تاثير النقع و الانبات في التركيب التقريبي وخاصيتي الذوبانية ودرجة التحلل للبروتينات المعزولة في بذور الماش

Effect of soaking and germination on approximate composition and certain characterize of isolate protein (solubility and degree of hydrolysis) Of mung bean *Vigna radiate*

عبد القادر هادي علوان سحر صبيح مطشر مصطفى جمعة فرحان
وزارة العلوم والتكنولوجيا
Abdul kadir Hadi Alwan Sahr Sebeh Mustafa Farhan Guma
Ministry of Science and Technology

الملخص

نقعت اربعة مجاميع من بذور الماش *Vigna radiate* المحلي لمدة 24 ساعة. تم انبات ثلاثة مجاميع منها للمدد 3,2,1 ايام بين قطعتين من القماش المبلل بالماء المقطر وفي درجة حرارة الغرفة 23م واعتمدت المجموعة الرابع منها كنموذج تنقيع اضافة الى معاملة المقارنة من دون نقع. قدرت المكونات الكيميائية للبذور المزالة القشور: البروتين الخام والزيت والرماد والرطوبة والالياف وبقية الكاربوهيدرات اضافة الى البروتين المعزول ودرجة تحلله وذوبانيته للمجاميع الاربعة ومقارنتها مع معاملة السيطرة. بينت نتائج التحليل الكيميائي لمعاملة السيطرة ان نسبة البروتين الخام بلغت 23.53 %والزيت 1.83 % والرماد 3.11 % والرطوبة 7.5 % والالياف 17.41 والكاربوهيدرات 46.89 %، في حين كانت النتائج لكمية البروتين المعزول والبروتين الذائب ودرجة التحلل هي 12.85 % و1.5% و1.4 % على التوالي، ادت عملية الانبات الى حصول زيادة معنوية في كلا من البروتين الخام والبروتين المعزول ودرجة التحلل و بلغت اقصاها في اليوم الثاني من الانبات و بلغت 25.29 و15.34 و2.11%على التوالي في حين بلغت اعلي قيمة للبروتين الذائب في اليوم الثالث من الانبات وكانت 9.53%. بينما ادت عملية الانبات الى نقصان طفيف في كمية الزيت وتغييرات بسيطة غير ثابتة في كمية الالياف وبقيه الكاربوهيدرات.

الكلمات المفتاحية: الانبات، الماش، البروتينات المعزولة

Abstract:

Four groups of local mung bean *Vigna radiate* were soaked for 24h. Three of these were germinated for 1, 2 and 3 days at room temperature 23°Cusing wet cloths between technique while the fourth was depending as a soaking sample in addition to control treatment without soaking. Approximate chemical composition (crud protein, oil, ash, moisture, fibers and carbohydrates) and mung protein isolates (MPI) with its solubility SP and degree of hydrolysis DH, were determined for four dehulling groups besides control sample. Dehulling mung bean DMB flour contained 23.53, 1.83, 3.11, 7.5, 17.14 and 46.89% crud protein, oil, ash, moisture, fibers and carbohydrates, respectively. While the values of MPI, SP, and DH were 12.85, 1.5 and 1.4 % respectively .During germination significantly increasing in (CP) (MPI) and (DH) and the maximum values were 25.29, 15.34 and 2.11%respectively after two days, while maximum value was 9.53% for protein solubility after 3 days of germination. While oil content diminished a little and slight inconstant changes were shown in fibers and rest carbohydrates.

Key words: germination, mung bean, isolate protein

المقدمة

تعد عائلة البقوليات Fabaceae من العوائل النباتية المهمة كونها تشمل اعدادا كبيرة من المحاصيل الحقلية الاقتصادية منها الباقلاء والحمص والماش وغيرها. تحتوي البقوليات على نسبة عالية من البروتينات 40-20 % [17] لذلك فهي تلعب دورا مهما في تغذية الانسان سواء بالتغذية المباشرة او دخولها في االعديد من المنتجات الغذائية، الا ان تلك الخصائص تكون محدودة اذا قورنت بالبروتينات الحيوانية الاخرى [10] ومن هذه الخصائص القابلية الذوبانية والاستحلابية والتهليم وامكانية الارتباط بالماء وقابلية تكوين الرغوة [17] وتعتبر الخاصية الذوبانية من اهم الخصائص الوظيفية للبروتينات لارتباط هذه الخاصية بالخصائص الاخرى [7] وقد استخدمت طرق فيزيائية عديدة لزيادة هذه الخاصية منها الترشيح الفائق [14] والتشعيع بجرعات واطئة [2] والطرق الكيميائية [21] والانزيمية، ويفضل التحلل الانزيمي لان نواتجه تكون صغيرة بحجمها الجزيئي مما يؤدي الى انتشار افضل وتحسين خصائص المنتج الغذائي اضافة الى تداخلات جانبية غير مرغوب بها بالغذاء اقل [7]. ان الاساس العام لهذه الطرق هو ان يجرى تحويرمناسب في تركيب البروتين الشكلي بعملية التحلل الجزئي لهذه البروتينات واعطائها القابلية على التداخل مع بقية مكونات الغذاءالاخرى وتكوين نظام غذائي جديد ومتجانس ومقبول نسبيا. اما من الناحية الفسيولوجية فان هذه البروتينات تتميز بذوبانية وامتصاصية عالية وخصوصا تحت الظروف الحامضية [24]. لقد ازداد الطلب على الاغذية الخاصة والحاوية على البروتينات المتحللة بشكل متزايد من قبل الانسان فهي تدخل في اغذية كبار السن والمرضى الذين يشكون من ضعف فرز العصارات الهاضمة وفي اغذية لاطفال الذين يتميزون بقلة قابلية الهضم وفي الاغذية الرياضية وانتاج وحدات الاغذية المسيطرة على الوزن وكذلك في اغذية الاستخدام العام [7]. استعمل التحليل الانزيمي في التصنيع الغذائي لاغراض تحسين النسجة والارتباط بالماء [16] وفي ازالة المرارة وتحسين تركيب البروتين من

الحوامض الامينيه [18]. يسلط هذا البحث الضوء على اثر الانبات على التركيب التقريبي وخاصيتي الذوبانية ودرجة التحلل للبروتينات المعزولة من بذور الماش المزالة القشور.

المواد وطرق العمل

استعملت البذور الناضجة من الماش والتي تم الحصول عليها من السوق المحلية وتم استبعاد البذور الغريبة و الاوساخ والاتربة،واعتمدت البذور الناضجة وغسلت بالماء المقطر.

التنقيع والانبات

تم تقسيم الماش الى خمس نماذج بوزن 100 غم/ نموذج نقعت اربع نماذج كل واحدة على حدة لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة الغرفة 23م جفف نموذج التنقيع في فرن نوع Lab tech وبدرجة حرارة 50م اما الثلاثة البقية تم تعقيمها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم التجاري وبتركيز 1-2% ولمدة نصف ساعة، ثم غسلت لحين التخلص من الكلور ثم وضعت بين طبقتين من قماش الخام الجديد المغسول والمعقم واستعمل الماء المقطر المحتوي على الهايبوكلورات وبتركيز 8-10 جزء بالمليون برشه على البذور لمنع التلوث الاحيائي والحفاظ على الرطوبة المناسبة لعملية الانبات وللمدد 3,2,1 ايام على التوالي ثم جففت النماذج بنفس الفرن المذكور وتحت نفس الحرارة. ثم طحنت النماذج الاربعة اضافة الى نموذج السيطرة كلا على حدة بطاحونة بلغارية الصنع وبقطر 0.1 ملم ووزنت وعبات باكياس نايلون وحفظت في الثلاجة لتكون جاهزة لاجراء التحاليل الكيميائية والمقارنة مع نموذج السيطرة.

التحاليل الكيميائية

تم قياس النسبة المئوية للبروتين والزيت والرطوبة والرماد في نماذج الماش وحسب الطرائق المعتمدة [4] ونسبة الالياف اعتمدت الطريقة المعتمدة من قبل [19] امابقية الكاربوهيدرات فحسبت على اساس الفرق بالوزن وكما يلي:

% الكاربوهيدرات = 100- (البروتين + الزيت + الرماد+الرطوبة + الالياف)

تقدير البروتين الخام

تم تقدير البروتين الخام باستعمال طريقة المايكروكلدال Micro – Kjeldal. تم الهضم بجهاز Selecta وعلى درجة حرارة 550م، وجرى التسحيح ضد حامض الهيدروكلوريك ذو عياري 0.1N وحسبت نسبة البروتين الخام بضرب قيمة النتروجين الناتجة بالعامل العام 6.25.

تقدير نسبة الزيت

تم تقدير نسبة الزيت بجهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet apparatus. وضع النموذج المطحون في كشتبان الاستخلاص السليلوزي thimbleواستعمل الايثرالنفطي Petroleum ether كمذيب للاستخلاص ولمدة 8 ساعات تلتها ازالة المذيب بجهاز المبخر الدوار نوع IKA RV 05 basic تحت الضغط المخلخل عند درجة حرارة 50م وبعد الوزن تم حساب النسبة المئوية للزيت في النماذج.

تقدير الرماد

تم تقدير الرماد في النماذج بحرق وزن غرام واحد من النموذج في فرن الترميد نوع Lab tech وبدرجة حرارة 550م لمدة ساعتين لحين الحصول على رماد لونه ابيض او رمادي فاتح وبعد الوزن حسبت النسبة المئوية للرماد.

تقدير نسبة الرطوبة

قدرت رطوبة طحين الماش الخمسة بعد وزنها في فرن Lab tech وبدرجة حرارة 105م ولمدة ساعة بعدها وضعت النماذج في مجفف زجاج Discator يحوي هلام السليكا الذاتي وبعد الوزن اعيد النموذج الى الفرن لمدة ساعة اضافية ثم وضع بالمجفف الزجاجي ثم وزن وتكرر العملية لحين الوصول الى الوزن الثابت ثم حسبت النسبة المئوية للرطوبة.

تحضير وتقدير بروتين الماش المعزول

تم استخلاص بروتين الماش بنفس الطريقة المتبعة في استخلاص البروتين من طحين الصويا من قبل Qi [20]، اذ تم ازالة الزيت من طحين بذور الماش المعامل اضافة الى نموذج السيطرة بالايثر النفطي petroleum ether ولمرتين وبنسبة (1 نموذج : 2 مذيب) ولمدة 10 دقائق لكل مرة وجففت بالفرن المذكور اعلاه وبدرجة حرارة 50 م، ثم طحنت النماذج بقطر 0.1 ملم، ثم علق 10 غم من المطحون المزال الدهن في 100 مللتر ماء مقطر مزال الايونات ثم عدلت الحامضية الى PH=9 باستعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم ذو 0.1N لاذابة البروتينات ثم اجريت عملية النبذ المركزي للعالق بجهاز نوع Selecta وبسرعة 5000 دورة/ دقيقة ولمدة 25 دقيقة.فصل الرائق وعدلت حامضيته الى PH=4.5 نقطة التعادل الكهربائي Isoelectric point بمحلول حامض الهيدروكلوريك ذو 0.1N لغرض ترسيب البروتين، اجريت عملية النبذ المركزي للعالق بنفس الجهاز المذكور اعلاه، ثم غسل البروتين بالماء المقطر المزال منه الايونات ولمرتين. ثم خلط مع الماء المقطر وبنسبة 10% وعدلت الحامضية الى PH=7 وجففت بفرن Lap tech وبدرجة حرارة 50م وتم قياس البروتين والزيت والرماد والرطوبة.

تحضير وتقدير البروتين الذائب في بروتين الماش المعزول

تم قياس النتروجين الذائب لنماذج الماش وحسب الطريقة التي ذكرها Bera [6] وضع 100 ملغم من البروتين المستخلص في 9 مللتر من الماء المقطر المزال منه الايونات وعدلت الحامضية الى PH = 7، ثم اكمل حجم العالق الى 10مللتر وخلط بالخلاط المغناطيسي نوع LABINCO هولندي الصنع ولمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة، اجريت عملية النبذ المركزي بنفس الجهاز المذكور اعلاه وتحت نفس الظروف ثم اجري قياس النتروجين الذائب (للرائق)، و اجري قياس النتروجين الكلي لنموذج 100 ملغم ولكل معاملة .

$$\%\ \text{النتروجين الذائب} = \frac{\text{س}}{\text{ص}} \times 100$$

س = النتروجين الذائب للرائق (ملغم)

ص=النتروجين الكلي (100ملغم)نموذج

% بروتين الذائب = النتروجين الذائب x6.25

قياس درجة التحلل

تم قياس درجة التحلل بطريقة [12]. خلط 0.2 غم من بروتين الماش المستخلص مع 20 مللترمن مزيج 10% محلول ثلاثي كلورو حامض الخليك Trichloro acetic acid (TCA) ثم اجريت عملية النبذ المركزي للخليط وحسبت كمية النتروجين للرائق وللنموذج الكامل كلا على حدة. ثم قدرت درجة التحلل وفق المعادلة :-

$$\text{\% درجة التحلل} = \frac{\text{س}}{\text{ص}} \times 100$$

س= النتروجين الذائب في 10 %محلول T. C .A(ملغم).

ص= النتروجين الكلي (ملغم)

التحليل الاحصائي:

تم تحليل نتاج التجربة باستخدام البرنامج الاحصائي .SAS- system وتمت المقارنة بين المتوسطات باستعمال اختبار LSD عند مستوى معنوية $p\leq 0.01$ [22] .

النتائج والمناقشة

قدرت النسب المئوية لمكونات بذور نموذج الماش المنقوع لمدة 24 ساعة اضافة الى النماذج التي تم انباتها للمدد 3,2,1 ايام فضلا على نموذج السيطرة. جدول (1) تبين النتائج حصول زيادة معنوية عند مستوى $P<0.01$ في محتوى البروتين الخام الكلي عند الانبات للمدد 3,2 يوم مقارنة مع بقية المعاملات ،بينما لم تكن الفروق معنوية في الزيت والرطوبة والالياف والرماد وبقية الكاربوهيدرات قد تكون هذه الزيادة في حاصل البروتين ناتجة بفعل تخليق الانزيمات (بروتينات) او بفعل تغيير في التركيب الناتج من تكسر المركبات الاخرى [5] الا ان عملية الانبات ترافقها تحللات بروتينية مختلفة مما يؤدي الى احداث تحويرات وتحويلات مختلفة خلال تلك العملية وبمرور الوقت وبسرع مختلفة تؤدي الى تكوين ببتيدات متعددة باوزان جزيئية جديدة [1]، من ناحية اخرى لقد وجد ان بذور الماش تفقد 7-10% من اجمالي الوزن الكلي تقريبا في فترة التنقيع والانبات للمدد المذكورة، وهذا ناتج من تكسر بعض المركبات وخصوصا السكريات النزرة Oligosaccharides والزيت، اذ لاحظ [1] تكسر هذه السكريات بعد يومين من الانبات لبذور الصويا وقد علل [8] ان كلا المركبين يقومان بتجهيز الطاقة المطلوبة لاغراض تصنيع البروتين، وان الانخفاض البسيط في الزيت هو ناتج من انخفض فعالية انزيم اللايبيزعند المقارنة مع الانزيمات المحللة للبروتينات خلال مدة انبات البقوليات [11]. ان زيادة نسبة حاصل البروتين جاءت متوافقة مع النتيجة التي توصل اليها [13] في حين كانت غير متوافقة مع ما توصل اليه [3] وهذا طبعا يرجع الى اختلاف الصنف وظروف الانبات فضلاعن ازالة القشور تاثير ايجابي في زيادة حاصل البروتين.

جدول (1): تاثير التنقيع و الانبات في التركيب التقريبي لبذور الماش

المكونات	السيطرة	التنقيع	مددالانبات (يوم)			L.D.S(P<0.01)
			واحد	اثنان	ثلاثة	
البروتين	C 23.53	C 23.41	abc 24.69	a 25.29	ab 25.0	1.51
الزيت	1.83	1.90	1.79	1.75	1.73	N.S
الرماد	3.11	3.49	3.26	3.02	2.98	N.S
الرطوبة	7.50	7.30	7.31	7.61	7.38	N.S
الالياف	17.14	17.34	17.40	17.20	17.68	N.S
كربوهيدرات	46.89	46.56	45.55	45.13	45.23	N.S

N.S= غير معنوي

يوضح جدول (2) تاثير التنقيع و الانبات في حاصل بروتين الماش المعزول وخاصيتي البروتين الذائب ودرجة تحلله ،وعند المقارنة مع بذور السيطرة يلاحظ زيادة معنوية في حاصل بروتين الماش المعزول عند مستوى $p<0.01$ عند المدد 3,2 ايام وبلغت 15.34% و15.2 %على التوالي. ان سبب الزيادة يمكن ان تكون نتيجة الزيادة الحاصلة في البروتين الخام. كما يلاحظ من الجدول زيادة معنوية في درجة التحلل عند اليوم الثاني والثالث وبلغت اقصاها عند اليوم الثاني من الانبات وكانت 2.11%. تمتلك بذور الماش كما في بذورالبقوليات على مثبطات التربسين [23] التي تعمل على اعاقة تحلل البروتينات، الا ان انبات الماش يعمل على تنشيط انزيم Protienase الذي له القابلية على تحطيم هذه المثبطات وبالتالي حرية عمل الانزيمات المحللة للبروتينات. لقد حدد Lin [15] انزيم Viclin – endopeptidase الذي يعد واحد من هذه الانزيمات التي تعمل على تحلل جزيئات البروتين جزئيا وتكوين ببتيدات اصغر ويلاحظ انخفاض درجة التحلل عند اليوم الثالث عند المقارنة مع اليوم الثاني من الانبات والذي قد يكون سببه انخفاض في كمية المادة الاساس substrate او نتيجة الفعل التثبيطي للناتج النهائي .كما يلاحظ من الجدول زيادة معنوية في حاصل البروتين المذاب لبروتين الماش المعزول عند الايام 3,2,1 ايام وبلغت اقصاها في اليوم الثالث وكانت 9.53% ان زيادة الذوبانية يرجع الى تكون ببتيدات اصغر وانفتاح المجاميع المحبة للماء وزيادة تداخل الحوامض الامينيه مع الماء. لقد اشار [9] الى ان تحلل البروتين يؤدي الى زيادة درجة الاستحلابية ايضا نتيجة الى زيادة المجاميع المحبة للماء بشرط ان تكون في توازن مع المجاميع الكاره للماء.

جدول(2): تاثير التنقيع ومدد الانبات في نسب البروتين المعزول ودرجة التحلل والبروتين الذائب لبذور الماش المزالة القشور

المكونات	السيطرة	التنقيع	مدد الانبات (يوم)			L.D.S(P<0.01)
			واحد	اثنان	ثلاثة	
البروتين المعزول	12.85b	12.80b	13.65b	15.34a	15.20a	1.04
درجة التحلل	1.40 C	1.53 C	1.91 b	2.11 a	2.01ab	0.15
البروتين الذائب	1.50 C	1.95 C	6.52 b	9.09 a	9.53 a	1.75

المصادر

1.علوان، عبد القادر هادي. (2006). كفاءة الانبات في اختزال المحددات التغذوية واثرها على التركيب الاجمالي لمكونات بذور فول الصويا (*Glycine max*) صنفي اباء ولي. رسالة ماجستير. جامعة بغداد. كلية الزراعة.

2. Afify, A.L and M. Shousha. (1988). Effect of low dose irradiation on soy protein pattern separated by polyacrylamide gel electrophoresis . J Agric Food Chem. 36:810-813.

3. Aman, P. (1979). Carbohydrates in raw and germinated seeds from mung bean and chick Pea. J. Sci. Food Agri.10: 869-875 .

4. Association of official analytical chemists (A.O.A.C). (1984). Official methods of analysis 14thed. Washington. D.C.

5. Bau, H.M., Villuame, C., Nicolas, J. and Mejean, L. (1997). Effect of germination on chemical composition, Biochemical constituents and anti –nutritional factors of soy bean (Glycine max) seeds . J. Sci. Food Agric.73:1-9.

6. Bera, M.B. and Mukherjee, R.K. (1989). Solubility, emulsifying and Foaming properties of rice bran protein concentrates .J.Food .Sci. 54:142-145 .

7. Calderon, A.M., Ruis, S.R.A and Java, M.E. (2000). Enzymatic hydrolysis and functional properties. J.Food Sci. 65 (2) :246-252 .

8. Chandrasiri,V., Bau, H.M., Vllaume, C., Ciannangeli, Lorient, F. and Mejean, L. (1987). Effect de la germination de la graine de sojasur La composition et la valeurnutritionnelle de safarine. Science des Aliments. 7 (horseserie): 139-150.

9. Chobert, J.M., Bertrand-Harth,C., and Nicolas, M,G. (1988B). Solubility and emulsifying properties of casein and whey protein modified by trypsin .J Agri.Food Chem. 36:883-892.

10. Damodaran, S. (1994). Structure-function relationship of food protein in protein functionality in food system, N.S. Hettiarachchy and G.R. Ziegler. (Ed.).pp. 1-37. Marcel Dekke, New York.

11. Elham,W., Godfrey, H.P and Mihael,G.P. (1988). Protease digestion of the meals of ungerminated and germinated soy beans J. Sci. Food Agric. 44:201-21.

12. Kim, S.Y., Peter, S.W and Rhee, K. (1990). Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate. J. Agric. Food Chem. 38:651-656.

13. Kylen, A.M. and Mccready, R.M. (1975). Nutrients in seeds and sprouts of alfalfa, lentils alfalfa, and mung beans. J. Food Sic. 40:1008-1009 .

14. Lah, Cl. and Cheryan, M. (1980). Protein solubility characteristics of and ultra –filtered full- fat soy bean product. J. Agri. Food Chem. 28:911-6. Modified soy proteins and ficin tenderized meat on the quality attributes of sausage .J. Food Sci.68:85 -88.

15. Lin,Y.H. and Yao,W. (1996). Mung bean (*Vigna radiate L.Wilezek*) containssome high proteolytic activities already before germination . Bot. Ball. Acad.Sin.37

16. Lin, SB., Chiang, WD., Cordle, C.T and Thomas, R.L. (1997). Functional and immunological properties of casein hydrolysate produce from two-stage membrane system. J. Food Sci. 62:480.

17. Liu, K. (2001). Soy bean chemistry, Technology and utilization. ITP. International Thomson Publishing. Chapman & Hall book.

18. Lozano, P. and mComba, D. (1992). α- Chemotrypsine in plastein synthesis effect of hydroxylates additives on enzyme activity. Bchem.Biotechno.1.33;51-65.

19. Pearson, D.(1976). The chemical analysis of foods Seventh Edition Churchill Livingston.

20. Qi, M., Hettiarachchy, N.S. and Kalapathy, U. (1997). Solubility and emulsifying properties of soy protein isolates modified by pancreatin. J. Food Sci. 62(6)1110-1115.

21. Ramezani, R., RAMINLARI, M and FALAHI, H. (2003). Effect of Chemically modified soy protiens and ficin tenderized meat on the quality attributes of sausage .J. Food Sci. 68:85 -88.

22. Steel, R.Q.D and Torro, H. (1980). Princples and procedures of statistics. Mc. Graw-Hill, lic.N.Y.

23. Tan-wilson, A.L. Rightmire, B.R. and Wilson, K.A. (1982). Different rates of metabolism of soy bean protienase inhibitors during germination. Plant Physiology.70:493-497.

24. Ziegler, F., Nitenberg, G., Coudray-lucas, C., Lasser p. and Giboudeau, j. L. (1998). Pharma-cokinetic assessment of an oligopeptide-based enteral formula in abdominal surgery patients. Am .j. Clin.Nutr. 67:124-128.