اندازه‌گیری پروتئین حبوبات با معرف رنگی [1]

منصور توکلی و اشرف علوی

بترتیب دانشیار و مربی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی ـ دانشگاه تهران

تاریخ وصول هیجدهم آبان ماه ۱۳۵۹

چکیده

استفاده از روشهای رنگ سنجی در تعیین میزان پروتئین در فرآورده های کشاورزی که دامنه تغییرات این مواد در آنها محدود است به آسانی امکان پذیر نمی‌باشد. در این بررسی بجای استفاده از تعدادی از ارقام بطور جداگانه، از مخلوط ده رقم لوبیای سفید و ده رقم عدس برای تعیین معادله خطی، ضریب همبستگی و منحنی استاندارد این محصولات استفاده گردید.

نمونه هائی از آرد لوبیا و عدس به وزن ۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم با اختلاف ۲۵ میلی‌گرم به وسیله دستگاه سنجش پروتئین بودی مورد آزمایش قرار گرفت. ضریب همبستگی داده های حاصله با این روش (لگاریتم درصد عبور نور) با مقدار واقعی پروتئین نمونه های بکار رفته که با روش کلدال مشخص شده بود محاسبه و رابطه بین مقدار پروتئین و درصد عبور نور بصورت معادله خطی و منحنی‌های مربوطه مشخص گردید. برای تعیین دقت نسبی این روش، مقدار پروتئین ۲۰ رقم لوبیا و ۲۰ رقم عدس با روش کلدال و بودی براساس روابط فوق برآورد گردید. اختلاف میانگین درصد پروتئین که با دو روش فوق اندازه‌گیری شده بود، از نظر آماری معنی‌دار نشد.

مقدمه

بطور کلی می‌توان از روشهای مختلف برای تعیین میزان مواد پروتئینی در فرآورده های کشاورزی استفاده نمود لیکن با توجه به ماهیت ماده پروتئینی مورد آزمایش و وجود سایر ترکیبات که معمولا" همراه مواد پروتئینی یافت می‌شوند، محدودیتهائی در انتخاب روش آزمایش وجود دارد. از طرف دیگر عوامل نظیر دقت مورد نیاز، سرعت عمل، سهولت انجام آزمایش و مخصوصا "هزینه های آزمایش می‌تواند در انتخاب روش، موثر افتد. کلدال متداولترین روش اندازه‌گیری مواد پروتئینی است که در حدود یک قرن مورد استفاده قرار گرفته است (۱۳). اساس روش کلدال که یکی از مطمئن ترین روشهای سنجش مواد پروتئینی

۱ـ در انجام این تحقیق از امکانات آزمایشگاهی طرح اصلاح و توسعه کشت حبوبات استفاده گردیده است.

است مبتنی برتعیین میزان ازت درنمونه و تبدیل آن به مقدار پروتئین با استفاده از ضریبی است که بستگی به نوع ماده مورد آزمایش دارد (۱۲). نظر به اینکه ازت قابل اندازه گیری با روش کلدال، ازت غیرپروتئینی و ازت اسیدهای نوکلئیک را نیز شامل می‌شود، از این لحاظ در انتخاب این روش در مطالعات دقیق بیوشیمیائی باید جانب احتیاط را کاملا" رعایت نمود. در این موارد می‌توان روشهای دیگری نظیر آزمایش بیوره[1]، فولین سیوکالتو[2]، نسلر[3] و توربیدی متری[4] را بکار برد (۴). در این روشها، غلظت کمپلکس حاصله از ترکیب مواد پروتئینی و معرف بکار رفته را می‌توان از طریق نورسنجی و یا طیف سنجی تعیین و با کمک منحنی استاندارد و یا جدول تبدیل، مقدار واقعی پروتئین مورد آزمایش را مشخص نمود. کاربرد روشهای فوق گاهی با محدودیتهائی توام می‌باشد. از جمله در آزمایش بیوره باید سعی داشت که پروتئین بکار رفته کاملا" خالص بوده و مقدار کافی از آن در اختیار باشد. با توجه به این امر که استخراج مواد پروتئینی در بسیاری از موارد امکان پذیر نمی‌باشد، از این رو محققین درصدد ابداع روشهائی برآمده اند که بکمک آنها بتوان مواد پروتئینی را در حضور سایر ترکیبات اندازه گیری کرد. یکی از روشهائی که برای این منظور پیشنهاد گردیده براساس ترکیب مواد پروتئینی با بعضی از معرفهای رنگی پایه گذاری شده است (۱۱). در این روش اسیدهای آمینه هیستیدین، آرجینین و لیزین در مولکولهای پروتئینی با معرف رنگی بکار رفته تشکیل کمپلکسی داده که با خارج ساختن کمپلکس تشکیل شده از محیط واکنش و اندازه گیری شدت جذب نور بوسیله معرف رنگی باقیمانده می‌توان مقدار مواد پروتئینی را بطور غیر مستقیم برآورد نمود. معرف های رنگی متداول شامل آمیدوبلاک ۱۰B[5]، اسیدنارنجی ۱۲[6] و نارنجی ۱۲[7] می‌باشد (۵). دو معرف اولی برای روشهای رنگ سنجی معمولی مناسب می‌باشند ولی در روشهای نیمه اتوماتیک از نارنجی ۱۲ استفاده می‌شود. از این روش در سالهای اخیر برای اندازه گیری مواد پروتئینی محصولات مختلف کشاورزی از قبیل دانه های روغنی، غلات، حبوبات، علوفه و ترکیبات نظیر پروتئین ماهی و شیر استفاده گردیده و نتایج حاصله با مقایسه با روش کلدال از دقت لازم برخوردار بوده است (۶، ۹، ۱۰، ۱۱). مضافا" اندازه گیری مواد پروتئینی با استفاده از معرفهای رنگی به آسانی و با سرعت نسبتا" زیاد انجام پذیر بوده و از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه می‌باشد. از این روش برای اندازه گیری پروتئین برنج در مقیاس بسیار کم (نصف دانه) نیز استفاده گردیده بطوریکه نصف دیگر دانه که حاوی گیاهک بوده، قدرت جوانه زدن خود را حفظ کرده است (۷). ضمن در نظر داشتن امتیازات

1- Biuret
2- Folin Ciocalteau
3- Nestler
4- Turbidimetric
5- Amido Black- 10B
6- Acid Orange 12
7- Orange 12

روش فوق وکاربردگوناگونی‌که‌برآن مترتب است تذکراین نکته‌ضروری است‌که‌وجودسایرترکیبات غیرپروتئینی،کاربرداین روش را در مطالعات بیوشیمیائی پایه محدودکرده‌است .برای رفع این نقیصه‌ابتدا مواد‌پروتئینی‌را هیدرولیز نموده‌واسیدهای آمینه‌بدست‌آمده‌را با نین‌هیدرین ترکیب می‌نمایند . غلظت‌کمپلکس‌آبی رنگی‌که ازترکیب نین هیدرین با اسیدهای آمینه‌بدست می‌آید متناسب با مقدارپروتئین موجوددرماده موردآزمایش است‌که‌ازطریق رنگ سنجی قابل اندازه‌گیری می‌باشد (۸). همچنین درمواردی‌که سنجش مقادیرکم‌مواد‌پروتئینی مطرح است می‌توان پروتئین موردآزمایش را ابتدا هیدرولیز کرده‌وسپس اسیدهای آمینه‌حاصله‌را با معرف ارتوپتال آلدئیدواتانل مرکاپتان ترکیب نمود[5] وکمپلکس بدست‌آمده‌را ازطریق فلئورومتری اندازه‌گیری کرد (۳). درسالهای اخیرروشهای جدیدی براساس انعکاس نورمادون قرمز همچنین فعال نمودن نوترون وپروتون بکار گرفته‌شده‌است . همچنین دستگاههای اتوماتیک که‌اساس‌کارآن مبتنی‌برروش کلدال است به اسامی تجارتی کل فاس و کل تک ساخته شده است . روشهای اخیرطی‌آزمایشهای گوناگون با هم‌مقایسه‌گردیده‌ودقت نسبی وکاربرد آنها مشخص شده‌است (۱۳).

لازم به‌یادآوری است‌که‌استفاده‌ازروشهای فوق صرفا "بمنظورتعیین مجموع‌مواد‌پروتئین یکی موردآزمایش بوده‌واطلاعی درموردارزش بیولوژ آنها حاصل نمی‌شود .برای تعیین این ارزش‌ابتدا مقدارپروتئین درنمونه‌ای‌آماده مورد نظراز طریق روش کلدال مشخص می‌شود. نمونه دیگری‌نیز بکمک پپسین هیدرولیزشده‌وقسمت هضم‌شده‌با کمک صافی جدا می‌گردد .سپس مقدارپروتئین درقسمت هضم‌نشده‌با روش کلدال تعیین گردیده وباکسر کردن این مقدار ازمجموع مواد‌پروتئینی،مقدار پروتئین قابل هضم بدست می‌آید (۲).

دربررسیهای مقدماتی که‌بمنظورگروه‌بندی ارقام محصولهای زراعی ازنظرصفات مختلف نظیرمیزان پروتئین صورت می‌گیردودرمواردی که‌تجزیه‌تعدادزیادی نمونه ضرورت داشته ولی دقت زیاددرموردنتایج حاصله‌مطرح نمی‌باشد میتوان ازروشهای ساده وسریعی که‌درفوق به آنها اشاره‌گردیده استفاده‌نمود. باتوجه‌به سرعت وسهولت کاربا دستگاه‌سنجش پروتئین یودی که‌براساس ترکیب مواد پروتئینی با معرف رنگی بشرح فوق استوار است وازطرفی نظربا اینکه‌این روش مورد تائیدجامعه‌رسمی شیمی‌دانان‌کشاورزی و جامعه‌شیمی‌دانان آمریکائی قرارگرفته‌است گروه‌زراعت واصلاح نباتات دانشگاه‌تهران اقدام به‌تهیه‌یک واحدازدستگاه نامبرده‌نموده که‌مواردا ستفاده‌متعددی درزمینه‌تعیین‌میزان پروتئین حبوبات مختلف وبعضی ازدانه‌های روغنی داشته‌است . درروش یودی طبق‌دستورالعمل آن ، برای تهیه‌منحنی استاندارد و جدول تبدیل ،به‌حداقل ۱۵ رقم‌ازهریک ازمحصولات‌که دارای دامنه‌نسبتا " وسیعی ازموادپروتئینی

1-Kjelfoss

2-Kjeltec

باشد نیازست .باتوجه به‌این نکته‌که‌دسترسی به‌این تعداد ارقام باخصوصیات موردنظرا غلب میسرنیست ،دراین بررسی سعی‌گردیدبا نجزیه مقادیرمختلف ازمخلوطی ازچندرقم ازهریک از حبوبات موردنظرمعادلات خطی ونهایتا منحنی‌های استاندارد مربوطه راکه‌درسنجش موادپروتئینی این محصولات بکارمی‌روند ،بدست آورد.

مواد وروشها

درانجام این تحقیق ازمحصول ارقام مختلف لوبیای سفیدوعدس‌که درمزرعه‌آزمایشی دانشکده‌کشاورزی دانشگاه‌تهران واقع‌درکرج کشت شده‌بود ،استفاده‌گردید. بمنظورپیدانمودن معادله‌خطی وضریب همبستگی بین نتایج‌حاصله ازدوروش‌کلدال ویودی ،ابتدا مقدارمساوی از دانه‌ده رقم‌لوبیا وده‌رقم عدس‌بطورجداگانه‌با هم‌مخلوط وسپس مقدار ۵۰گرم‌ازهریک ازدومخلوط توسط آسیاب دستگاه‌یودی آردگردید.آردحاصله ازالک ۲۰مش[1] عبوردا ده‌شدتا آردبا ذراتی‌به‌قطر متوسط ۴۲۰ میکرون حاصل گردد.برای مقایسه دوروش‌کلدال ویودی مقدار ۵۰گرم‌ازهریک از ۲۰ رقم لوبیا و۲۰رقم‌عدس‌که‌بطورتصادفی انتخاب شده‌بودند ،بطریق فوق آردگردید.مقدارپروتئین سه‌نمونه ۵۰۰ میلی‌گرمی ازمخلوط ده رقمی و مخلوط های ۲۰ رقمی لوبیا و۲۰رقمی عدس‌با استفاده‌ازروش‌کلدال(۱) تعیین گردید. نمونه‌هائی‌به‌وزن ۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم‌با اختلاف ۲۵ میلی‌گرم‌ازآردمخلوط ده‌رقم لوبیا وده رقم عدس‌درسه‌تکرار با دستگاه‌یودی بشرح زیرمورد آزمایش قرارگرفت.

ابتدا ۴۰ میلی‌لیترازمعرف رنگی ازوسولفو نیک دای(نارنجی ـ جی)[2] بوسیله‌پی‌پت اتوماتیک به‌لوله‌واکنش[3] دستگاه‌منتقل گردید.سپس نمونه توزین‌شده موردآزمایش ازطریق دهانه‌جانبی لوله واکنش به‌معرف اضافه‌شد.لوله‌واکنش سپس درمحل مخصوص دستگاه بهمزن محکم‌گردیدوبرای مدت سه‌دقیقه با شدت بهم‌زده‌شد.مخلوط معرف و نمونه‌را بعدازمخلوط شدن به‌ظرف پلاستیکی درب داربه‌حجم ۱۰۰ سانتیمترمکعب منتقل وتا موقع مصرف دربن ماری ۲۵ درجه‌سانتیگراد نگهداری گردید.برای سنجش غلظت آن قسمت از معرف که‌بوسیله‌مولکولهای پروتئین موجود در نمونه‌جذب نشده‌بود ،مقداری ازمخلوط معرف و نمونه‌را که‌بطریق فوق تهیه‌گردید درقیف مجهز به‌صافی الیاف شیشه‌که‌قبلا[4] دردهانه‌کووت دستگاه رنگ سنج تثبیت شده‌بود ،قرارداده‌شد. پس‌ازاطمینان ازپرشدن کووت ازمعرف رنگی صاف شده‌وهواگیری کووت ، درصدعبورنوردرطی حداکثریک دقیقه‌خوانده‌شد.پس‌ازانجام این قسمت ازآزمایش ، اقدام به‌محاسبه معادله‌خطی وضریب همبستگی بین میزان واقعی پروتئین نمونه‌ها با روش‌کلدال ودرصدعبورنورکه از دستگاه یودی بدست‌آمده‌بود ،گردید. برای حصول اطمینان ازدقت روش موردبررسی،سه‌نمونه

1- Mesh
2- Azosulfonic dye(Orange G)
3- Reaction tube
4- Kuvett

۲۰۰ میلی‌گرمی از آردهریک از ۲۰رقم‌لوبیا وعدس با معرف رنگی مخلوط و بطریق فوق موردآزمایش قرارگرفت .داده‌های مربوط به‌درصدعبورنور نمونه‌ها با استفاده‌از معادلات بدست آمده به میلی گرم‌پروتئین تبدیل ومیانگین اختلاف درصدپروتئین مربوط به‌دوروش‌کلدال و یودی با استفاده‌از آزمون t[1] موردمقایسه‌قرارگرفته همچنین رابطه‌بین میزان پروتئین ودرصدعبور نوربصورت منحنی‌های استاندارد نشان داده‌شد.

نتایج وبحث

به‌منظورتعمیم‌کاربردروش رنگ سنجی در اندازه‌گیری مقدارپروتئین حبوبات ،مخلوطی ازتعدادی ازارقام‌لوبیا وعدس بطورجداگانه موردآزمایش قرارگرفت . رابطه‌بین مقدار پروتئین ودرصدعبورنوربصورت معادله‌خطی برای لوبیا وعدس به‌ترتیب زیر مشخص گردید :

$$y = 96/27\ x - 98/77$$

$$y = 92/30\ x - 92/29$$

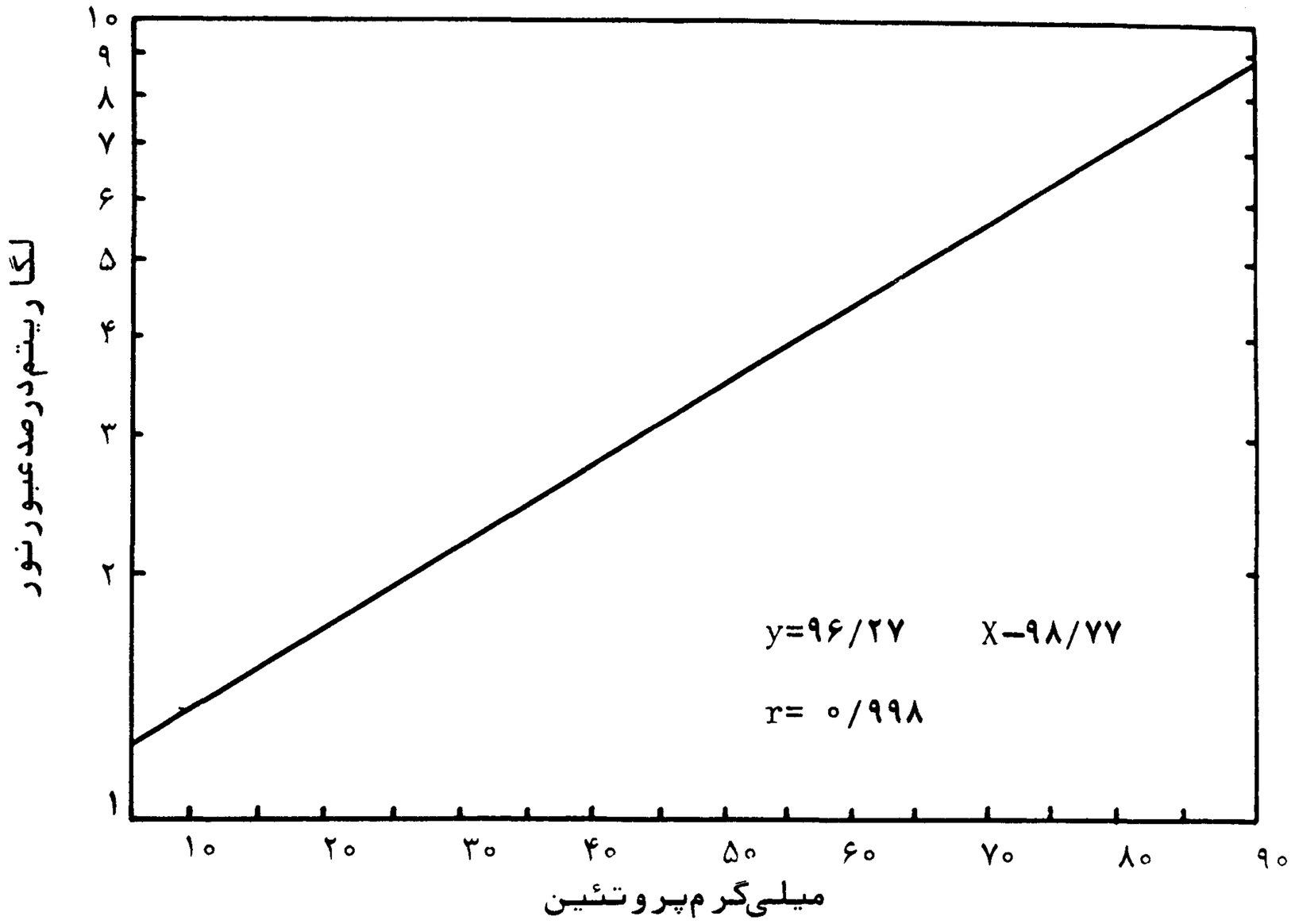
دراین معادلات ، x معرف لگاریتم درصدعبور نور و y برابرمقدارپروتئین برحسب میلیگرم می‌باشد (اشکال ۱و۲).

ضریب همبستگی بین نتایج حاصل از دو روش بکاررفته برای لوبیا وعدس بترتیب معادل ۰/۹۹۸ و۰/۹۹۶ گردید. درمطالعاتی‌که بهمین منظورانجام‌گرفته ،ضریب همبستگی‌بین دوروش کلدال ورنگ سنجی‌برای دانه‌های‌روغنی وحبوبات وعلوفه‌وترکیباتی‌نظیرشیروپروتئین استخراج شده‌ازماهی‌برابر۹۹۷/۰گزارش‌شده‌است (۵،۹،۱۰) .بامقایسه ضرائب همبستگی‌فوق چنین استنباط می‌شودکه‌بااستفاده‌ازمقادیرمختلف ازیک نمونه‌ازموادموردآزمایش‌میتوان‌نسبت به‌تهیه منحنی‌های استاندارد‌وجداول تبدیل مبادرت نمود.

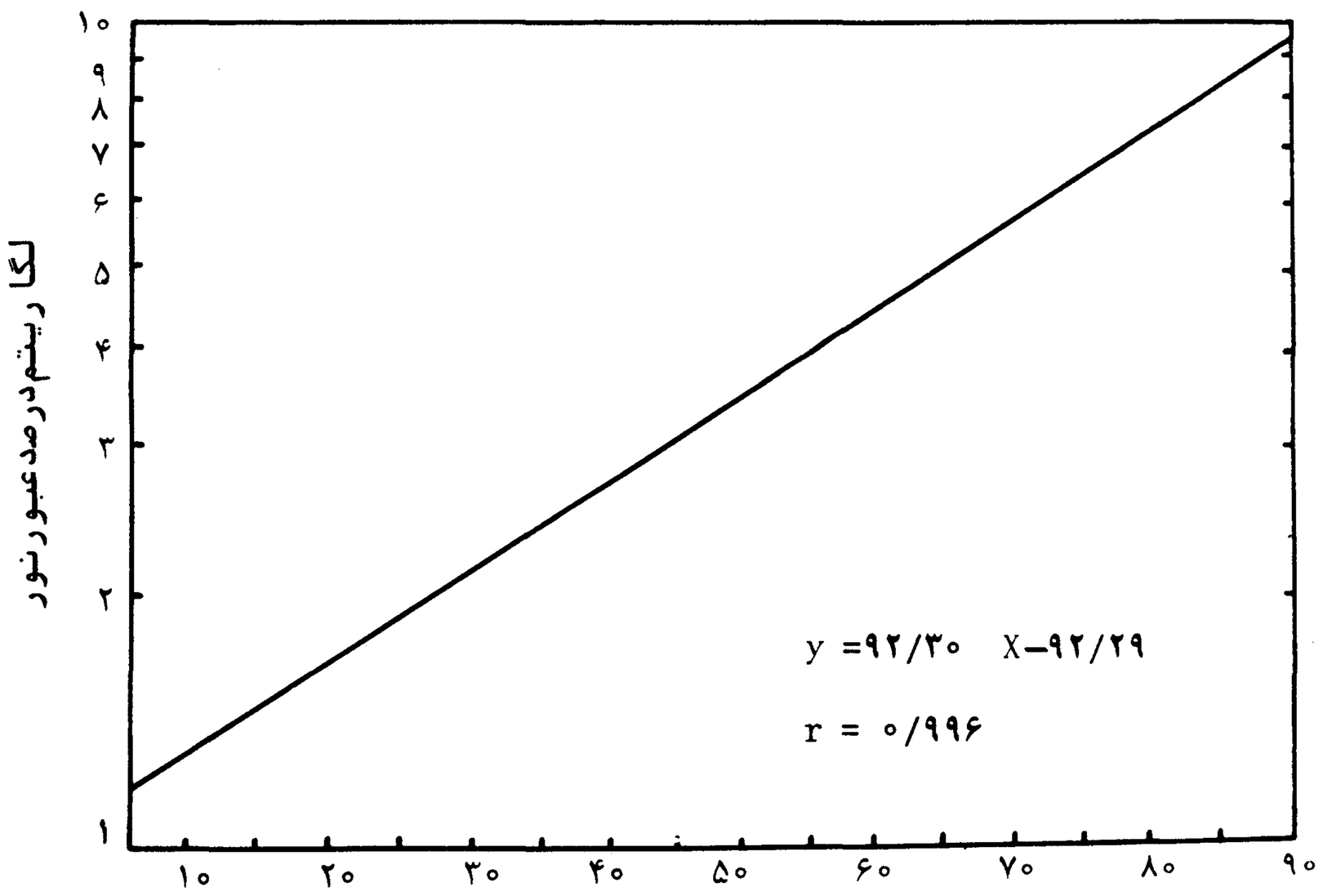
برای‌تعیین‌دقت داده‌های‌حاصل‌ازروش یودی نسبت به‌کلدال ،درصدپروتئین ۲۰رقم‌لوبیا و۲۰ رقم‌عدس بوسیله‌دوروش نامبرده‌اندازه‌گیری گردید (جداول۱و۲) .

میانگین‌درصدپروتئین‌ارقام‌لوبیابا‌روش‌یودی ۲۱/۰درصدکمترازمیانگین‌حاصله‌ازروش‌کلدال بود. درمورد عدس میانگین نتایج‌روش‌یودی۷۰/۰درصدنسبت به‌نتایج‌روش کلدال افزایش نشان‌داد .اختلاف میانگین درصدپروتئین ارقام‌لوبیا وعدس که با دوروش فوق اندازه‌گیری شده‌بود،ازنظر آماری معنی‌دارنگردید.درصدا ختلاف نسبی مقدار پروتئین ارقام‌لوبیا که‌با دوروش نام برده اندازه‌گیری شد،معادل ۰/۹۹ ـ گردید. این اختلاف درموردارقام عدس برابر ۰/۳۰+درصد برآورد شد . باتوجه به نتایج حاصله ، چنین استنباط می‌گرددکه‌داده‌های حاصل از کاربرد روش یودی که‌برمبنای تغییرات بکار رفته‌دراین بررسی بدست‌آمده‌است ،ازدقت نسبی قابل قبولی برخوردارمی‌باشد.بدین‌ترتیب به‌آسانی‌می‌توان نسبت به‌تهیه منحنی‌استاندارد و جدول تبدیل برای محصول هائی که‌دامنه تغییرات مواد‌پروتئینی آنها محدود است ، اقدام نمود.

1- t test



شکل ۱ـ منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین در ارقام لوبیای سفید با روش بیوره.



شکل۲ـ منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین در ارقام عدس با روش بیوره.

جدول ۱ـ مقایسه دوروش یودی وکلدال در اندازه‌گیری درصد پروتئین ۲۰ رقم لوبیای سفید

ردیف	یودی	کلدال	اختلاف دو روش	درصد اختلاف نسبی[1]
۱	۲۰/۴۵	۲۰/۱۲	+۰/۳۳	+۱/۶۱
۲	۱۹/۰۴	۱۹/۴۳	−۰/۳۹	−۲/۰۰
۳	۲۱/۰۰	۲۱/۴۴	−۰/۴۴	−۲/۰۵
۴	۱۹/۵۹	۱۹/۹۴	−۰/۳۵	−۱/۷۵
۵	۱۸/۷۲	۱۸/۴۴	+۰/۲۸	+۱/۴۹
۶	۱۹/۱۲	۱۹/۴۴	−۰/۳۲	−۱/۶۵
۷	۲۰/۰۸	۲۰/۱۲	−۰/۰۴	−۰/۲۰
۸	۲۰/۴۲	۲۰/۲۵	+۰/۱۷	+۰/۸۳
۹	۲۱/۳۶	۲۱/۸۷	−۰/۵۱	−۲/۳۳
۱۰	۲۰/۲۷	۲۱/۶۲	−۱/۳۵	−۶/۲۴
۱۱	۲۱/۸۵	۲۱/۸۷	−۰/۰۲	−۰/۰۹
۱۲	۲۲/۱۳	۲۲/۵۶	−۰/۴۳	−۱/۹۱
۱۳	۲۲/۴۴	۲۳/۱۱	−۰/۶۷	−۲/۸۹
۱۴	۲۲/۱۹	۲۲/۱۳	+۰/۰۶	+۰/۲۷
۱۵	۲۰/۲۰	۲۰/۱۲	+۰/۰۸	+۰/۳۹
۱۶	۲۲/۶۶	۲۲/۹۳	−۰/۲۷	−۱/۱۸
۱۷	۱۸/۳۱	۱۸/۹۰	−۰/۵۹	−۳/۱۲
۱۸	۲۲/۴۰	۲۲/۰۰	+۰/۴۰	+۱/۷۸
۱۹	۲۲/۴۰	۲۲/۱۲	+۰/۲۸	+۱/۲۵
۲۰	۲۳/۰۶	۲۳/۴۴	−۰/۳۸	−۱/۶۲
میانگین	۲۰/۸۸	۲۱/۰۹	−۰/۲۱	−۰/۹۹

۱ـ $\frac{\text{اختلاف دو روش}}{\text{درصد پروتئین بزرگتر}} \times 100 = \text{درصد اختلاف نسبی}$

جدول ۲ـ مقایسه دوروش یودی وکلدال دراندازه‌گیری درصدپروتئین ۲۰رقم عدس

ردیف	یودی	کلدال	اختلاف دو روش	درصدا ختلاف نسبی
۱	۲۶/۱۸	۲۶/۵۰	−۰/۳۲	−۱/۲۱
۲	۲۷/۱۲	۲۶/۸۷	+۰/۲۵	+۰/۹۲
۳	۲۷/۲۸	۲۷/۲۵	+۰/۰۳	+۰/۱۱
۴	۲۷/۳۸	۲۷/۰۰	+۰/۳۸	+۱/۳۹
۵	۲۶/۷۰	۲۶/۲۰	+۰/۵۰	+۱/۸۷
۶	۲۶/۳۳	۲۵/۹۴	+۰/۳۹	+۱/۴۸
۷	۲۶/۹۷	۲۶/۹۴	+۰/۰۳	+۰/۱۱
۸	۲۷/۱۷	۲۷/۱۹	−۰/۰۲	−۰/۰۷
۹	۲۶/۹۷	۲۶/۶۹	+۰/۲۸	+۱/۰۴
۱۰	۲۵/۸۹	۲۶/۰۰	−۰/۱۱	−۰/۴۲
۱۱	۲۶/۰۱	۲۶/۸۷	−۰/۸۶	−۳/۲۰
۱۲	۲۴/۸۲	۲۴/۵۰	+۰/۳۲	+۱/۲۹
۱۳	۲۶/۱۱	۲۶/۴۱	−۰/۳۱	−۱/۱۷
۱۴	۲۴/۶۴	۲۴/۱۵	+۰/۴۹	+۱/۹۹
۱۵	۲۶/۱۱	۲۶/۶۹	−۰/۵۸	−۲/۱۷
۱۶	۲۵/۴۵	۲۵/۰۲	+۰/۴۳	+۱/۶۹
۱۷	۲۵/۳۹	۲۵/۲۰	+۰/۱۹	+۰/۷۵
۱۸	۲۵/۸۷	۲۵/۷۲	+۰/۱۵	+۰/۵۸
۱۹	۲۵/۸۴	۲۵/۶۱	+۰/۲۳	+۰/۸۹
۲۰	۲۵/۴۵	۲۵/۳۷	+۰/۰۸	+۰/۳۱
میانگین	۲۶/۱۸	۲۶/۱۱	+۰/۰۷	+۰/۳۰

۱ـ $\frac{100}{\text{درصدپروتئین بزرگتر}} \times$ مقدارا ختلاف = درصدا ختلاف نسبی

مراجع موردا ستفا ده

REFERENCES

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

2-Anon.1972.Animal feeding stuffs-determination of crude protein.Offic J. European Communities.No.L 123/6,3rd Commision Directive,the Netherlands.

3-Butcher,F.C.& O.H.Lowry.1976.Measurement of nanogram quantities of protein by hydrolysis followed by reaction with orthophthalaldehyde on determination of glutamate.Anal.Biochem.Vol.76:502-523.

4-Clark.J.M.1964.Experimental biochemistry.W.H.Freeman and Company , San Francisco and London:228 PP.

5-Conetta,A.,L.Stookey & H.Zehrder.1970.An automated system for the determination of milkfat,protein and lactose in milk.In : Advances In Automatical Analysis , Technicon Inter.Cong.Vol.2:81-85.

6-Gehrke,C.W.& L.L.Wall.1971.Automated trinitrobenzene sulfonic acid method for protein analysis in forage grain.J. AOAC.Vol.54(1): 187-189.

7-Kaul,A.K.,R.D.Dhar & M.S.Swaminathan.1972.Microscopic and other dye-binding techniques of screening for cereal.FAO/IAEA,No.IAEA/ S/M/132-10.

8-McCrath,R.1972.Protein measurement by ninhydrin determination of amino acid released by alkaline hydrolysis.Anal. Biochem.Vol.49: 95-102.

9-Rome,C.R.& C.G.Christopher.1979.Determination of optimum parameters for protein isolation from Krill *(Euphasis superba)* waste products. J.Food Sci.Vol.44(5):1425-1429.

10-Rome,C.R.,A.L.Labin & E.J.Rolfe.1975.Properties of protein isolate prepared from ground seed.1_Development and evaluation of a dye-binding procedure for the measurement of protein solubility.J. Food Technol.Vol.10:541.

11-Udy,D.C.1971.Improved dye method for estimating proteins.J.Amer . Oil Chemists Soc.Vol.48(1): 29A-33A.

12-White,A.,P.Handler,& E.L.Smith.1964.Principles of Biochemistry . McCraw-Hill Book Company,New York,Toronto,London:1106 PP.

13-Williams,P.C.,K.H.Norris,R.L.Johnson,K.Standing,R.Fricioni,D. Macaffery & R.Mercier.1978.Comparison of physiochemical methods for measuring total nitrogen in wheat.Cereal Food World.Vol.23 (9):549-547.

Iranian J.Agric.Sci.,Vol.11,No.4,1981.

Protein Determinations in Pulse Crops by Dye-Binding Techniques

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 9,1980.

ABSTRACT

It appeared almost impractical to employ dye-binding techniques such as Udy procedures for measurements of protein in Agricultural commodities having a narrow range of Protein contents.In this study , instead of using a number of separate cultivars,a mixture sample of 10 cultivars of white bean and also 10 cultivars of lentil was taken for the developement of standard curves and correlation coefficient.

Samples weighing 50 to 400 mg,were analyzed by a Udy protein analyzer.The observations (logs of %T)were highly correlated with the amounts of Protein measured by Kjeldahl method.The relationships between Protein in mg and the corresponding logs of percent transmission were presented graphically and as regression equations.The differences between Protein contents of 20 cultivars of the two pulses by Kjeldahl and Udy using the above relationships were not statistically significant.