری

درتقلیل اسیدهای آمینه ترئونین ، آلانین ، والین ،سیستئین ،متیونین ، ایزولوسین و فنیل آلانین موثربوده‌است .کاهش میزان اسیدهای آمینه درشرایط فوق می‌تواندبه‌دلیل کوتاه بودن مدت هیدرولیزباشد زیرا تمامی اسیدهای آمینه باسرعت یکنواخت ازمولکول پروتئین آزاد نمی‌شوند.این موضوع مخصوصا" در مورد والین ، ایزولوسین ومتیونین بیشتر مشهوداست (۲) .برعکس گلوتامین ،اسپاراژین وتریپتوفان دراثرطولانی‌شدن زمان هیدرولیز کم وبیش تجزیه‌شده وازبین می‌روند (۱۳)،تحت شرایط آزمایش ،این تغییرات بطورنسبی‌بیشتر درموردترئونین،آلانین ،والین ،لوسین،متیونین ایزولوسین وفنیل آلانین مشاهده شده‌است .بر عکس باکم‌شدن مدت هیدرولیزوبالارفتن درجه حرارت تاثیری درمقدارسیستئین ظاهرنگردیده لیکن مقدارمتیونین‌حاصل ازآزمایش به‌مدت ۴ ساعت و۱۴۵ درجه با مقایسه ۲۲ساعت و۱۱۰ درجه سانتیگراد درحدود۵۰ درصدکاهش نشان‌داده‌است. درمقایسه‌شرایط چهارگانه هیدرولیزپروتئین تیک لوبیا مشاهده‌می‌گرددکه مقدارلیزین،اسیداسپارتیک والین ،متیونین ،لوسین ومجموع‌اسیدهای آمینه‌حاصله‌ازنسبت ۱میلی‌گرم‌درمیلی‌لیترودر ۲۲ساعت در۱۱۰ درجه‌سانتیگراد بطورمعنی‌داری بیش ازنتایج بدست آمده‌ازسایرشرایط بوده است .بطوریکه قبلا" اشاره‌گردید ،دواسیدآمینه گوگرددار یعنی‌سیستئین ومتیونین بیشتر از اسیدهای‌آمینه‌دیگردستخوش تغییرات شرایط هیدرولیزقرارگرفته‌است . میزان سیستئین بدست آمده‌ازمخلوط‌نمونه‌واسیدبه‌نسبت ۱۰میلی گرم‌درمیلی‌لیترکه‌برای‌مدت ۴ساعت در۱۴۵ درجه هیدرولیزشده‌بودنسبت به‌نتیجه‌حاصله‌ازآزمایش با نسبت ۱میلی‌گرم‌درمیلی‌لیترو۲۲ساعت در ۱۱۰ درجه‌سانتیگرادحدود۵۰درجه‌کاهش یافته‌است . این کاهش درمورد متیونین دردوحالت نامبرده‌به حدود۸۰درصدمی‌رسد .عامل اصلی‌این تغییراتدرمورد سیستئین احتمالا"وجودمقدارقابل توجهی ازمواد هیدروکربوردرنمونه‌بکاررفته‌می‌باشد .درمورد کاهش مقدارمتیونین‌غیرازعامل فوق‌بالا بودن درجه‌حرارت وکوتاه‌بودن‌مدت هیدرولیزبه میزان تقریبا " یکسانی‌موثرواقع‌شده‌است .ازنتایج حاصله‌چنین استنباط می‌شودکه‌تغییرطول مدت و درجه‌حرارت هیدرولیزممکن‌است اثرات متضادی درآزادنمودن وثبات اسیدهای آمینه‌داشته‌باشد. نظیرچنین اثراتی‌درهیدرولیزنوکلئاز ،غذای دام ، ومخلوطی‌ازاسیدهای‌آمینه‌نیزمشاهده‌شده‌است (۲، ۱۵) .درهرحال چنانچه مجموع‌اسیدهای‌آمینه‌آزاد شده‌رابعنوان شاخصی برای تعیین‌مناسبترین‌شرایط هیدرولیزدرنظربگیریم ،معلوم می‌شودکه هیدرولیز لوبیابه‌نسبت ۱میلی‌گرم‌نمونه‌در میلی‌لیتراسید ۶نرمال وبرای مدت۲۲ساعت‌در ۱۱۰درجه‌سانتیگراد نسبت به‌سایرشرایط ارجح‌می‌باشد .ازجانب دیگر در درصورتیکه مقدار اسیدهای آمینه ضروری،معیارتعیین مناسبترین‌شرایط هیدرولیز باشد، مشاهده می‌شودکه بیشترین مقدارلیزین ،ترئونین،لوسین وخصوصا متیونین که مقدارآن درحبوبات ازنظرارزش بیولوژیکی محدوداست (۷، ۹، ۱۸)ازهیدرولیزلوبیا درهمین شرایط حاصل گردیده‌است .

REFERENCES

مراجع مورداستفاده

1- Anon. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 11th . ed. 1970.Ass. Offic. Anal . Chem .,Washington D.C., : 1015 PP.

2- Anon. 1966.Techniques in amino acid analysis . Technicon International Division. Geneva , Switzerland : 156 PP.

3- Baboo, M.N. , R. Oste, N.G.Asp & A. Dahlqvist. 1976.Enzymatic hydrolysis of food protein for amino acid analysis.I.Solubilization of the protein. J.Agric.Food Chem., Vol. 24(2): 386-389.

4- Blackburn, S. 1968.Amino acid determination, methods and techniques.Marcel Dekker, Inc., New York : 271 PP.

5- Block, R.J. 1963.Amino acid analysis of protein hydrolyzates.In: Standard Methods of Chemical Analysis.Six Ed., Part A . Princeton,N.J., : 974 PP.

6- Bressani,R.,L.G.Elias & D.A. Navarrete. 1961.Nutritive value of Central American beans.IV.The essential amino acid content of samples of black beans and cowpeas of Guatemala. J.Food Science,Vol. 26(6):525-532.

7- Catsimpoolas,N., D.A. Rogers,S.J.Circle & E.W.Meyer. 1967.Purification and structural studies of the 11-S component of soybean proteins.Cereal Chem.Vol. 44: 631-637.

8- de Moraes,R.M. & Angelucci Eidiomar. 1971.Chemical composition and amino acid contents of Brazilian beans *(Phaseolus vulgaris)*.J.Food Science.Vol.36 (3):493-494.

9- Dickson,M.H. & L.R.Hackler.1972.Protein quantity and quality in high yielding beans.In: Nutritional improvement of food legumes by breeding.Protein Advisery Group,United Nations,N.Y. : 389 PP.

10-Inglis,A.S., P.W.Nicolis & C.M. Roxburgh.1971 . Hydrolysis of the peptide bond and amino acid modification with hydriodic acid . Aus. J.Biol.Sci.Vol.24 : 1235-1240.

11-Kaldy,M.S. & P.Markakias.1972.Amino acid composition of selected potato varieties.J.Food Science,Vol.37(4):375-377.

12-Maneepun,S.,B.S.Luh,& R.B.Rucker.1974.Amino acid composition and biological quality of lima bean protein.J.Food Science,Vol.39(1):171-173.

13-Michael,G.D.& A.J.Thomas.1973.An investigation of hydrolytic techniques for the amino acid analysis of foodstuffs.J.Sci.Fd.Agric.,Vol.24:1525-1540.

14-Peterson,R.F. 1965.Wheat,botany,cultivation,and utilization.Grampion press Ltd., London,Interscience Publishers,Inc.,New York:422 PP.

15-Roach,D.& C.W.Gehrke.1970.The hydrolysis of proteins.J.Chromatog.,Vol.52 (3): 393-404.

16-Robel,E.1973.Elimination of amino acid losses with protein acid hydrolyzates due to adsorption.Anal.Biochem.,Vol.51:137-145.

17-Salmon,R.E.& K.E.Dunkelgol.1974.Nutritive and economic evaluation of wheat cultivars with varying protein levels: Amino and fatty acid composition and performance in chick and poultry diets.Canadian Journal of Animal Science

Vol.54(4):619-628.

18- Shannon,B.M.,J.M. Hows & H.E.Clark .1972.Interrelationship between dietary methionine and cysteine as related by growth,certain hepatic enzymes and liver composition of weanling rats.J.Nutr.,Vol.102:557-562.

19- Simic,R.& D.Jelenic.1969.Effect of nitrogen nutrition from different fertillizer on the amount and composition of protein amino acid in Bezostaia II.Savermena poljoprivreda,Vol.17 (11-12):263-274.

20- Tarkowski,C.& S.Wojcik.1974.Amino acid composition of protein in triticale wheat and rye.Genetica polonica ,Vol. 15(4):393-403.

21- White,A.,P.Handler & E.L.Smith.1959.Principles of Biochemistry.McGraw-Hill Book Company,New York,Toronto,London:1106 PP.

Optimization of Hydrolytic Parameters for Bean Protein (*phaseolus vulgaris)*

M.Tavakoli and A.Alavi

Associate professor and instructor , respectively.

Department of Agronomy , College of Agriculture ,

University of Tehran , Karaj , Iran .

Received for publication November 5 , 1980 .

ABSTRACT

In this study the effects of the ratio of sample to acid and also the time and temperature on acid hydrolysis of bean protein were studied.The reaction mixtures consisted of 1 and 10 mg sample per ml of 6 N HCl which were hydrolysed for 22 hours at 110°C and for 4 hours at 145°C.The effects of the hydrolysis parameters were determined in terms of mg amino acid per 100 g sample. The two main effects and their interactions on the amounts of the liberated amino acids were significant. The means for the total amino acids derived from the two ratios of 1 and 10 mg sample per ml acid were 13681 and 19464 mg per 100g sample, respectively . The respective means for the total amino acids under 110°C -22 hrs.and 145°C-4 hrs. measured 17584 and 15561 mg per 100 g sample.Hydrolysis of bean protein with a ratio of 1 mg per ml of 6 N HCl for 22 hrs. and at 110°C resulted in 21436 mg per 100g sample which was significantly greater than the means obtained under the other hydrolysis conditions.