

IN THE NAME OF ALLAH



جامعة الملك سعود

كلية الزراعة

البرنامج المشترك لماجستير العلوم

تخصص تغذية انسان

القيمة الغذائية والثبات الحراري لثبطي التربسين والكيموتروبسين
في بروتينين بذرة البان (اليسر)

Nutritional Value and Thermal Stability of Trypsin and Chymotrypsin

Inhibitors in the Protein of Al-Ban (Al-Yassar)

جزء من متطلبات الحصول على درجة ماجستير العلوم في تغذية الانسان ، كلية الزراعة ،
جامعة الملك سعود ، الرياض .

مقدمة من
أمل بنت عبدالله بن سعد الحسين

بإشراف الدكتور
حمزة بن محمد أحمد أبو طربوش

١٤١٦هـ (١٩٩٦م)

بسم الله الرحمن الرحيم

القيمة الغذائية والثبات الحراري لثبتي التربسين والكيموتربسين
في بروتين بذرة البان (اليسر)

قدمت هذه الرسالة استكمالاً لطلبات درجة الماجستير في العلوم تخصص تغذية إنسان -
كلية الزراعة - جامعة الملك سعود بالرياض .

مقدمة من : أمل بنت عبدالله بن سعد الحسين
المشرف على الرسالة : الدكتور حمزه بن محمد أحمد ابو طربوش

نوقشت هذه الرسالة بتاريخ ٢٦/١١/١٤١٦هـ
وتمت اجازتها من قبل الأعضاء :

لجنة المناقشة :

ناديه محمد عبد الله
د . ناديه محمد عبد الله
هدى سلامه ابراهيم

د . حمزه بن محمد أحمد ابو طربوش

شکر و تقدیر

تتوجه الباحثة بخالص الشكر والامتنان الى الله العلي القدير الذي وفقها للقيام بهذا العمل . كما تقدم عظيم امتنانها للمشرف على البحث الدكتور حمزه بن محمد احمد ابوطربوش لما قدمه من ارشاد وتوجيه ونصح ومساعدته متواصله . كما توجه بالشكر والتقدير للاستاذ سيف الدين بشير احمد على مساعدته لها في الجزء العملي . كما تشكر مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتكنولوجيا لما قدمته من دعم مادي .

وتوجه الباحثة بالشكر الجزييل الى الدكتور محمد الطفيلي والاستاذ داني (Danny) في مركز البحوث المستشفى الملك فيصل التخصصي لما قدماه من مساعدة في تحليل الاحماض الامينية .

كما تشكر اعضاء لجنة المناقشه لما قدموه من توجيهات وارشادات ساهمت في إثراء موضوع البحث . وأخيراً توجه الباحثة بالحب والامتنان لوالديها وأخريها لما قدموه لها من تشجيع كان له كبير الأثر في انجاز هذا البحث .

الفهرس

الصفحة

١ شكر وتقدير
ب الفهرس
هـ قائمة المداول
و قائمة الاشكال
ز قائمة الملحق
ي الملخص العربي
ك الملخص الانجليزي
٢ الباب الأول : المقدمة
٥ الباب الثاني : الدراسات السابقة
٥ البذور الزيتية
٦ البان (اليسر)
٨ القيمة الغذائية للبروتين وطرق تقاديرها
٨ الطرق الحيوية لتقدير القيمة الغذائية للبروتين
٨ القيمة الحيوية
٩ نسبة فعالية البروتين (PER)
١٠ نسبة الفعالية الكلية للبروتين (NPR)
١٠ صافي استخدام البروتين (NPU)
١١ الطرق السريعه لتقدير القيمة الغذائية للبروتين
١١ تقدير الحامض الاميني ووفرته
١٢ الرقم الكيميائي
١٣ الطرق الميكروبيولوجيه
١٣ نسبة هضميه البروتين خارج الجسم
١٦ نسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER)
٢٣ مثبطات انزيمي التربسين والكيموتربسين في المواد النباتيه
٣٠ تأثير المعاملات الحراريه على مثبطي انزيمي التربسين والكيموتربسين

الصفحة	
٣٧	الباب الثالث : المواد وطرق العمل
٣٧	بذور البان (اليسر)
٣٧	نزع الدهن من العينة
٣٧	تحليل الكيميائي للعناصر الغذائية في بذور البان
٣٧	القيمة الغذائية لبذور البان
٣٧	تقدير الاحماض الاميني
٣٨	تقدير قابلية هضم البروتين خارج الجسم
٣٨	نسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER)
٣٩	مثبطات الانزيمات المخللة للبروتين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن
٣٩	تقدير نشاط مثبط انزيم التربسين
٣٩	تقدير نشاط مثبط انزيم الكيموتروسين
٤٠	تقدير البروتين في مستخلص العينة
٤٠	الثبات الحراري لمثبطي انزيمي التربسين والكيموتروسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن
٤٠	التحليل الاحصائي
٤٢	الباب الرابع : النتائج والمناقشة
٤٢	التركيب الكيميائي للبان (اليسر)
٤٢	بذرة البان
٤٤	دقيق بذرة البان منزوع الدهن
٤٥	القيمة الغذائية لدقيق بذرة البان منزوع الدهن
٤٥	الاحماض الاميني
٤٩	قابلية الهضم خارج الجسم ونسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER) ..
٤٩	مثبطي انزيمي التربسين والكيموتروسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن ..
٥٣	تأثير المعاملة الحرارية على مثبطي انزيمي التربسين والكيموتروسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن ..

الصفحة

٥٨	الباب الخامس : الخلاصه والتوصيات
٦٠	المراجع العربية
٦٢	المراجع الاجنبية
٨٤	اللاحق

قائمة المداول

الصفحة

- ١ - جملة مساحة وانتاج البذور الزيتية (بما فيها بذرة القطن) في الوطن العربي ٧
- ٢ - التركيب الكيميائي في بذرة ودقيق البان (اليسر) وفي بعض البذور الزيتية
والنباتية الكامله والمنزوعه الدهن ٤٣
- ٣ - الأحماض الأمينيه غير الأساسية في دقيق بذور البان (اليسر) منزوع الدهن.... ٤٦
- ٤ - الأحماض الامينيه الأساسية في بذور البان (اليسر) وفي بعض البذور الزيتية
والبذور النباتية وبروتينات الحليب والبيض والبروتين المرجعي لمنظمة
الزراعة والاغذية ومنظمة الصحة العالمية ٤٧
- (جرام حمض اميني / ١٠٠ جرام بروتين) ٥٠
- ٥ - قابلية الهضم خارج الجسم ونسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER) لدقيق بذرة
البان (اليسر) منزوع الدهن

قائمة الاشكال

الصفحة

الشكل

- ١ - تأثير المعاملة الحرارية على مثبطي إنزيمي التربسين والكيموتربسين ٥٦

قائمة الملاحق

الصفحة	المحتوى
٨٤	١ - حساب نسبة فعالية البروتين لدقيق بذرة البان منزوع الدهن (C-PER)
٨٥	٢ - حساب نسبة فعالية البروتين للكازين القياسي (C-PER)
٨٦	٣ - تأثير المعامل الحراري على مثبطي إنزيمي التربسين والكيموتروبسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن

الملخص

القيمة الغذائية والثبات الحراري لمثبتي الترسبين والكيموتربسين في بروتين بذرة البان (اليسر)

أمل بنت عبدالله الحسين

اجريت هذه الدراسة على بذور البان (اليسر) والتي تعد من البذور الريتية التي تنمو في شمال وجنوب منطقة الحجاز في المملكة العربية السعودية. اوضحت نتائج الدراسة احتواء بذرة البان على كميات جيدة من البروتين (٢٩٪ ٢٨٪) والزيت (٨٥٪) وبلغت نسبة البروتين في دقيق بذرة البان متزوع الدهن ٥٣٪ ٧٥٪ . كما احتوى دقيق بذرة البان متزوعة الدهن على كافة الاحماض الامينية الاساسية وكان غنياً بالهستدين الذي فاقت كميته في دقيق بذرة البان متزوعة الدهن ما هو موجود في بذور الباميه والحمص وبروتين البيض والحليب . عموماً كانت كميات الاحماض الامينية الاساسية الأخرى عدا اللايسين والثريونين والتربوفان اكبر من مثيلاتها في بذور السمسن والقطن ودوار الشمس وفول الصويا والباميه إلا انها اقل من مثيلاتها الموجودة في بروتين البيض والحليب . كما اوضحت الدراسة انخفاض نسبة فعالية البروتين المحسوبه (١) وقابلية الهضم خارج الجسم (٦٠٪ ٦٤٪) لدقيق بذرة البان متزوع الدهن واحتواه على مضادى انزيمي الترسبين (٦٤٪ ٤٨٪) وحدة نشاط مثبت الانزيم/ملجم بروتين) والكيموتربسين (٥٧٪ ٥٥٪) وحدة نشاط مثبت الانزيم/ملجم بروتين) إلا أنه يمكن وبدرجة كبيرة الحد من نشاط هذان المثبتان حرارياً بالغليان في الماء لمدة ٤٠ و ٢٠ دقيقة على الترتيب .

ABSTRACT

Nutritional Value and Thermal Stability of Trypsin and Chymotrypsin Inhibitors in the Protein of Al-Ban (Al-Yassar) Seeds

Amal Abdullah Saad Al-Hussain

This study was conducted on the Al-Ban (Al-Yassar) oilseed which grows in north and south of Higaz region of Saudi Arabia. Data showed that Ban oilseed contained good percentage of protein (28.29%) and oil (50.85%). The defatted flour of the seed contained high percentage of protein (53.75%) and all the essential amino acids. The quantity of histidine in Al-Ban was higher than that in okra, bean, milk and egg. Generally, the quantity of the other essential amino acids in Ban except lysine, threonine and tryptophan was higher than their counterpart in sesame, cotton, sunflower, okra and soybean seeds, however, they were less compared to milk and egg. Calculated protein efficiency ratio (1.0) as well as *in vitro* protein digestability (74.6%) were low in Al-Ban and the defatted flour of the seed contained trypsin (48.46 enzyme inhibitor activity unit/mg protein) and chymotrypsin (5.57 enzyme inhibitor activity unit/mg protein) inhibitory enzymes which were greatly inactivated by boiling water for 30 and 20 min, respectively.

الباب الأول

المقدمة

هناك حاجة ملحة تدعوا إلى تنوع مصادر البروتين وخاصة في الأقطار النامية ، حيث تتوارد البروتينات النباتية التي يمكن أن تلعب دوراً مهماً في تغذية الإنسان ، ولقد تم اقتراح العديد من المصادر البروتينية من البقرليات والحبوب الزيتية (Weber et al., 1977) ولكن العادات الغذائية من بين العوامل التي أدت إلى الحد من فائدة هذه المصادر .

إن إستعمال النباتات من أجل إنتاجية عالية من البروتين يمكن أن يساعد في تحسين المأهولة البروتيني لمثل هذه المجتمعات ، وبالرغم من أهمية المصادر النباتية البروتينية إلا أن غالبيتها منخفض القيمة الحيوية كما يحتوي البعض الآخر منها على مركبات مضادة للتغذية Antinutritional factors (Weber et al., 1977) لذا يجب إجراء دراسات أولية على هذه النباتات لمعرفة قيمتها الحيوية ودراسة العوامل المضادة للتغذية ، خاصة مضادات إنزيمي التربسين والكيموتربسين والتي تحد من الاستفادة من البروتين النباتي .

تنتمي شجرة البان (اليسر) *Moringa peregrina* إلى عائلة Moringacease وتنشر هذه الشجرة في شمال وجنوب منطقة الحجاز بالمملكة العربية السعودية (Al-Yayha et al., 1990) ويستعمل زيتها في شمال الحجاز ، وتحتوي بذورها على كميات كبيرة من البروتين والزيت وتعتبر بذلك مصدر حديد لهذين العنصرين الغذائيين (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) . وبالرغم من انتشار هذه الشجرة في المملكة العربية السعودية واستعمال بذورها كمصدر للزيت إلا أنه لم تجرى دراسات عليها لمعرفة قيمتها الغذائية وكذلك لمعرفة المركبات المضادة لإنزيمي التربسين Trypsin والكيموتربسين Chymotrypsin (Al-Kahtani, 1995) بإستثناء دراسة القحطاني على إنزيم التربسين .

إن نوعية البروتين (القيمة الغذائية) هي مقدرة البروتين لمقابلة احتياجات الحيوان أو الإنسان الغذائية للنيتروجين غير الأساسي والاحماس الامينية الأساسية ، ويمكن قياسها جزئياً بنظام الاحماس الامينية وعلاقته باحتياجات الإنسان من هذه الاحماس وجزئياً بقابلية البروتين للهضم .

يمكن تقدير قابلية الهضم لأي بروتين غذائي بواسطة عدة طرق من ضمنها استخدام حيوانات التجارب إلا أن هذه الطرق مكلفة وتحتاج إلى وقت طويل، وبالمقابل يمكن استخدام طرق أخرى لتقدير القيمة الغذائية للبروتين من ضمنها طريقة نسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER) Calculated Protein Efficiency Ratio والتي تعتمد على تقدير الأحماض الأمينية الأساسية ومعامل هضم البروتين خارج الجسم *in vitro* (Hsu et al., 1977) وقد لاقت هذه الطريقة قبولاً في الأوساط العلمية لكونها طريقة اقتصادية وتنجز في وقت قصير كما أنها على درجة عالية من الدقة وتتساوى في ذلك مع الطرق البيولوجي المعروفة (Satterlee et al., 1979) ونظرًا لانتشار شجرة البان في بعض مناطق المملكة ومحتوها العالي من البروتين فقد كان الهدف من هذا البحث تقدير القيمة الغذائية لبروتين بذرة البان باستخدام طريقة نسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER) دراسة مثبطي إنزيمي التربسين والكيموتربسين وتأثير الحرارة على نشاطهما .

الباب الثاني

الدراسات السابقة

البذور الزيتية

نشأت مشكلة نقص البروتين في مناطق العالم ذات الكثافة السكانية العالية نتيجة للإعتماد المكثف على الحبوب النشوية والمحاصيل الجذرية لتغطية الاحتياج من السعرات الحرارية ، وبالرغم من ان البذور الزيتية والحبوب والبقوليات تحتوي على كميات كبيرة من البروتين وعلى مستويات متفاوتة ما بين المتوسطه والعلاليه من الالايسين (Lysine) لتعادل النقص في النشوبيات إلا أنها تستخدم لتغذية الماشي والحيوانات وذلك بسبب قنامة لونها وعدم استساغة طعمها واحتواها على نسبة عالية من الألياف (Sarwar et al., 1978) . وتعتبر البذور الزيتية والبقوليات من المحاصيل المتوقع ان تكون مصدراً للبروتين في المستقبل . تمد المنتجات الحيوانية ومنتجات الأسماك ثلث الاحتياج الكلي للبروتين الغذائي بينما تمد البروتينات النباتية من ٥٠ إلى ٧٥٪ من الاحتياج الكلي للبروتينات (Karakotsidis and Constantinides, 1975) . وتعتبر الحبوب النشوية والبذور الزيتية والبقوليات الثلاث بمجموعات النباتية التي توفر معظم بروتينات العالم (Dimler, 1971) ، وبالرغم من انخفاض نسبة بعض الامراض الامنيه الاساسية ل معظم البروتينات النباتية إلا أنها تشكل المصدر الاساسي للبروتينات المتناوله في معظم أنحاء العالم والتي تعاني من نقص البروتين الحيواني (Karakotsidis and Constantinides, 1975) لذلك فإن الحاجه ملحه لتنوع مصادر البروتين وخاصة في الاقطار النامي حيث قد تلعب البروتينات النباتية دوراً مهمأً في تغذية الانسان ، ولقد تم اقتراح العديد من المصادر البروتينيه من البقوليات والحبوب الزيتية (Weber et al., 1977) ولكن العادات الغذائية من بين العوامل التي ادت الى الحد من فائدة هذه المصادر .

تحتل البذور الزيتية مكاناً متميزاً في الوطن العربي في مجال الأمن الغذائي ، إذ تعد من المحاصيل الاقتصادية الهامة . وبالإضافة الى دورها كمصدر هام للزيوت وإنتاج سلع هامة كالصابون والكسب ، فإنها أساساً مهمه في غذاء الإنسان باعتبارها مصدر جيد للبروتين النباتي ، ومصدر مرکز للطاقة وكذلك لغناها بالمعادن (الكالسيوم والفسفور

والحديد) ومصدر لبعض الفيتامينات لذلك نجد أن استهلاك بذورها وزيتها في تزايد مستمر (جامعة الدول العربية ، ١٩٩١) .

تزرع في الوطن العربي عدة انواع من البذور الزيتية الحوليه اهمها بذرة القطن والفول السوداني والسمسم ودوار الشمس ، وهناك ايضاً بعض المحاصيل الوعاده مثل فول الصويا والقرطم "العصفر" والسلجم "الكولزا" هذا بالإضافة الى الشمار الزيتية التي تنتجها اشجار الزيتون والتي تمثل المساحة التي تشغله مركز الصداره بين محاصيل البذور والشمار الزيتية اذ تبلغ حوالى ٣٢ مليون هكتار (٦٠٪ منها في تونس) تساهم بنحو ٣٥٪ من انتاج الوطن العربي من الزيوت النباتيه تليها بذرة القطن (نحو ٢١ مليون هكتار) والسمسم (٢١ مليون هكتار) والفول السوداني (٧٠ مليون هكتار) ودوار الشمس (٢٠ مليون هكتار) بينما لا تتعذر المساحة التي يشغلها اي من المحاصيل الأخرى ٥٠ الف هكتار . هذا وقد بلغت المساحة الكلية للبذور الزيتية (عدا القطن) نحو ١٩ مليون هكتار عام ١٩٧٥م وزادت الى ٢١ مليون هكتار عام ١٩٨١م وتوقعت دراسات الأمن الغذائي ان تصل المساحة الى ما يزيد قليلاً عن ٣ مليون هكتار عام ١٩٨٥م إلا انها لم تزد عمماً كانت عليه عام ١٩٧٥ (جدول ١) ولكنها بدأت في الزيادة في عام ١٩٨٨ (٢٧ مليون هكتار) ووصلت الى الرقم الذي قدرته دراسات المنظمة العربية للتنمية الزراعية وهو ٣ مليون هكتار عام ١٩٨٩ [جدول ١] (جامعة الدول العربية ١٩٩١) .

البان (اليسر)

تتمي شجرة البان (اليسر) *Moringacease* Moringa peregrina الى عائلة (Al-Yayha et al., 1990) وتنشر هذه الشجرة في شمال وجنوب منطقة الحجاز بالمملكة العربية السعودية كثيرة من البروتين والريبيت ، فقد درس القحطاني وابوعرب (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) التركيب الكيميائي لبذرة البان ووجدا انها تحتوي على بروتين وزيت وكربيهيدرات ورماد ورطوبة بنسبة قدرها ٤٣٪، ٣٠٪، ٢٦٪، ١٨٪ و٢٦٪ على الترتيب .

جعفر (١) : مسجد و قاعدها (٢) (عاليها بـ٣٠ سم) في المسارعين

الطباطبائي

رسانی: این مقاله تا پایان سال ۱۹۷۰ میلادی در مجله هنر اسلامی منتشر شد.

القيمة الغذائية للبروتين وطرق تقاديرها

The Nutritive Value of Protein and Its Determination

تختلف القيمة الغذائية للبروتين حسب محتواه من الأحماض الأمينية الأساسية وبناءً على ذلك فقد قسمت البروتينات إلى بروتينات عالية القيمة الغذائية وهي التي تحتوي على كافة الأحماض الأمينية الأساسية وبالكميات التي تفي باحتياجات الجسم ويشمل ذلك بصورة عامة كافة البروتينات الحيوانية ، وبروتينات منخفضة القيمة الغذائية وهي التي ينقصها واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية الأساسية أو تكون كميته واحد أو أكثر من هذه الأحماض قليلة ولا تفي باحتياجات الجسم ويدخل تحتها كافة البروتينات النباتية . وتشمل الطرق المستخدمة لتقدير القيمة الغذائية للبروتين طرفاً حيوياً Biological methods وطريقاً كيميائياً Chemical methods ، وظهرت خلال السبعينيات من القرن الحالي طرق سريعة واعده تستخدم محتوى البروتين من الأحماض الأمينية الأساسية وقابلية هضم البروتين خارج الجسم لتقدير القيمة الغذائية للبروتين .

الطرق الحيوية لتقدير القيمة الغذائية للبروتين

تقسم الطرق الحيوية لتقدير القيمة الغذائية للبروتين إلى قسمين : طرق تعتمد على تغيرات المحتوى النتروجيني للجسم وأخرى تعتمد على تغيرات وزن الجسم .

القيمة الحيوية

استخدمت هذه الطريقة لأول مرة عام ١٩٠٩ بواسطة العالم ثوماس (Thomas, 1909) ، وأصبح يستخدم مصطلح القيمة الحيوية مرادفاً لمصطلح نوعية البروتين واستخدم ميتشل (Mitchell, 1924) الفتران الصغير النامي لقياس القيمة الحيوية للبروتين . ولقد أشار ماكلان (McLaughlan, 1972) إلى أنه بالرغم من بساطة المعادلة المستخدمة في تقدير القيمة الحيوية إلا أنه يصعب استخدام هذه الطريقة كإجراء روتيني لتقدير القيمة الحيوية للبروتين . يعبر عن القيمة الحيوية في العادة بالمعادلين التاليين :

$$\text{القيمة الحيوية} = \frac{\text{التروجين المخجز}}{\text{التروجين المتصور}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{القيمة الحيوية} = \frac{\text{نتروجين المتأول} - (\text{نتروجين البراز} - \text{نتروجين التمثيلي})}{\text{نتروجين المتأول} - (\text{نتروجين البراز} - \text{نتروجين البرول التمثيلي})} \times 100$$

ولقد قدر ميتشل (Mitchell, 1924) القيمة الحيوية للشوفان باستخدام فئران تحارب وزنها ٩٤ جم .

نسبة فعالية البروتين (PER) Protein Efficiency Ratio (PER)

استخدم مصطلح نسبة فعالية البروتين لأول مره عام ١٩١٩ (Osborne et al., 1919) ، ونسبة فعالية البروتين هي الوزن الذي يكتسبه الحيوان لكل جرام من البروتين المستهلك . كانت تعطى مستويات مختلفة من النتروجين عند بداية استخدام هذه الطريقة ثم تحسب نسبة فعالية البروتين القصوى بحيث يعطى النتروجين المتأول الامثل الحد الأقصى للنمو في الجس (Barnes et al., 1945) . وتعتمد هذه الطريقة على تغذية الفئران (في طور النمو) على وجهه تحتوي على نسبة بروتين مقدارها ١٠٪ وعلى حيوانات نامية عمرها ٤ أسابيع وبخرى التجربة لمدة ٢٨ يوماً . وبالرغم من أن هذه الطريقة سهلة وبسيطة إلا أن لها بعض المساريف ، فلقد أثبت بارنيز وآخرون (Barnes et al., 1945) أن قيمة نسبة فعالية البروتين تختلف طبقاً لمستوى البروتين في الوجه . ووهد موريسون وكэмبل (Morrison and Campbell, 1960) أن أعلى قيمة لنسبة فعالية البروتين للكازين كانت عندما اعطيت الفئران الكازين بنسبة ٧٪ في الوجه . وعلى العكس من ذلك فإن البروتينات النباتية أعطت أعلى قيمة لنسبة فعالية البروتين عندما كانت نسبة هذه البروتينات في الوجه ١٥٪ . إلا أن الطريقة الرئيسية (AOAC, 1990) تشرط أن تكون نسبة البروتين في الوجه ١٠٪ . كما وجد أن نسبة فعالية البروتين تختلف باختلاف سلالة و الجنس الفئران المستخدمة لإجراء التجربة (Morrison and Campbell, 1960) . وأثبت شور (Sure, 1955) والباحثين المذكورين أن نسبة فعالية البروتين تتحفظ بزيادة فترة التجربة وعمر الفئران المستخدمة . ووهد شامبان وآخرون (Champan et al., 1959) أن الظروف المثلثي لإجراء هذه الطريقة يتضمن باستخدام فئران ذكور عمرها ٢١-٢٣ يوماً وأن تكون مدة اجراء التجربة ٤ أسابيع . وذكر بندر ودول (Bender and Doell, 1957) أن من أهم مساويء هذه الطريقة أنها لا

تأخذ في الحسبان البروتين المستخدم في صيانة الجسم ، وتفترض هذه الطريقة ان كل البروتين المتناول يستخدم للنمو ، لذا فإن البروتين المستخدم للصيانة لا يمكن تقييمه في هذه الطريقة . وبالرغم من هذه المساويء فإن نسبة فعالية البروتين تعد طريقة معتمدة لتقييم الجودة (القيمة) الغذائية للبروتين منذ عام ١٩٦٠ (AOAC, 1990) .

نسبة الفعالية الكلية للبروتين (NPR)

لتغلب على بعض مساويء طريقة نسبة فعالية البروتين ، اقترح بندر ودول (Bender and Doell, 1957) استخدام طريقة نسبة الفعالية الكلية للبروتين وتأخذ هذه الطريقة في الاعتبار استعمال البروتين لأغراض الصيانة وتعريض الانسجة التالفة بالإضافة إلى استعماله في النمو . يستخدم في هذه الطريقة جموعتان من حيوانات التجارب . المجموعة الأولى هي مجموعة التجربة (Experimental group) والمجموعة الثانية هي مجموعة الضبط (Control group) . تعطي مجموعة التجربة وجبه غذائيه تحتوي على البروتين المطلوب دراسة قيمته الحيوية ويراعى استخدام نفس الشروط المذكورة في طريقة نسبة فعالية البروتين من حيث مدة التجربة وعمر الحيوانات وجنسيها . أما المجموعة الثانية فتعطي وجبه غذائيه مشابهه لوجبة المجموعة الأولى عدا أنها خاليه تماماً من البروتين Protein-free diet وتوضح المعادله التالية نسبة الفعالية الكلية للبروتين :

$$\text{نسبة الفعالية الكلية للبروتين} = \frac{\text{معدل الزيادة في وزن حيوانات التجربة(جم)} + \text{معدل النقص في وزن حيوانات مجموعة الضبط(جم)}}{\text{معدل وزن البروتين المستهلك}}$$

لذا فإن البروتين المستخدم لأغراض الصيانهأخذ في الاعتبار في هذه الطريقة .

صافي استخدام البروتين (NPU)

كان كل من بندر وميلر (Bender and Miller, 1953) أول من اقترح استخدام طريقة صافي استخدام البروتين . وهذه الطريقة مشابهة لطريقة نسبة الفعالية الكلية للبروتين عدا انه يستخدم فيها النتروجين المحتجز في الجسم بدلاً من وزن الجسم . وتستخدم فيها حيوانات التجارب والتي يجري قتلها وتحليل وقياس كمية النتروجين في جسمها . ويجرى تقدير القيمة الغذائية للبروتين بهذه الطريقة باستعمال المعادله التالية :

$$\begin{aligned} \text{صافي استخدام البروتين} &= \frac{\text{نروجين المخزن}}{\text{البروتين المتناول في المذاقة}} \times 100 \\ &= \frac{\text{نروجين الجسم} - \frac{\text{نروجين الجسم في مجموعة الضبط}}{\text{نروجين المتناول}}}{\text{نروجين المتناول}} \times 100 \end{aligned}$$

وتأخذ هذه الطريقة في الاعتبار كل من القيمة الحيوية للبروتين وكذلك معامل الهضم . ولقد اشار كل من موريسون وآخرون (Morrison-et-al., 1963) وماكلان (McLaughlan, 1972) الى أن قيم صافي استخدام البروتين تعتمد على مستوى البروتين في الوجه والذى ينشأ عادة عن العلاقة بين نسبة الطاقة والبروتين .

الطرق السريعة لتقدير القيمة الغذائية للبروتين

Amino acid determination and availability

يعد تقدير الأحماض الأمينية للبروتين أساس لأى تقدير تقريري لجودة البروتين معملياً ، ويمكن الحصول على القيم الحقيقية لتركيب الأحماض الأمينية لبروتينات الغذاء بواسطة التحليل الحمضي بالتحفيقات العالية يتبعه الفصل براستة الكروماتوجراف (Column Chromatography) مع المراعة الخاصة عند تقدير ثلاث من الأحماض الأمينية (Cystine) والميثونين (Methionine) ، والتربوفان (Tryptophan) حيث أنها تتكسر جزئياً خلال العملية الطبيعية لتحليل البروتين . ولا يعد تقدير مكونات الحامض الأميني وحده كافياً لتقدير التغيرات في جودة البروتين خاصة بالنسبة للأغذية المصنعة ، ووفرة الأحماض الأمينية في الجسم تشكل صعوبة بالنسبة للإعتماد على القيم الكيميائية للأحماض الأمينية فقط . وهنالك العديد من الطرق الغرض منها تقدير وفرة الحامض الأميني مثل طريقة (FDNB) fluoro-2,4-dinitrobenzene ، والطرق الميكروبيولوجية والهضم الانزيمي خارج الجسم (Menden and Cremer, 1970) .

الرقم الكيميائي Chemical Score

بعد بلوك وميتشل (Block and Mitchell, 1946) من اوائل الباحثين اللذين قدما طريقة ناجحة ومعقوله لتقدير الرقم الكيميائي (Chemical Score) للبروتينات المعتمده على محتواها من الأحماض الامينيه ، حيث استخدمنا بروتين البيض الكامل كبروتين مرجعي وتحسب النسب المغربية لكل حمض اميني اساسي في البروتين قيد التجربه بالنسبة لمثيله في بروتين البيض الكامل ويكون الرقم الكيميائي هو اقل هذه النسب الناتجه ، ويعد الرقم الكيميائي مؤشر لجودة البروتين فكلما قلت قيمة الرقم الكيميائي كلما كان البروتين فقيراً كمصدر للأحماض الامينيه الاساسيه ، بينما كلما ارتفع الرقم الكيميائي كلما كانت قيمة البروتين الغذائيه عاليه .

وخلال الفترة ما بين ١٩٤٦ و ١٩٤٧ وجد كلاً من بلوك وميتشل (Block and Mitchell, 1946) ان هناك ارتباط جيد بين الرقم الكيميائي Chemical Score والقيمة الحيوية Biological Value ، وبالرغم من وجود بعض السلبيات إلا أن التجارب الحيوية العامة وضحت ان الرقم الكيميائي يعمل على تقدير القيمة الحيوية Biological Value . ويسبب العديد من التناقضات في طرق الرقم الكيميائي Chemical Score ، فقد طور أوسر (Oser, 1951) معاملًا Index موحداً وقد استخدم المتوسط الهندسي Geometric Mean لنسب البيض لتقدير القيمه الحيويه (BV) للبروتين . وأجرى ميتشل في عام ١٩٥٤ (Mitchell, 1954) تعديل بسيط لمعامل اوسر (Oser) وذلك بحذف الارجنين Arginine من الحسابات ، ولكن لارتفاع هذه الطريقة الأفضل في تقدير القيمه الحيويه (BV) الى مستوى مقارب لتقديرات الرقم الكيميائي Chemical Score .

تعتمد القيمة الغذائيه للبروتين اولاً على توفير المتطلبات لتغطية الاحتياجات من التروجين والاحماض الامينيه الاساسية . ومنذ ان وضع البيض كأحد البروتينات ذات القيمه البيولوجيه العالية اصبح مرجع اصلي قياسي في مهام التسجيل . اقترحت دراسات منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية (FAO/WHO, 1973) طريقة جديدة تعتمد على التقديرات الحالية لاحتياجات الانسان من الأحماض الامينيه ، وسجلت طرق

الاحماض الامينيه المرجعيه (القياسيه) التي استخدمت بواسطه منظمة الزراعة والاغذية ومنظمة الصحه العالمية (FAO/WHO, 1973) ونظام البيض الكامل ، وبالرغم من مزايا رقم الحامض الاميني Amino acid score والتي تتضمن التبسيط والمطابقه للحامض الاميني المحدد إلا ان لها بعض السلبيات والتي تشمل عدم تقدير وفرة الحامض الاميني وعدم مقدرتها على التعرف على وجود مواد سامه في البروتين (Pellett, 1978) .

الطرق الميكروبيولوجيه

ان استخدام الطرق الميكروبيولوجيه تتفاوت من استخدام الكائنات الدقيقه لتجارب الاحماض الامينيه الفردية في محللات البروتين الى استخدام الكائنات الدقيقه بانزيماتها الخاصة المخلله للبروتين لتجربة البروتينات مباشرة ، ويمكن استخدام الطريقه الأخيره كمؤشر للوفره . واستخدمت *Tetrahymena pyriformis* لتقدير جودة (نوعية) البروتين منذ سنين عديده ، وعموماً تستخدم هذه الطريقه مرتبطة مع الطرق السريعه لإيجاد هضميه البروتين من اجل اعطاء نتائج مرضيه (Pellett, 1978) .

نسبة هضميه البروتين خارج الجسم *In vitro protein digestibility*

تم تطوير العديد من التجارب التي يمكن ان يعتمد عليها وذلك لمتابعة الهضم خارج الجسم *In-vitro* وذلك لقياس نوعية البروتين (القيم الغذائيه Block and Mitchell 1946; Oser ,1951) . اوضح هييل وشميدت في دراسة مشجعه (Hill and Schmidt, 1962) انه قد يكون التحليل الانزيمي الكامل للبروتينات *Proteolysis* عملياً وسرعاً عندما يستخدم الباين Papin ، وقد وجد أنه تحت الظروف الملائمه يمكن تحليل معظم البروتينات بواسطه الباين مقارنة بالبيسين Pepsin والسبتيلisin Subtilisin أو الخلط من التربسين والكيموتربسين ، كما يمكن اكمال عملية التحلل المائي بواسطه Leucine amino peptidase and prolidase (Tower et al., 1962) التحليل الانزيمي في وجود محاليل البنكرياس Pancreatin لتحرير كلّاً من الجلوتامين (Glutamine) والاسبراجين (Asparagine) من البروتينات . استنبط اكسون وستامان (Akeson and Stahmann, 1964) طريقة هضم باستخدام البيسين - بنكرياتين كمؤشر للتقييم السريع لجودة البروتين ، وقد حسب المؤشر index بواسطة

الاحماض الامينيه المتحرره بعملية الهضم خارج الجسم *in vitro* في وجود البيسين ثم اتبعت بالبنكرياتين Pancreatin بالإضافة لذلك سجل الباحثان بأنهما قدرًا للأحماض الامينيه بواسطه التحلل الآلي للأحماض الامينيه Automatic Amino Acid Analysis ، مما سمح بتقييمات سريعة لجودة البروتين (القيمة الغذائية) على عينات صغيره جداً . وصف كلًا من بشنان وبيرز Papain and Byers, 1969) طريقة هضم البروتين النباتي بواسطه الباين Buchanan باستعمال حامض الثيو جليكوليك acid Thiglycollic acid كمنشط ، واقتراح الباحثان ان تكون المركبات التي تحتوي على النتروجين والتي تكون عندما يستعمل سيانيد البوتاسيوم Potassium cyanide كمنشط للباين ربما يكون السبب لبعض التناقضات التجريبية التي لوحظت .

ودرس ماجا وآخرون (Maga et al., 1973) معدلات التحلل المائي "تميؤ" لبعض العينات التجاريه لكافيات الصوديوم ودقيق الفول السوداني منزوع الدسم peanut ودقيق بذرة القطن منزوع الدسم ، ومركز بروتين السمك ، وبروتينات فول الصويا المعزوله ، وقد استعمل الباحثون التربسين لدراسة معدلات التميؤ وقد استنتجوا أن طريقة التميؤ في الهضم خارج الجسم دليل جيد لقابليات الهضم بالنسبة لبعض البروتينات والتي استعملت في دراستهم .

قدر ساندريس وآخرون عام ١٩٧٣ (Saunders et al., 1973) النسبة الهضمية لمركز بروتين البرسيم alfalfa باستخدام طريقة الهضم خارج الجسم معملياً باتباع طريقتين : الباين والبيسين - بنكرياتين ، البيسين - التربسين . وقد اعلنوا ان النتائج المتحصل عليها باستخدام هذين النظامين في وجود البيسين لها درجة ارتباط عالية مع تغذية الفئران *in vivo* بينما تم الحصول على ارتباط ضعيف عند استخدام الباين Papin للهضم .

استعرض ساترلي وآخرون عام ١٩٧٧ (Satterlee et al., 1977) اثنين من الطرق السريعه التي طورت بواسطه مجموعة من الباحثين في مجال الأغذيه البروتينيه بجامعة نبراسكا الأمريكية (Nebraska) وقد ربطت هاتان الطريقتان بصورة نظاميه بنسبة فعالية البروتين

تطورت تجارب الهضم خارج الجسم *in vitro* والمتميزة بالسرعة وقلة التكلفة مقارنة بالتجارب الحيوانية التي تعتبر غير مناسبة للضبط الروتيني للجودة الغذائية لبروتينات الأغذية أو المكونات التجارية وتعتمد كل طرق الهضم خارج الجسم *in vitro* على استخدام الإنزيمات المخللة للبروتين لارتباطها بهضم البروتين داخل الجسم *in vivo* ، ومن أفضل الطرق المعروفة تلك التي طورت بواسطة ساترلي (Satterlee et al., 1979) ومجموعته المشاركة والتي استخدمت فيها إنزيمات عديدة ، حيث تم حساب معدل

انخفاض درجة الاس الهيدروجيني pH بعد ٢٠ دقيقة من التحضين وذلك باستخدام اربع انزيمات هاضمة للبروتين (Swaisgood and Catignani, 1990) Proteolytic enzymes (Gauthier et al., 1982; Vachon et al., 1982, 1983) تأثير المعالجة القلوية للبروتين على قابلية هضم البروتين والتحرر الانزيمي للأحماض الامينية ، وهذا الغرض فان طريقة الهضم خارج الجسم *in vitro* والديلازه Dialysis نشأت معتمده على الفكره الاصليه لكلاً من مارون وآخرون وستينه رت و كيرشجيسن و آخرون (Mauron et al., 1955; Steinhart and kirchgessner, 1973a) قدر مكدونف وآخرون (Mcdonough et al., 1990) قابلية الهضم الحقيقية لـ ١٧ مصدر بروتيني من المصادر الحيوانية والنباتية والأغذية المختلطه . وذلك باستخدام ثلاثة أنزيمات هاضمة وطريقة الأس الهيدروجيني الثابت pH stat . وزعت نفس العينات على ٦ معامل مختلفة وزود كل معمل بكازينات الصوديوم القياسي وأنزيم التربسين والكيموتربسين والبيتديز . ومن ثم حسبت نسبة قابلية الهضم بعد معايرة محلول الناتج من عملية الهضم بالأنزيمات . ووجد أن المتوسط النسبي للانحرافات المعيارية لمكررات ١٦ عينة لا يزيد عن ١٪ . واستنتجوا أن تقدير قابلية الهضم باستخدام الثلاث انزيمات الهاضمة يمكن تكرارها وبفاءة عالية وذلك لتقدير قابلية الهضم للمصادر البروتينية المختلفة .

نسبة فعالية البروتين الحسوية Calculated Protein Efficiency Ratio(C-PER)

بعد استخدام حيوانات التجارب ومعرفة الأحماض الامينية للبروتين مهمًا عند تقدير قيمته الحيوية إلا أن هذه الطريقة مكلفة وتحتاج إلى وقت طويل وبالإمكان اختصار الوقت وتقليل التكلفة الاقتصادية عند تقييم القيمة الحيوية للبروتين بإستخدام معايير مزدوجة تمثل في تقدير الأحماض الامينية الأساسية للبروتين المراد اختباره وتقدير النسبة الهضمية للبروتين خارج الجسم *in vitro* . ولقد اشار الباحثون إلى أن هذه الطريقة جيدة وذات كفاءة تصاهي الطرق الحيوية وذلك عند استخدامها لتقييم نوعية البروتين (Hsu et al., 1977) . ولقد طور الباحثون (Hsu et al., 1977) طريقة سريعة وواعده تقدير القيمة الغذائية للبروتين وذلك باستخدام عدد من الانزيمات البنكرياسيه التجارية النقية وأضافتها إلى معلق بروتيني عند رقم هيدروجيني يساوي ٨ ثم قياس التغير في رقم الاس الهيدروجيني في فترة زمنيه محددة (عادة بعد ١٠ دقائق) . واستخدم الباحثون

التربيين والكميوتربيين والبيتديز peptidase واجريت الدراسة على ٢٣ مصدراً بروتينياً ومنتجاً غذائياً كان غالبيتها من مصادر نباتية ولقد اثبتت النتائج دقة هذه الطريقة حيث كانت قيم نسبة فعالية البروتين المحسوبة متفقة مع نتائج التجارب الحيوية .

اجتمع العلماء المهتمين ببرامج الغذاء والتغذية بحضور ممثلين عن الجامعات والحكومة والمصانع في مدينة لينكولن Lincoln بالولايات المتحدة في فبراير من عام ١٩٧٧ لمناقشة الحاجة الى تجربة سريعة لتقدير القيمة الغذائية للبروتين ، وقد ناقش المجتمعون الطرق الحيوية المستخدمة للكائنات الحية الدقيقة Microorganisms والفهران او الانسان ، وكذلك الطرق التي تقدر الاحماس الامينية الاساسية وقابلية هضم البروتين خارج الجسم (Bodwell, 1977) . وقد ساعد اجتماع عام ١٩٧٧ في تركيز النقاش بين المجتمعين من علماء واصحائي تغذية حول الحاجة الى طريقة سريعة من اجل تقدير القيمة الغذائية للبروتين ، حيث تحتاج المصانع الى تجربة يوميه سريعة لضبط الجودة (القيمة الغذائية) مقارنة بالتجربة التي تستغرق ٢٨ يوماً وتتكلف اكثر من ١٥٠ دولاراً للعينة والتي تستخدم الفهران لحساب نسبة فعالية البروتين PER والتي لا تخدم الحاجة السريعة لتلك المصانع .

ذكر رو بايدك (Robaidek, 1983) ان استخدام الانسان لتقدير جودة البروتين (القيمة الغذائية) تعتبر من ادق التجارب ولكن مثل هذه التجارب مكلفة و تستغرق وقتاً اطول ، بينما تعتبر طريقة نسبة فعالية البروتين باستخدام الفهران Rat-PER من التجارب الحيوية الرسمية للجمعية الرسمية لكيميائي التحليل (AOAC) ، ولكن من القيود الملزمة لهذه التجارب طول فترة التجربة والتكلفة الاقتصادية واللذان يحدان من استخدامهما في تجرب ضبط الجودة الروتينية .

وفي عام ١٩٧٨ وبعد العديد من الدراسات تم اختبار تجربة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER على ٦٠ نوعاً من الأغذية ومكوناتها ، وطورت الجمعية الرسمية لكيميائي التحليل عام ١٩٨٢ (AOAC, 1982) هذه الطريقة لاستخدام معلومات عن قابلية الهضم خارج الجسم *In vitro protein digestibility* ومكونات الاحماس الامينية الاساسية للأغذية وذلك للتبني بالقيمة الحيوية للبروتين .

وأجرى ساترلي وآخرون (Satterlee et al., 1977) دراسة مقارنة بين نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER ونسبة فعالية البروتين باستخدام فئران التجارب PER لخمس واربعين نوعاً من الأغذية البروتينية ووجد الباحثون أن متوسط الفرق بين C-PER و Rat-PER لكل الأغذية كان ١٢٪ فقط.

وضع ساترلي (1984) ميزات وسلبيات نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER مقارنة بنسبة فعالية البروتين باستخدام فئران التجارب Rat-PER فلقد ذكر أن ميزات هذه الطريقة تشمل ما يلي :

- يمكن أن تتم تجربة تقدير نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER في أقل من ٧٢ ساعة مقارنة بنسبة فعالية البروتين باستخدام فئران التجارب Rat-PER والتي تستغرق ٢٨ يوماً .

- لا تتأثر نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER بالمكونات التغذوية والتي عادة تؤثر على نسبة فعالية البروتين باستخدام فئران التجارب Rat-PER والتي تشمل المحتوى البروتيني الأقل من ١٪ ، حيث تحتاج نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER إلى أقل من ١ جرام بروتين ، بينما كمية من البروتين أقل من ٤٥ جم يمكن أن تستهلك بواسطة فئران التجارب ، كما أن الأغذية المحتوية على نسب عالية من الألياف والرماد والدهون والكربوهيدرات تؤدي إلى صعوبة في إعداد وجبات الفئران ، ولا تتأثر نسبة فعالية البروتين المحسوب C-PER بالإضافة إلى العناصر مثل المنكهات والبهارات والتي عادة تقلل من الاستهلاك الغذائي للفئران .

- تعطي نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER فكرة عن قابلية الهضم للبروتين ومحظوظ من الأحماض الأمينية الأساسية وعن القيمة الغذائية للبروتين . أيضاً من إيجابيات هذه الطريقة أنها تعطي إشارة عن وجود مثبطات الأنزيمات الهاضمة للبروتينات في الأغذية الغير معالجة مثل دقيق فول الصويا . أما سلبيات الطريقة تشمل : أنها صممت لأنواع الأغذية المعروفة في الولايات المتحدة والتي تزداد نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER فيها بين ٥٪ إلى ٣٥٪ ، كما أن هذه الطريقة ليست حساسة بدرجة كافية للكشف عن المثبطات الأخرى غير مثبطات أنزيمات هضم البروتين وأخيراً تعطي بروتينات الغذاء المهزومة كلياً أو جزئياً نسبة C-PER أقل من طرق التقدير الأخرى .

ناقش ساترلي وآخرون (Satterlee et al., 1979) تجربتين تم اختبارهما على العديد من نوعيات الأغذية وقد استغرقت التجارب أقل من ٧٢ ساعة لاتمامها . كانت التجربة الأولى عبارة عن تحليل او تقدير نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER والتي استخدمت بيانات النسبة الهضمية للبروتين خارج الجسم *in vitro* والاحماض الامينيه الاساسية المكونه للبروتينات الخاضعة للتجربة ، أن تقنية تجربة نسبة فعالية البروتين المحسوبة غير C-PER غير معقده عند استخدامها مستويات مختلفة من البروتين او الدهون او اضافة البهارات في الطعام الذي يراد فحصه ، لذلك يمكن تعديقها على نطاق واسع من المكونات الغذائية المصنوعه وتعتمد التجربة الثانية على نسبة فعالية البروتين المحسوبة *Tetrahymena thermophila* WH14 باستخدام طريقة نسبة فعالية البروتين المقدرة بالاحياء الدقيقة T-PER وقد سجل الباحثون ان اخطاء تقدير طريقة نسبة فعالية البروتين المقدرة بالاحياء الدقيقة T-PER كبيرة اذا ما قورنت باخطاء تقدير نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER .

اجري بابجي وآخرون (Babji et al., 1980) دراسة مقارنة بين نسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER) ، ونسبة فعالية البروتين باستخدام فتران التجارب Rat-PER على ثلاث انواع من لحوم الدواجن المزالة منها العظم آلياً وهي رقاب وظهور الدجاج الخام ولحm الدجاج المطبوخ ولحm الديك الرومي الخام ، وتوصل الباحثون الى أن الاساليب الحسائية لنسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER باستخدام الاحماض الامينية الاساسية والنسبة الهضمية للبروتين اثبتت سرعة التقييم النوعي للبروتين ، كذلك اوضحت الدراسة ان طريقة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لها مميزات لانقتصر فقط على السرعة والانخفاض التكاليف الاقتصادية واما تشمل ايضاً مقدرتها على تحديد العوامل المسبيه لارتفاع او انخفاض نوعية البروتين ، كذلك اثبتت الدراسة دقة طريقة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER وذلك من النتائج المقاربة جداً بين قيمتها وقيم نسبة فعالية البروتين PER التي حصل عليها من فتران التجارب .

اجريت دراسة مقارنة بين نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER ونسبة فعالية البروتين باستخدام فتران التجارب PER وذلك على ٣٣ عينة من انواع مختلفة من

الخضروات البروتينية ، وذكر الباحثون ان النتائج المتحصل عليها باستخدام طريقة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لها درجة ارتباط عالية مع نسبة فعالية البروتين باستخدام فتران التجارب Rat-PER التي بلغت ٨٧١٪ ، وكذلك كانت قيم نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لبروتينات الحبوب البقرية اكبر من قيم نسبة فعالية البروتين باستخدام فتران التجارب Rat-PER ، في حين انها اعطت قيم اقل من قيم نسبة فعالية البروتين باستخدام فتران التجارب Rat-PER خليط الاغذية المدعمة بالبروتين الحيواني (Wolzak et al., 1981) .

كما قدرت القيمة الغذائية لبروتين شرائح لحم السمك (*Sebastes spp.*) rockfish المخزن في عبوات غير مفرغه air او في عبوات مفرغه من الاكسجين modified atmosphere (MA) باستخدام نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER ، ووجد الباحثون ان قيم نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لعينات السمك الطازج المخزن في العبوات غير المفرغه او المفرغه من الاكسجين مرتفعه مقارنة بنسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER للكازين القياسي (٢٥٪) ، ومن خلال هذه الدراسة توصل الباحثون الى ان المعاملات السابقة التي اجريت على لحم السمك لم تخفض من قيم نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER (Morey et al., 1982) .

ذكر ساترلي وآخرون (Satterlee et al., 1982) ان النماذج المصممه لإيجاد نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER قادرة على اعطاء تقديرات جيده للقيم الغذائية للبروتينات في مجموعة كبيرة من الأغذية ومكونات الاغذية ، وتظل الطرق الحيويه باستخدام الفتران هي الطرق الرسميه والمعتمده لتقدير قيمة البروتين الغذائيه في حين تستخدم طريقة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لمراقبة الجودة في مصانع الاغذية بصورة روتينيه وذلك لبروتينات الاغذية والمواد الداخله في تكوينها .

قدر صوايا وآخرون (Sawaya et al., 1984) قابلية الهضم خارج الجسم لحليب الابل والتي بلغت ٤٨.١٪ وهي نسبة اقل من الكازين القياسي ANRC-Casein البالغة ٩٪ ، بينما بلغت نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لحليب الابل ٦٩٪ وهي نسبة أعلى من الكازين القياسي ANRC-Casein والتي بلغت ٢٥٪ . وسجل كلاً من بانت

وشندراء (Pant and Chandra, 1981) نتائج مشابهة للنتائج السابقة ، حيث وجد أن معامل قابلية الهضم لказين حليب البقر والказين الصناعي وكازين حليب الأبل كانت على التوالي ٧٥٪ و ٨٨٪ و ٧٧٪ . كذلك وجد الباحثان أن قيم نسبة فعالية البروتين PER لказين حليب البقر والказين الصناعي وكازين حليب الأبل ١٨٥٪ و ٦٦٪ و ٢٠٥٪ على التوالي . وقد أعزى اخفاض قابلية الهضم خارج الجسم المسجله لحليب الأبل مقارنة بحليب البقر إلى الاختلافات في الشكل التنظيمي للبروتين في كلاً من حليب الأبل وحليب البقر (Sawaya et al., 1984) . أما القيم العالية لنسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER ونسبة فعالية البروتين باستخدام الطرق الحيوية PER والتي سجلها بانت وشندراء (Pant and Chandra, 1981) في حليب الأبل قد تكون نتيجة لاحتواء حليب الأبل على أحماض أمينية كبريتية بكمية أعلى من المصادر الأخرى وهذه الأحماض الأمينية تعتبر من الأحماض الأمينية المحدودة limiting amino acids في الحليب عموماً .

أجرى صوايا وآخرون (Sawaya et al., 1985) دراسة لتقدير القيمة الغذائية لبروتين زبدة السمسم Sesame butter وكانت قابلية الهضم خارج الجسم ٣٪ . بينما بلغت قيمة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER ٤٪ و تمثلاً قيماً أقل مقارنة بقيمة كازين مجلس ابحاث تغذية الحيوان ANRC والتي بلغت ٩٪ و ٥٪ على التوالي . كذلك وجد الباحثون أن قيم قابلية الهضم خارج الجسم عالية نوعاً ما لزبدة السمسم مقارنة بذور السمسم والتي بلغت ٧٪ . بينما قيمة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER كانت عالية مقارنة بقيمة نسبة فعالية بروتين بذور السمسم باستخدام فهران التجارب PER البالغه ٧٪ و ذلك كما تم تسجيلها بواسطة منظمة الأغذية والزراعة العالمية (FAO, 1970) . كذلك اشارت قيم قابلية الهضم خارج الجسم وقيمة نسبة فعالية البروتين العالية نسبياً لزبدة السمسم إلى أن زبدة السمسم سهلة الهضم ولها قيمة غذائية جيدة وذلك بالرغم من أن زبدة السمسم تصنع من بذور السمسم المقشور ، إلا ان معظم الاوكسالات Oxalates (٢-٣٪) المرتبطة بالكالسيوم تزال مع التقشير .

كما اجرى صوايا وآخرون (Sawaya et al., 1986) دراسة على بذور Citrullus colocynthis لاستخدامها كمصدر جديد للبروتينات الغذائية ، واحتوت البذور على ٥٪ بروتين ، و ٦٪ دهون ، وكانت البذور غنية بـ المليونين

والسيستين Cystine ، وبلغت قيمة نسبة قابلية الهضم للبروتين خارج الجسم ، ونسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER ٩٧٥٪ و ٨٥٪ على التوالي مقابل ٩٥٪ و ٥٢٪ لказين مجلس ابحاث تغذية الحيوان ANRC .

قدرت القيمة الغذائية لبروتين دقيق الحمص حيث اجري باريديس - لوبيز وأخرون (1991) Paredes-Lopez et al., دراسة على نوعين من معزول دقيق الحمص Micelle protein isolate (MPI) و معزول بروتين الشبكي Chick pea Isoelectric protein isolate (IPI) ، وبلغت قيمة نسبة قابلية الهضم خارج الجسم لكل منهما ٩٤٪ و ٩٠٪ على التوالي ، ووجد ان قابلية الهضم لمعزول البروتين الشبكي MPI مقاربه جداً لنتائج معزول بروتين فول الصويا SPI والبالغه ٩٥٪ ، ولكنها كانت اعلى من الكازين القياسي (٩٥٪) بينما وجد ان قابلية الهضم للكازين القياسي ومعزول بروتين نقطة التعادل الكهربائي IPI متساويان ، وبالمقابل قدرت نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لكل من معزول البروتين الشبكي MPI ومعزول بروتين نقطة التعادل الكهربائي IPI وكانت ٢٦٪ و ٣٢٪ على التوالي وهي قيم مقاربة لنتائج الكازين القياسي (٢٥٪) وهذه القيم متواقة مع النتائج المتحصل عليها عند تقدير نسبة فعالية البروتين في الفئران Rat-PER باستخدام دقيق الحمص النابت وغير النابت (Fernandez and Berry, 1988) .

درس تأثير المعاملات الحرارية على جودة (القيمة) البروتين باستخدام الهضم خارج الجسم *in vitro* لحبوب الفاصوليا البلديه Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris L.*) كما قدرت نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER ولوحظ انخفاض في قيم قابلية الهضم خارج الجسم وقيم نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER بالنسبة للحبوب الغير مطهية مقارنة بالحبوب المطهية ، حيث بلغت قيمة قابلية الهضم خارج الجسم للحبوب الخام ١٨٪، بينما بلغت للحبوب المعامله بالطهي المنزلي المعتاد ٣٣٪ و ٢٨٪، وتراوحت قيم قابلية الهضم خارج الجسم للأغذية المعلبه والمعالجة بدرجات حرارة مختلفة وفترات زمنيه مختلفه بين ٨٨٪ و ٦٩٪ وذلك مقارنة بقيم الكازين القياسي والتي سجلت ١٠٪، بينما بلغت قيمة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER للحبوب الخام ٥٢٪ وارتفعت القيمة بعد المعاملة بالطهي المنزلي المعتاد لتصبح ٨٤٪، وتراوحت

قيم نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER للأغذية المعلبة والمعالجة بدرجات حرارة مختلفة وفترات زمنية مختلفة من ١٦٨ إلى ١٩٦ وذلك مقارنة بالказرين القياسي والتي بلغت ٢٥٪ (Williams et al., 1994).

مثبطات إنزيمي التربسين والكيموتربسين في المواد النباتية

يعد ريد وهاس (Read and Hass, 1938) أول من اكتشف وجود مثبط إنزيم التربسين Trypsin في الأغذية النباتية ، فقد ذكر الباحثان أن المستخلص المائي للدقيق فول الصويا يثبط مقدرة التربسين على تحلل الجلاتين وقد تمكّن بعض الباحثين من عزل وتنقية العامل المسؤول عن هذا التثبيط .

(Bowman, 1944; Bowman, 1946; Bowman, 1948, Ham and Sandstedt, 1944 ; Kunitz, 1945, 1946).

ولقد أدى ذلك إلى تحفيز العلماء للكشف عن مثبطات الإنزيمات المخللة للبروتين والتي لها أثر سلبي على القيمة الغذائية للبروتين ، إضافة إلى السلبيات الأخرى مثل تضخم البنكرياس وضعف النمو في حيوانات التجارب . فقد ذكر راكيس (Rackis, 1972) أن مثبط التربسين كان مسؤولاً عن ٣٠٪ إلى ٥٠٪ من التأثير المثبط لنمو حيوانات التجارب كما كان مسؤولاً عن كل حالات التضخم البنكرياسي في هذه الحيوانات عند تغذيتها على فول الصويا الخام . وتوصل لنفس الاستنتاج العديد من الباحثين

(Turner and Liener, 1975 ; Korgdahl and Holm, 1979; Liener, 1981; Hove and King, 1979; Sitren et al., 1985).

وذكر هوف وكنج (Hove and King, 1979) أن هذه المثبطات متواجدة في البذور البقولية النباتية وكانت مسؤولة عن التضخم البنكرياسي والانخفاض هضم البروتين وضعف النمو في حيوانات التجارب .

اكد ليнер وكاكادي (Liener and Kakade, 1969) أن المثبطات التغذوية متواجدة في الأغذية البروتينية النباتية ، ودرس بروشرز وآخرون في عام ١٩٤٧ (Borchers and Ackerson, 1947) العديد من البقوليات لمعرفة احتواها على مثبطات إنزيم التربسين . كما تمكّن توبر وآخرون (Tauber et al., 1949) من عزل هذا المثبط من نبات فاصولياء ليمما Lima beans على شكل بلوري . وقام العديد من الباحثين

تمكن ياماميتور وایکاناكا (Yamamoto and Ikenaka, 1967) من تصميم طريقة بسيطة لتحضير كميات كبيرة ونقية لاثنين من مثبطات التربسين في فول الصويا وهما مثبط كنتر Kunitz ومثبط 1.9S ، وقد وضحا أن مثبط كنتر Kunitz مشابه للمثبط الذي قام بعزله الباحث كنتر Kunitz عام ١٩٤٦م ، كما اكتشف البحث مثبط جديد هو 1.9S . وأجرى الباحثان دراسة على نشاط المثبطان ضد العديد من الانزيمات مثل التربسين والكيموتربسين والبازين Papain والبرونيز Pronase والبروتينز البكتيري Bacterial proteinase ووجد لينير و كاكادي (Liener and Kakade, 1969) أن نبات فول الصويا يحتوي على خمس انواع أو أكثر من مثبطات التربسين .

وصف كاكدي وآخرون (Kakade et al., 1970) طريقة تمكن من الحصول على علاقة خطية بين نشاط الكيموتربسين على الكازين وتركيز الانزيم ، وقد طبقت هذه الطريقة بواسطة الباحثين لتقدير نشاط مثبط الكيموتربسين المستخلص من فول الصويا الخام ، وتمكن الباحثون من الحصول على استجابة خطية بين نشاط الكيموتربسين على الكازين وتركيز الانزيم بواسطة الاختيار التميز لظروف التجربة والتي شملت تركيز ايونات الكالسيوم وزمن الهضم واستخدام المحلول المنظم Trichloroacetic acid لترسيب البروتينات غير المضرومة ، وتعتبر مثل هذه الاستجابة الخطية Linear response متطلب مهم واساسي للحصول على تقديرات حقيقة ودقيقة لنشاط الكيموتربسين في مستخلص فول الصويا الخام . وقد وضع نورثروب وآخرون (Northrop et al., 1948) ان

الانزيمات المخللة للبروتين والتي تعمل على المواد البروتينية مثل الكازين او الهايموجلوبين Denatured hemoglobin تبيع عموماً في استجابتها لتركيز الانزيمات منحنى خطى ، وتعد طريقة كنتر (Kunitz, 1947a) لضم الكازين ولتقدير نشاط التربسين والكيموتربسين مثال نموذجي لذلك . وجد كاكدي وآخرون (Kakade et al., 1972) كميات متفاوتة من مثبط نشاط انزيم التربسين في الأنواع المختلفة لفول الصويا Soy bean . حلل كلاً من روبي وباهت (Roy and Bhat, 1974) بعض الأنواع من فول الصويا *Glycine max L.* وبذور دوار الشمس *Helianthus annuus L.* لعرفة محتواها من البروتين والزيوت والرطوبة ، ولمعرفة نشاط مثبط التربسين ، ولقد وجدوا أن المحتوى البروتيني لفول الصويا أعلى ، بينما وجدوا أن نشاط مثبط التربسين عالي ومتساوي في الاثنين . أيضاً سجل الباحثان أن محتوى بعض أنواع بذور دوار الشمس من الدهون والبروتين ملائم ، بينما يحتوي بعضها على كمية بسيطة من مثبطات التربسين ويخلو منها البعض الآخر . قدر حافظ ومحمد (Hafez and Mohamed, 1983) مثبط انزيم التربسين الكلي في مستخلصات 11 نوعاً من فول الصويا و 11 نوعاً Strains من الفاصولياء المجنحة Winged beans ، وقد تم ترسيب البروتين في تلك المستخلصات بإستخدام ١٦٪ من حمض الخل ثلاثي الكلور Trichloro acetic acid كما تم تقدير نشاطات مثبطات انزيم التربسين غير البروتينية في المواد المعلقة الحالية من البروتين ، وشكل مثبط التربسين غير البروتيني حوالي ٥٥-٢٧٪ من نشاط مثبط انزيم التربسين الكلي لفول الصويا وحوالي ١٤-٥٪ من النشاط الكلي في الفاصولياء المجنحة Winged beans . ذكر راكس وآخرون (Rackis et al., 1986) أن فول الصويا Soybean يستخدم في أمريكا الشمالية بصورة واسعة كعلاقة للحيوانات ، ومن السلبيات الرئيسية لاستخدام فول الصويا كغذاء للحيوانات الغير مجترة Non-ruminants هو وجود مضادات التغذية والتي يتطلب القضاء عليها ضرورة معالجتها حرارياً ، وهذا يزيد تكلفتها مما يقلل من الجدوى الاقتصادية عند استخدام فول الصويا في غذاء الحيوانات ، ومن ذلك نجد أن المعاملة الحرارية مهمة لدنترة Denature مثبط انزيم التربسين وهذا بدوره يؤثر على هضم بروتين فول الصويا كما يعرق نحو الحيوانات الغير مجترة التي تغذى بفول الصويا . وتكون مثبطات فول الصويا من نوعين من البروتينات التي تذوب في الماء وهما مثبط تربسين كنتر Kunitz ومثبط تربسين بومان-ويلسون (Tan-Wilson and Wilson, 1986) Bowman-Birk

ووجد أن مثبط تربسين كنتر Kunitz يشطب فقط إنزيم التربسين بينما مثبط إنزيم تربسين بومان - بيرك Bowman-Birk يشطب كل من إنزيمي التربسين والكيموتربسين (Ikeda and Norioko, 1986; Seidl and Liener, 1972) . أجرى كلاً من هان وبيرسون (Han and Persons, 1991) العديد من التجارب باستخدام طرق مختلفة لتقدير القيمة الغذائية لنوع من فول الصويا بها انخفاض في مثبط إنزيم التربسين كنتر Kunitz ومقارنتها بكلٍّ من فول الصويا الخام وفول صويا منزوعة القشرة ومعامل حرارياً . ووجد الباحثان أن القيمة الغذائية لفول الصويا المتميز بإانخفاض مثبط إنزيم التربسين كانت عالية مقارنة بفول الصويا الخام ، بينما وجداً أن القيمة الغذائية لفول الصويا المتميز بإانخفاض مثبط إنزيم التربسين كانت منخفضة مقارنة بفول الصويا منزوعة القشرة والمعاملة حرارياً . كما كان متوسط قابلية الهضم لـ ١٦ حامض أميني في فول الصويا المتميز بإانخفاض مثبط إنزيم التربسين وفول الصويا الخام وفول الصويا منزوع القشرة ومعامل حرارياً ٨٣٪ و ٦٨٪ و ٩٢٪ على التوالي .

أجرى القحطاني (Al-Kahtani, 1995) دراسة مقارنة عن بعض مضادات التغذية في بذور البان (اليسر) ومنتجات فول الصويا ، وأوضحت الدراسة أن كمية مثبط التربسين في بذور البان (اليسر) أقل من فول الصويا ، حيث بلغت كمية مثبط إنزيم التربسين (وحدة/ملجم) لبذور البان منزوع الدهن ، ومركبات البروتين ، ومعزولات البروتين ١٣ و ١٤ و ٥ ، بينما بلغت كمية مثبط إنزيم التربسين (وحدة / ملجم) لبذور فول الصويا منزوع الدهن ومركبات البروتين ومعزولات البروتين ٢٦ و ٣٩ و ١٠ على الترتيب .

عزل بيليو وآخرون (Belew et al., 1975) مثبطات إنزيمي التربسين والكيموتربسين من مستخلص عصارة الحمص الخام (*Cicer arietinum* L.) بクロماتوجرافيا الألف Affinity chromatography وكان تركيز المثبطات ١٥ جم/كجم من المادة النباتية تقريباً ، ولقد تمكّن الباحثون فيما بعد من فصلها إلى ست مثبطات ايزميريه Iso inhibitors بالتبادل الأيوني الكروماتوجرافيا وشكل اثنان من هذه المثبطات ٥٠٪ من إجمالي المثبطات المعزولة تقريباً ، كما تم تنفيتها وتحديد خصائصهما الطبيعية والكيميائية ودرجة ثباتهما تحت الظروف المختلفة ودورهما في تبيط مجموعة كبيرة من إنزيمات

التحلل البروتيني Proteolytic enzymes ودرس سمير نوف وآخرون (Smirnoff et al., 1976) الخصائص الكيميائية والحيوية لمثبطات الانزيمات الموجودة في الحمض أيضاً . أكدت الدراسة التي احرتها بروشرس واكيرسون (Borchers and Ackerson, 1947) احتواء الحمض على مثبط انزيم التربسين ، وتوصل نفس الاستنتاج في دراسة لاحقة سوهوني وباهندر (Sohonie and Bhandarkar, 1954) وأوضاع ابراموفا وشيرنوكوف في عام ١٩٦٤ (Abramova and Chernikov, 1964) احتواء مستخلصات الحمض على مثبطات فعالة ضد انزيمي التربسين والكيموتربسين ولكنها لا تؤثر على انزيم البيسين . ذكر كلاً من سنج وجامبستان (Singh and Jambunathan, 1981) ان مستويات نشاط مثبط انزيم التربسين كانت عالية في نوعين من بذور الحمض Chick pea وهي ديري desi وقوبالي kabuli مقارنة بنشاط مثبط انزيم الكيموتربسين بها .

تشير كثير من الدراسات أن بذور دوار الشمس (*Helianthus annuus* L.) تحمل نسبياً من العامل المضاد لأنزيم التربسين حيث أكد ذلك كل من اقرین ولیدین واقرین واکلنڈ (Agren and Eklund, 1972; Agren and Lieden, 1968; Agren and Eklund, 1972) فقد وجدوا أن بذور دوار الشمس تحتوت على نوع ضعيف من مثبطات انزيم التربسين . كما سجل كلاً من اقرین واکلنڈ (Agren and Eklund, 1972) ان التجارب الحيوية لإطعام الفئران بوجبه بذور دوار الشمس او العصارة المائية لوجبة بذور دوار الشمس اشاره الى وجود بعض مثبطات انزيم التربسين في البذور ولكن التأثيرات الحيوية للمثبط كانت ضعيفه نسبياً . ذكر کاکدی وآخرون (Kakade et al., 1972) أن هنالك تقارير متضاربة حول وجود مثبطات التربسين في بذور دوار الشمس .

عزل تارسين وآخرون (Tur-Sinai et al., 1972) مثبطات انزيمي التربسين والكيموتربسين وذلك باستخلاصها من وجة الفول السوداني منزوعة الدهن بإستخدام الأعمده المتوااليه للكروماتوجرافی Successive Column Chromatography وكرون المثبط عند درجة DEAE- Cellulose وكبريتات الأمونيوم ammonium sulfate وكان المثبط عند درجة اس هيدروجيني يساوي ٥ مركبات ثابته مع انزيمي التربسين والكيموتربسين بنسبة جزيئه كانت حوالي ١ : ١ . ذكر سترين وآخرون (Sitren et al., 1985) ان بعض البقوليات

الأخرى مثل الفول السوداني peanut تحتوي أيضاً على عوامل مضادة للتغذية ولكن لا يُعرف الكثير عن تأثير المعالجة الحرارية عليها وعن تأثيرها على النمو وعلى وظائف البنكرياس في الفتران التي غذيت بهذا البروتين . وقد وجد أن دقيق الفول السوداني الخام والمعالج بالحرارة يحتوي على نشاط لمبطة إنزيم التربسين ومبطة اللكتين lectin أكثر من فول الصويا المعالج بالحرارة ، كذلك وجد انه عندما غذيت الفتران النامية بنسبة ١٠٪ من بروتين الفول السوداني فان الاستجابة في استهلاك الغذاء والنمو ووظائف الكبد ومكونات مصل الدم لم تكن واحدة عند مجموعة الفتران او داخل المجموعة الواحدة . وقد لوحظ عدم وجود ارتباط بين مستويات مضادات التغذية في البقوليات وبين تأثيرها البيولوجي العام في تجذب التغذية عند الفتران .

بعد جيف (Jaffe, 1950) أول من درس نشاط مبطة إنزيم التربسين في العدس (Lentils) وبعدها بسنوات عدة حضر مانسفيلد وآخرون (Mansfeld et al., 1959) مبطة من بذور العدس يؤدي إلى تثبيط إنزيم الكيموتربسين ، أما شافان وهيجارد (Chavan and Hejgaard, 1981) فقد ذكر بأن العدس يحتوي على سبع انواع من مثبطات إنزيم التربسين وكان واحداً منها فقط مثبطاً لأنزيم الكيموتربسين واكتشف ويدير وآخرون (Weder et al., 1983) أربعة مثبطات في العدس Lentils بواسطة قرص الهررة الكهربائية Disc electrophoresis وقد تبين أنها جميعاً تعمل على تثبيط إنزيمي التربسين والكيموتربسين البقرى Bovine trypsin and chymotrypsin ونقى كلاً من ميلر و ويدير (Mueller and Weder, 1989) نوعين رئيسيين من مثبطات إنزيمي التربسين والكيموتربسين من العدس الإيطالي الأحمر Italian red lentils ، وذكر إحتواء اثنين منهما على الأقل على مثبطات التربسين - الكيموتربسين الثانويه . وأجرا الباحثان دراسة على تفاعل مثبطات الإنزيمات المخللة لبروتين العدس lentil مع التربسين والكيموتربسين في الإنسان والبقر وقد توصلوا إلى ان مول واحد من مثبطات التربسين - كيموتربسين التي تم تنقيتها من العدس بواسطة ميلر و ويدير (Mueller and Weder, 1989) يمكن أن تثبط مول واحد من تربسين الإنسان وأكثر من مول لكلاً من التربسين البقرى وكيموتربسين الإنسان وأقل من مول من الكيموتربسين البقرى .

اجرى ساماثي وباتيرمان (Sumathi and Pattabiraman, 1976) دراسة على ١٨ نوعاً من البذور للتعرف على انشطة مضاد التربسين والكيموتربسين ومضاد Subtilisin BPN وقد وجداً أن بذور الخشب الأحمر red wood seed لها نشاط عالي لتبسيط إنزيمي التربسين والكيموتربسين ، وأن نشاط المثبط في هذه البذور يتحطم كلية عند التعرض للمعالجة الحرارية لمدة ٣٠ دقيقة وعند درجة حرارة ٩٥ م° . واظهرت بذور acacia و red wood و sword beans و hyacinth و lathyrus و jack fruit مثبطه متساوية تجاه إنزيمي التربسين والكيموتربسين . ولم تحتوي Green gram على مضاد لنشاط الكيموتربسين في حين أن مستخلص tamarind seed و cluster bean و begnal gram و red and white guinea peas و black gram و red gram و butterfly pea تحتوي على نشاط مثبط ضد إنزيم الكيموتربسين . كذلك وجد أن فول الصويا و وترواحت النسب بين ٢ الى ٨ ره وذلك لمثبط التربسين .

اجرى هوف وكينج (Hove and King, 1979) دراسة لتقدير تركيز مثبط التربسين في مجموعة من عينات البذور البقوليه قيمت تغذوية للدراسة اثرها على نمو الفغران في دراسات سابقة وقد وجد الباحثان ان بذور الترمس الحلو Sweet lupin (*Lupinus albus* and *L. angustifolius*) لا تحتوي على كميات كبيرة من المثبط (أقل من ١٢ . ملجم/جم من العينة) في حين تحتوى فول الصويا وفاصوليا ليما (*Phaseolus lunatus vulgaris*) وثلاث انواع من الفاصوليا الأخرى (*Phaseolus vulgaris*) وفاصوليا بنتو (*Pinto beans*) على ٢ و ٢٦ و ١٠ و ٢٠-٢٥ ملجم/جم من العينة على الترتيب .

اجرى جريفيس (Griffiths, 1984) دراسة على ١٨ نوعاً من البسله pea وخمسة انواع من فاصوليا الحقل field bean لمعرفة محتواها من مثبط إنزيم التربسين . واستخلصت الدراسة وجود تفاوت واضح في نشاط هذا المثبط بين انواع البسلة وكان نشاط مثبط إنزيم التربسين في جميع انواع البسلة عدى اثنين منها اقل مقارنة بما هو موجود في فاصوليا الحقل . وعلى العكس من ذلك فقد كان نشاط مثبط إنزيم الكيموتربسين في جميع انواع البسله عدا نوع واحد مرتفعاً مقارنة بفاصوليا الحقل ،

اضافة الى ذلك كان التفاوت في نشاط مثبط انزيم الكيموتروبين حلياً في الانواع المختلفة من البسلة .

اجرى شايهان وآخرون (Chauhan et al., 1992) دراسة على اجزاء بذور الـ Quinoa وهي من المحاصيل النسوية المحضره بالتقشير اليدوي والاستخلاص المائي ، وقد وجد أن محتوى البروتين في البذرة الكامله حوالي ١٣٪ واحتوت النخالة والدقيق والقشره على حوالي ٦٥٪ ، ٣٠٪ ، ٢٨٪ من البروتين الكلي على التوالي ، وذكر الباحثون ايضاً أن البذور المحضره بالتقشير اليدوي كانت ذات محتوى عالي من اللايسين Lysine والاحماض الامينيه المحتويه على الكبريت مما يجعلها مشابهه للبقوليات والحبوب النسوية ، وأوضح تحليل المعادن الذي اجراءه الباحثون ان اجزاء بذور Quinoa جميعها غنيه بالكالسيوم والفسفور وال الحديد . وأشار البحث الى وجود نشاط منخفض جداً لمثبط التربسين في انواع الـ Quinoa المختبره .

أشار ابو طربوش واحمد (Abu-Tarboush and Ahmed, 1996) الى احتواء مستخلص دقيق بذرة الكركديه متزوعة الدهن على نشاط لمثبطي انزيمي التربسين والكيموتروبسين . وكان نشاط مثبط انزيم الكيموتروبسين منخفضاً مقارنة بنشاط مثبط انزيم التربسين حيث بلغ نشاط مثبط الكيموتروبسين حوالي نصف نشاط مثبط التربسين ، بينما احتوى معزول البروتين Protein isolate على نشاط ضعيف لمثبط الكيموتروبسين مقارنة بنشاط مثبط التربسين (٤٩٪ و ٢٨٪ نشاط مثبط الانزيم/ملجم بروتين على الترتيب) ، وكان نشاط مثبط انزيم التربسين في معزول البروتين ٧٠٪ مقارنة بمستخلص دقيق الكركديه متزوع الدهن .

تأثير المعاملات الحرارية على مثبطي انزيمي التربسين والكيموتروبسين

اجرى راكيس (Rackis, 1974) دراسة على عدد من المراد المضادة للعناصر التغذوية في فول الصويا Soybeans وتأثيرها العكسي على القيمة الغذائية ، وتضمنت الدراسة مثبطات الانزيمات المخللة للبروتين Proteolytic enzymes ومثبط الاميليز Amylase ومحترات الدم في المراد النباتي Phytohemagglutinins وحمض الفاتيك Phytic acid والمراد المنتجه للغازات في المعدة والامعاء Flatulents والمراد المسبيه لتضخم

الغده الدرقية Goitrogenic والسابونين Saponins والفينولات . ولقد اشار الباحث الى امكانية تحطيم الثلاث المواد الأولى السالفة الذكر عن طريق المعاملات الحرارية . و اشار بونفيست و وايتكر (Boonvisut and Whitaker, 1976) الى نفس النتيجه لمثبت التربسين و وجد ان مثبت هذا الانزيم بالامكان تحطيمه بالتسخين عند درجة حرارة ١٠٠ ° م لمدة ٣٠ دقيقه و عند اس هيدروجيني pH يساوي ١ .

يعالج فول الصويا عادة Soybean حرارياً قبل تناوله مما يخفيض من نشاط جزء كبير من نشاط مثبت البروتيز protease (Smith and Circle, 1972) ، بينما تحتوي بعض منتجات فول الصويا التجاريه على نشاط متبقى من مثبت البروتيز Protease والذي يساوي ما بين ٥ الى ٢٠٪ من نشاطه في دقيق فول الصويا الخام (Rackis and Gumbmann, 1981) وهنالك من يعتبر ان الكمية المتبقية من النشاط قد تكون ذات اهمية من الناحية الغذائيه (Liener, 1986) ، وبالاعتماد على التقرير القائل ان مثبت بومان - بيرك Bowman - Birk ثابت حرارياً عند تسخينه في صورته النقية (Birk, 1961) لذلک فإن النشاط المتبقى من مثبت البروتيز Protease بفول الصويا ينسب في بعض الاحيان الى مثبت بومان-بيرك (Johnson et al., 1980 a, b) Bowman - Birk . وقد اثبت كلا من ديبوتور ولينير (Dipietro and Liener, 1989) ان مثبت بومان - بيرك Bowman - Birk من السهل خفض نشاطه بواسطة التسخين الرطب ، لذلک فإن النشاط المتبقى في منتجات الصويا المسخنه من المحتمل ان تعود الى المزيج ما بين مثبت كنتر Kunitz ومثبت بومان - بيرك Bowman - Birk . درس ليبر و توملينسون (Liener and Tomlinson, 1981) تأثير الحراره في تقليل نشاط مثبتات البروتيز Proteases في فول الصويا والمفتقد لمثبت كنتر Kunitz للتربسين ، و وجداً أن نشاط مثبت التربسين والكيمومتربسين الحالى من الصويا كان حوالى نصف و ثلاثة اربعه لدقيق الصويا على التوالي ، وانها تحتاج الى معامله حرارية بسيطه لاحداًث مستوى من التحطيم لنشاط هذه المثبتات في حالة التربسين والكيمومتربسين الحالى من فول الصويا مقارنة بدقيق الصويا Soy . وجد ليبر و كاكدي (Liener and Kakade, 1969) ان نبات فول الصويا يحتوي على خمس او اكثر من مثبتات التربسين . كما ان المعلومات التي توصل اليها كل من كولنس و بيتي (Collins and Beaty, 1980) عن التشيط الحراري Heat inactivation لمثبت التربسين في فول الصويا الأخضر الطازج والاستجابات

الفيسيولوجي لفهران تمت تغذيتها على الفول الخام والمعالج حرارياً تتفق مع النتائج التي تحصل عليها راكيس (Rackis, 1965, 1972, 1974) والتي سجل فيها ان فول الصويا الخام والفول beans المعالج معالجه حراريه غير كافيه قد تبط النمو وتخفض امتصاص الدهون والطاقة الايضيه وتسبب تضخم البنكرياس وتحفز زيادة أو نقصان افراز انزيمات البنكرياتين ، وتخفض توفر كل من الاحماض الامينية والفيتامينات والاملاح المعدنية .

اجرى القحطاني (Al-Kahtani, 1995) دراسة مقارنة عن بعض مضادات التغذية في بذور البان (اليسر) ومنتجات فول الصويا وتأثير المعالجه الحرارية على تلك المثبطات ، ووجد الباحث ان محتويات مثبط التربسين في بذور البان (اليسر) اقل منها في فول الصويا إلا ان مثبطات التربسين في بذور البان (اليسر) كانت مقاومتها للمعالجه الحرارية اكبر من فول الصويا ، وحدثت المعامله الحرارية نقص مستمر في نشاط مثبط التربسين ولكن لم يصل التشبيط الى مرحلة وقف النشاط الكلي لمثبط الانزيم . وذكر الباحث أن الجزء المتبقى من نشاط مثبط التربسين اما ان يكون ثابت حرارياً او ان المثبط لا يتفاعل (يتدخل) مع التربسين المضاف تحت الظروف الخاصة بالتجربة (Smith et al., 1980) .

اجرى هانغ وآخرون (Huang et al., 1981) دراسة على ثلاثة انواع من مثبطات البروتينز Proteinase وهي مثبط الفا كيموتربسين α -chymotrypsin و مثبط التربسين والكيموتربسين، ومثبط الكربوكسي بيتيديز Carboxypeptidase في مستخلصات الانسجة المختلفه بذور البطاطا ، وتم غليانها باستعمال معاملات مختلفه وذلك بالطهي المباشر لمدة ٣٠ دقيقة وفي فرن درجة حرارته ٩١ م لمدة ٨٠ دقيقة، وميکروویف لمدة ٧ دقائق ، وذلك لمعرفة تأثير تلك المعاملات الحرارية الثلاث على دنرة denaturing البروتينات السامة القوية ، وقد وجدوا أن مثبط الكيموتربسين والتربسين قد تم تشبيط نشاطهما تماماً خلال المعالجه بطرق الطهي المختلفه ، ومثبط الفا كيموتربسين تم تشبيطه جزئياً بطرق الطهي السابقة ، اما مثبط الكربوكسي بيتيديز (Carboxypeptidase) فقد كان ثابتاً خلال الحالات المختلفه للطهي وبمقارنة الطرق الثلاث المذكوره للطهي وجد أن تأثير الطهي بالمیکروویف كان له اكبر الاثر في تقليل نشاط مثبط الفا- کيموتربسين ومثبط الكيموتربسين والتربسين . وقد طرح الثبات غير العادي لمثبط الكربوكسي بيتيديز

للمعاملات الثلاثه تساويات تتعلق بتأثيره على النسبة المضمنه لبروتينات البطاطا
المطبوخه .

بالرغم من وجود العديد من المواد السامة في النباتات البقوليه الخام (Liener, 1969) إلا أن كثيراً منها يمكن اتلافه بالمعامله الحراريه الكافيه ، كما هو الحال عند طبخها ، وتأثر جودة البروتين (القيمة الغذائيه) لـ *Phaseolus mungo* بالنفع والانبات والطبخ (Khan and Ghafoor, 1978) ، كما اثبت كلأ من جبتا وواجل (Gupta and Wagle, 1980) اثر الطبخ والانبات على سكريات الاوليجو Oligosaccharides ، ومثبط التربسين في *Phaseolus mungoreous* عند درجة حرارة تراوحت ما بين ٥٠ م إلى ٨٠ م بعد ٢٤ و ٣٦ ساعه من الانبات يحدث تلف بدرجات متفاوتة لمثبط التربسين وترواح الفقد في مثبط التربسين بين ١٥ و ٧١٪ فـ———
ي *Phaseolus mungoreous* بعد درجة حرارة تراوحت ما بين ٥٠ م إلى ٨٠ م بعد ٢٤ و ٣٦ ساعه من الانبات ، بينما كان اقصى فقد "تحطيم" لمثبط التربسين في *Phaseolus aureus* هو ٤٪ بعد ٣٦ ساعه من الانبات الساخن على درجة ٨٠ م لمدة ٤٥ دقيقه . وقد بين الباحثان ان نشاط مثبط التربسين يتاثر بالحرارة ومدة التسخين . ولذلك لم يلاحظ نشاط لمثبط التربسين في المستخلص المائي بعد المعامله الحرارية ، وكانت نتائج هذه الدراسة مماثله لما قام به كل من جبتا وواجل (Gupta and Wagle, 1978) .

حصل ولسن وآخرون (Wilson et al., 1972) على دليل من التجارب خارج الجسم *in vitro* على وجود مثبط التربسين المتأثر بالحرارة في كل من الفلقه cotyledon والغلاف testa للوبيا الحقل (*Vicia faba L.*) field bean ، وتم تحطيم المثبط بواسطة التسخين عند درجة حرارة ١١٠ م لمدة ٤٠ دقيقه . درس دهيراندھار وشانج (Dhurandhar and Chang, 1990) ، تأثير الطهي على ثبات كل من مثبط انزيم التربسين، ونشاط اللكتوزين cystine/cysteins, lectin في اللوبين Beans (*Phaseolus vulgaris*) Navy and Red Kidney beans وطبخت في وعاء مفتوح على درجات حرارة مختلفة وفترات مختلفة ، وقد وجد الباحثان

ان نشاط مثبط التربسين قد تناقض بإزدياد درجات الحرارة ومدة المعاملة وتحت بعض ظروف الطبيخ تبقى من نشاط مثبط انزيم التربسين اقل من ٥٪ .

عزل كلاً من اكيدا وكسانو (Ikeda and Kusano, 1978) مثبط انزيم التربسين من حبة الخنطه السوداء Buck Wheat Grain ووجدوا أن المعامله الحرارية حتى بعد التسخين لمدة طويله (ساعتين) ، ودرجة حرارة 59.8°C ، لم تؤثر بدرجة كبيرة في المستخلص واحتفظ المثبط بحوالي ٩١٪ من نشاطه الاصلبي .

درس تان وونج (Tan and Wong, 1982) الثبات الحراري لنشاط مثبط التربسين في ٦ انواع مختلفة من البقوليات المجنحة (*Psophocarpus tetragonolobus*) Winged Bean ، وسجلوا أن نشاط مثبط التربسين في الوجبات المعدة من البقوليات المجنحة Winged Bean ذات مقاومه عاليه للمعالجه بالتسخين الجاف ، كما ان الطهي لمدة طويله من ٤٥ الى ٦٠ دقيقة لكل البقوليات يعد ضروريأً لخفض نشاط مثبط التربسين بصورة واضحه ، ووجدوا أيضاً ان استعمال المعالجه الحراريه بالمعقم Autoclave على درجة 120°C ، له اثر قوى في تحطيم مثبط التربسين في الوجبات المعدة من البقوليات Beans او الفول bean ، وذكر الباحثان ان هذه المثبتات تتأثر في الوجبات المستخلصه بالمعاملات الحرارية عموماً . لاحظ كلاً من بارامباما وسيمارد (Barampama and Simard, 1994) أن قيم قابلية هضم البروتين للبقوليات *Phaseouls vulgaris* مرتفعه عند طبخها بعد النقع . وكان قد اثبت كلاً من سالنك وكادام (Salunkhe and Kadam, 1989) ان المعالجه الحرارية حست كثيراً من قابلية هضم البروتين وقللت من نشاط مثبط التربسين في البقوليات . قدر تان وآخرين (Tan et al., 1984) العلاقة بين قابلية هضم البروتين خارج الجسم *in vitro* ونشاط مثبط التربسين والتنين Tannin ، الذي امكن تقييمه في ثلاثة انواع من البقوليات المجنحة Winged bean والتي عولجت حراريأً بخمس طرق مختلفه ووجد أن المعالجه الحرارية تزيد من النسبة الهضمية للبروتين خارج الجسم وتخفف نشاط كل من مثبط التربسين والتنين Tannin ، وقد ذكر الباحثون انه ليس من الضروري ان يتبع عن الانخفاض في نشاط مثبط التربسين والتنين زيادة في قابلية هضم البروتين خارج الجسم *in vitro* .

عزل كوبى وآخرين (Koeppe et al., 1985) مثبطات التربسين من بذور (Amaranthus hypochondriacus) Amaranth لتلك البذور لمدة 7 ساعات وعند درجة حرارة ١٠٠°C تبقى فقط ٢٠٪ من نشاط مثبط إنزيم التربسين .

اجرى اوجين وآخرون (Ogun et al., 1989) تحليل لأربعة انواع من اللوبيا لدراسة الرافينوز raffinose ، وستاكىوز stachyose ، وحمض الفيتيك phytic acid والتين tannins ومثبط نشاط إنزيم التربسين ، وذلك بعد عملية التقشير للبقول والنقع البارد ، والنقع الحار والطبخ ووجد أن عملية التقشير خفضت من كمية الستاكىوز Stachyose وقضت على التين Tannins ، اما النقع الحار Hot-Soaking فأحدث انخفاضاً هاماً لكلاً من مثبط نشاط إنزيم التربسين والستاكىوز Stachyose .

ذكرت زينا وآخرون (Ziena et al., 1991) ارتفاعاً في النشاط الابتدائي لمثبط التربسين في الفول المدمس Faba Beans سهل الطهي وذلك مقارنة بالفول المدمس صعب الطهي ، ووجد أن المعالجة الحرارية قد اثرت بدرجة كبيرة على نشاط مثبط التربسين ، واعتمد التأثير التثبيطي بدرجة كبيرة على عوامل مهمة مثل درجة الحرارة وزمن الطهي . وقد كان الانخفاض واضحاً في نشاط مثبط التربسين ووصل الى حوالي ٥٪ عند استخدام المعاملة الحرارية للدرجة التي تصل بها الحبوب الى الطراوة ، وكانت درجة الحرارة للطهي السهل ١٢٥°C ولمدة ساعة واحدة ، بينما بلغت درجة الحرارة للطهي الصعب ١٢٠°C ولمدة ساعتين .

ولقد اثبتت دراسة كل من ابو طربوش واحمد (Abu-Tarboush and Ahmed, 1996) على مستخلص دقيق بذرة الكركديه متزوعة الدهن احتواء هذا المستخلص على مثبط إنزيم التربسين وقد امكن تحفيض نشاط هذا المثبط بنسبة وصلت الى ٦٦٪ بغليان المستخلص في الماء لمدة ١٠ دقائق .

الباب الثالث

المواد وطرق العمل

بذور البان (اليسر)

حصل على بذور البان - اليسر *Moringa peregrina* من مدينة العلا في شمال غرب المملكة العربية السعودية . نقيت البذور من الشوائب وقشرت يدويًا ثم طحنت بمطحنه كهربائيه وخللت في منخل مقاس 60 mesh للحصول على دقيق ناعم ، ثم حفظت العينة في الثلاجه في زجاجه محكمه الغلق عند درجة ٤°C لحين استخدامها للتحليل .

نزع الدهن من العينة

نزع الدهن من دقيق بذرة البان بمذيب الهكسان العادي وذلك طبقاً لطريقة التي (El-Tinay et al., 1988) ، وكررت العملية مرتين للتأكد من عملية الاستخلاص ثم تركت العينة لتجف على درجة حرارة الغرفة لمدة ٢٤ ساعه ثم طحنت العينة مرة اخري وخللت في منخل مقاس 80 mesh ، وحفظت العينة بعد طحنها في زجاجة محكمه الغلق عند درجة ٤°C لحين استخدامها للتحليل .

التحليل الكيميائي للعناصر الغذائية في بذور البان والدقيق المنزوع الدهن
قدرت نسبة الرطوبة والبروتين (النتروجين × ٦٢٥) والدهن والرماد والالياف في دقيق بذرة البان وكذلك في الدقيق المنزوع الدهن باستخدام طريقة الجمعيه الرسميه لکيميائي التحليل (AOAC, 1990) . وقدرت الكربوهيدرات حسائياً عن طريق الفرق بطرح مجموع نسب المكونات الكيميائيه المشار اليها في التحليل الكيميائي من ١٠٠ .

القيمة الغذائية لبذور البان

تقدير الأحماض الأمينيه Amino Acid Analysis

قدرت الأحماض الامينيه لدقيق بذرة البان منزوع الدهن بالتحلل المائي للعينه باستخدام حمض الهيدروكلوريك (N₆) لمدة ٢٤ ساعه على ١١٠°C طبقاً لطريقة الجمعيه الرسميه لکيميائي التحليل (AOAC, 1990) وقدر التربوفان بواسطة التحلل المائي القاعدي (NaOH) طبقاً للطريقة نفسها (AOAC, 1990) .

وقدرت جميع الأحماض الامينيه عدا التربوفان باستخدام جهاز تحليل الأحماض
الامينيه Hewlett-Packard Amino Quant Series II analyzer (Germany).
وقدر التربوفان بجهاز الطيف الضوئي طبقاً لطريقة ديفاري وآخرين (Devaries et al., 1980).

In vitro Protein Digestibility تقدیر قابلیة هضم البروتین خارج الجسم

استخدمت طريقة الجمعية الرسمية لکیمیائی التحلیل (AOAC, 1990) لتقدير قابلية هضم البروتین خارج الجسم . اضيف ١٠ مل من الماء المقطر الى مسحوق العينة (تركیز البروتین في العینه ٦٢٥ ملجم/مل) وضبط اسها الهیدروجینی على ٨ (pH 8) ثم اضيف ١ مل من خلیط انزیم الترپسین والکیمودترپسین والبیتیدیز الى المحلول السابق وحضرت العینه على درجة ٣٧°C في حمام مائي لمدة ١٠ دقائق ثم اضيف ١ مل من انزیم البروتین الى العینه التي حضرت في حمام مائي آخر على ٥٥°C لمدة ١٠ دقائق أخرى وقياس الاس الهیدروجینی قبل الهضم وبعد الهضم (٢٠ دقيقة) باستخدام جهاز قیاس الاس الهیدروجینی (Orion Research Digital Ionalyzer/501) .

قدرت نسبة الهضم للبروتین خارج الجسم من المعادلة التالية :
٪ قابلية الهضم = $2256 - 2348 \times (S)$

حيث تمثل (S) الاس الهیدروجینی للمحلول بعد ٢٠ دقيقة من الهضم باستخدام الانزیمات الأربعه وهي trypsin type IX من بنكرياس الخنزير و chymotrypsin type II من بنكرياس الأبقار و peptidase type III من امعاء الخنزير و protease type IV من Streptomyces griseus ولقد تم شراء هذه الانزیمات من شركة Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.)

نسبة فعالية البروتین المحسوبة (C-PER) Calculated Protein Efficiency Ratio (C-PER)

حسبت نسبة فعالية البروتین C-PER باستخدام النتائج المتحصل عليها من النسبة الهضمیه للبروتین خارج الجسم ومن محتوى دقيق بذرة البان منزوع الدهن من الأحماض الامینیه الاساسیه وذلك طبقاً لطريقة الجمعية الرسمیه لکیمیائی التحلیل (AOAC, 1990) ، واستخدم کازیون بجلیس ابحاث تغذیة الحیوان

مثبطات الانزيمات المخللة للبروتين (Casein) ANRC (Animal Nutrition Research Council) للمقارنة . ويوضح جدول رقم (١) و (٢) في الملحق الخطوات الحسائية لتقدير نسبة فعالية البروتين الحسائي .

مثبطات الانزيمات المخللة للبروتين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن

تقدير نشاط مثبط انزيم التربسين Trypsin Inhibitor Activity Assay

قدر نشاط مثبط انزيم التربسين طبقاً لطريقة كاكدي وأخرون (Kakade et al., 1969, 1970) واستخلصت ٥٠ جم من عينة بذرة البان منزوع الدهن باستخدام ٤٠ مل من محلول السكريت المنظم (M = 0.05, pH = 4.6) وحركت العينة لمدة ٣٠ دقيقة على درجة حرارة الغرفة ثم اجري لها طرد مركري (٤٥٠٠ لفه/دقيقة) لمدة ٢٠ دقيقة ورشح المحلول الرائق باستخدام ورق ترشيح (وامان رقم ٢) .

استخدم انزيم التربسين النوعية الثالثة المتحصل عليه من بنكرياس الأبقار (Trypsin type III from bovine pancreas) ومادة التفاعل N-benzoyl-DL-arginine-p-nitronilide hydrochloride (BAPA) عليهما من شركة سيجما (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) لتقدير نشاط انزيم التربسين . عرفت وحدة نشاط انزيم التربسين بأنها زيادة وحدة الامتصاصية بمقدار ١٠٠ عند ٤١٠ نانوميتر لمدة ١٠ دقائق باستخدام ١٠ مل من مخلوط التفاعل تحت الظروف التي اجريت فيها هذه التجربة . واستخدم الانزيم بالإضافة لعينة البان منزوع الدهن لتقدير نشاط مثبط انزيم التربسين والذي عرف بأنه عدد وحدات التربسين المثبطة .

تقدير نشاط مثبط انزيم الكيموتربسين α - Chymotrypsin Inhibitor Activity Assay

استخدم انزيم الكيموتربسين النوعية الثانية المتحصل عليه من بنكرياس الأبقار (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) Type II chymotrypsin٪ (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) كمادة للتفاعل Substrate لتقدير نشاط انزيم الكيموتربسين طبقاً لطريقة كاكدي وأخرون (Kakade et al., 1970) . ولتقدير نشاط مثبط الانزيم استخدمت نفس الطريقة واستخلصت ٥٠ جم من العينة منزوعة الدهن باستخدام ٤٠ مل من محلول السكريت المنظم (M = 0.05, pH = 4.6) وحركت العينة لمدة ٣٠ دقيقة وحصل على محلول رائق باستخدام الطرد المركري .

٤٥٠٠ لفه/دقيقه) لمدة ٢٠ دقيقة وتم ترشيح المخلول الرائق باستخدام ورق ترشيح (واتمان رقم ٢). عرفت وحدة نشاط انزيم الكيموتربسين بأنها الزياده في وحدة الامتصاصيه بمقدار ١٠٠٪ عند ٢٧٥ نانوميتر لمدة ١٠ دقائق باستخدام ١٠ مل من مخلوط التفاعل تحت الضروف التي اجريت فيها هذه التجربه ، اضييف الانزيم لعينة دقيق بذرة البان متزوع الدهن لتقدير نشاط مثبط انزيم الكيموتربسين والذي عرف بأنه عدد وحدات الكيموتربسين المشطه .

العنـهـ مـسـخـلـصـ فـيـ وـتـنـ الـهـ تـقـدـيرـ

قدر البروتين في العينات المستخلصه بمحلول الستيريت المنظم باستخدام طريقة لاوري وآخرون (Lowry et al., 1951) واستخدم البيرومين السيريم (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) bovin serum albumin لعمل المنهجى القياسي .

الثبات الحراري لشبطي انزيمي التربسين والكيموترسبين في دقيق بذرة الباذنجان منزوع الدهن

Thermal Stability of Trypsin and Chymotrypsin Inhibitor Activities

استخلصت العينة الممزوجة الدهن لبذور البان باستخدام محلول السكريت الم Neutralized (pH = 4.6, 0.05 M) وسخن المستخلص حتى درجة الغليان لمدة ١٠ و ٢٠ و ٣٠ و ٤٠ دقيقة وذلك لتقدير الثبات الحراري لمثبت انزيم التربسين . اما لتقدير الثبات الحراري لمثبت انزيم الكيموتربسين فقد استخدمت نفس درجة الحرارة ولمدة ١٠ و ٢٠ دقيقة .

واستخدمت الطرق المشار إليها لتقدير نشاط مثبط انزيم التربسين طبقاً لطريقة (Kakade et al., 1969) ونشاط مثبط انزيم الكيموتربسين طبقاً لطريقة (Kakade et al., 1970)

التحليل الإحصائي

تم اجراء التحليل الإحصائي لثلاث مكررات من النتائج المتحصلة بحساب المتوسط الحسابي والخطأ المعياري بنظام ساس (SAS, 1984). بينما حددت الفروق المعنوية بين المتوازنات باستخدام اختبار دنكن (Steel and Torrie, 1980).

الباب الرابع

النتائج والمناقشة

التركيب الكيميائي للبان (اليسر)

بذرة البان

يوضح جدول رقم ٢ التركيب الكيميائي لبذرة البان (اليسر) والتي امتازت باحتوائها على نسبة مرتفعة من البروتين والزيت حيث بلغت نسبة هذين المكونين ٢٨٪ و ٥٪ على التوالي . وقد احتوت بذرة البان على نسبة من البروتين تفوق ما هو موجود في البذور الزيتية الأخرى مثل بذرة دوار الشمس والسمسم والفول السوداني (Ruth and leuis, 1992) والبامي (Bryant et al., 1988) . ويوضح جدول رقم ٢ نسب البروتين في البذور المشار إليها أعلاه . إلا أن نسبة البروتين كانت أعلى من النسبة التي تحصل عليها كلاً من القحطان ي وابوعرب (Somali et al., 1984) والصومالي (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) حيث بلغت نسبة البروتين بهما ١٨٪ و ١٨٪ على التوالي ، وقد يرجع ذلك إلى الاختلافات في الظروف البيئية مثل ظروف الرى او التخزين او لنوعية سلالة النبات المستخدمة . الا ان نسبة البروتين في بذور البان (اليسر) كانت مقاربة لحد ما هو موجود في فول الصويا والتي بلغت نسبة البروتين به ٣٤٪ (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) لذا تعد بذرة البان (اليسر) مصدراً لابأس به للبروتين . بلغت نسبة الزيت في بذرة البان (اليسر) ٥٪ و هي نسبة مقاربة لحد ما لنسب الزيت في البذور الزيتية الأخرى (جدول رقم ٢) مثل بذور دوار الشمس والسمسم والفول السوداني (Ruth and Leuis, 1992) . وكانت نسبة الزيت في هذه الدراسة أقل من النتائج المتحصل عليها من دراسة القحطان ي وابوعرب (Somali et al., 1984) والصومالي (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) المحرأ على بذرة البان (جدول رقم ٢) حيث بلغت نسبة الزيت بهما ٥٪ و ٤٪ على التوالي . وفاقت نسبة الزيت في بذور البان ما هو موجود في فول الصويا وبذرة البامي حيث بلغت نسبة الزيت في بذرة البان (اليسر) ضعفي النسبة الموجودة في فول الصويا (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) وثلاث أضعاف النسبة الموجودة في بذور البامي (Bryant et al., 1988) .

جدول رقم (٢) : التركيب الكيميائي في بذرة ودقيق البان (البُرْس) * وفي بعض البذور الزيتية والبنائية الكاملة والمتزوعة الدهون .

* على أساس الوزن الربط ($n = 3$)

Bryant et al., 1988 (4)
Betschart et al., 1975 (9)
Oke et al., 1975 (1)

Ruth and Lewis, 1992 (1)
Somali et al., 1984 (1)
Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993 (1)

بلغت نسبة الكربوهيدرات في بذور البان (اليسر) ٨٩٪ و تعد هذه النسبة منخفضة مقارنة بفول الصويا حيث بلغت نسبتها أكثر من ربع النسبة الموجودة في فول الصويا (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) وأقل من نصف الكميه الموجوده في بذور البايميه (Bryant et al., 1988) ولكنها كانت اعلى من نسبة الكربوهيدرات في البذور الزيتية الأخرى (جدول رقم ٢) مثل بذور دوار الشمس والسمسم والفول السوداني (Ruth and Lewis, 1992).

دقيق بذرة البان منزوع الدهن

يتضح من جدول رقم ٢ ان عملية استخلاص الزيت من بذور البان (اليسر) أدت الى ارتفاع نسبة البروتين من ٣٧٪ ر ٢٩٪ الى ٥٣٪ ر ٢٨٪ وانخفاض نسبة الزيت من ٨٩٪ ر ٢١٪ الى ٣٠٪ ر ٢٣٪ وارتفاع نسبة الكربوهيدرات من ١٠٪ ر ٨٩٪ الى ١٠٪ ر ٤٥٪.

وكانت نسبة البروتين في هذه الدراسة مطابقة لحد ما لنسب البروتين في كلاً من دقيق بذرة البان (اليسر) وفول الصويا منزوع الدهن (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) وبذور البايميه (Bryant et al., 1988) ، ولكنها كانت اعلى من نسب البروتين في البذور الزيتية الأخرى منزوعة الدهن مثل بذور دوار الشمس وبذور القطن (Betschart et al., 1975) وفي بذور الفول السوداني (Oke et al., 1975) : ويوضح جدول رقم ٢ نسب البروتين في البذور المشار اليها اعلاه.

وبلغت نسبة الزيت في دقيق بذرة البان منزوع الدهن ٣٠٪ ر ٢٣٪ وهي مقاربه لحد ما الى متصل اليه القحطاني وابو عرب في دراستهما الجراه على بذور البان منزوعة الدهن ، ولكن فاقت نسبة الزيت في دقيق بذرة البان منزوع الدهن ما هو موجود في دقيق فول الصويا منزوع الدهن (جدول رقم ٢) بثلاث اضعاف النسبة (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) ، كذلك كانت نسبة الزيت في دقيق بذرة البان منزوعة الدهن مقاربه للنسب الموجودة في البذور الزيتية الأخرى (جدول رقم ٢) مثل بذور دوار الشمس وبذور القطن (Betschart et al., 1975) وبذور

البامي (Bryant et al., 1988) ولكنها كانت أعلى بثلاث اضعاف عن الفول السوداني (Oke et al., 1975) .

بلغت نسبة الكربوهيدرات في دقيق بذرة البان (اليسر) منزوع الدهن ٣٠٪٢١ وهي نسبة منخفضة (جدول رقم ٢) عما وجده القحطاني وابوعرب في بذور البان منزوعة الدهن وبذور فول الصويا منزوعة الدهن (Al-Kahtani and Abou-Arab, 1993) ولكنها قريباً لحد ما من نسبة الكربوهيدرات (جدول رقم ٢) في بذور البامي منزوعة الدهن (Bryant et al., 1988) .

القيمة الغذائية لدقيق بذرة البان منزوع الدهن الأحماض الأمينية

تعد هذه الدراسة أول دراسة تم اجراءها على بذور البان (اليسر) لمعرفة محتواها من الأحماض الأمينية ويوضح جدول رقم (٣) و (٤) كمية الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية في دقيق بذرة البان منزوعة الدهن والتي امتازت باحتوائها على كافة الأحماض الأساسية وبكميات متفاوتة .

يعد دقيق بذرة البان منزوع الدهن غنياً بالحمض الأميني الأساسي هستدين Histidine والذي يعد من الأحماض الأمينية الأساسية التي يحتاجها الأطفال وقد بلغت كمية هذا الحمض في دقيق بذرة البان منزوع الدهن ٣٠٪٢ جرام / ١٠٠ جرام بروتين وهي كمية تفوق كمية هذا الحمض في كل من بذور البامي (Bryant et al., 1988) وحمص (Paredes-Lopez et al., 1991) ، كما فاقت كمية الهستدين في بذور البان كميته أيضاً في البروتينات الحيوانية مثل بروتين الحليب وبروتين البيض (FAO/WHO/UNU, 1985) . ويوضح جدول رقم (٤) كمية الهستدين في البروتينات المشار إليها أعلاه . وتفى كمية الهستدين في دقيق بذرة البان (اليسر) منزوع الدهن باحتياجات الرضع وذلك طبقاً للإحتياجات التي قدرتها منظمة الزراعة والأغذية ومنظمة الصحة العالمية والتي يوضحها جدول رقم ٤ (FAO/WHO/UNU, 1985) . احتوت بذرة البان أيضاً على كميات جيدة من الأحماض الأمينية فالين Valine وميثيونين + سيستين Methionine + Cystine وايزوليوسين Isoleucine وليوسين Leucine . فلقد فاقت كمية

جدول رقم (٣) : الأحماض الأمينية غير الأساسية في دقيق بذور البان (اليسمر)
منزوع الدهن .

الأسماء الأحماض الأمينية غير الأساسية	حرام حمض اميني / ١٠٠ جرام بروتين المتوسط ± الخطأ المعياري (n=3)
آرجينين Arginine	٥٧٧٤ ± ١٢٧٠ ر.م
حمض الأسبارتوك Aspartic Acid	١١٥٥ ± ٥٥ ر.م
سيرين Serine	٢٦٠ ± ٠٠٧٦ ر.م
حمض الجلوتاميك Glutamic Acid	١٣١٠ ± ٠٠٠٠٠ ر.م
برولين Proline	٢٣٠٩ ± ٥٥ ر.م
جلايسين Glycine	١١٥٥ ± ٦٢ ر.م
آلانين Alanine	١٧٣٢ ± ٣٥ ر.م

جدول رقم (٤) الأماكن الإسبانية في بلدان اليان (البس) وفي بعض الدول الواقعة والمدن التي ينبع منها

الدراسة المعملية

Bet Schart et al., 1975 (1)

Wanylewski et al.

Bryant et al., 1988 (4)
 Paredes-Lopez et al., 1991 (2)
 FAO/IHWO/UNU 1985 (5)

الفالين في دقيق بذرة البان متزوع الدهن كميته الموجردة في بعض البذور والتي يوضحها جدول رقم ٤ مثل الفول السوداني (Oke et al., 1975) والسمسم والقطن ودوار الشمس (Betschart et al., 1975) • والباميه (Bryant et al., 1988) وفول الصويا (Waggle and Kolar, 1979) • (Paredes-Lopez et al., 1991) والحمص (FAO/WHO/UNU, 1985) . إلا أن كمية الفالين في بذور البان كانت أقل مقارنة ببروتين الحليب والبيض كما يتضح من جدول رقم ٤ (FAO/WHO/UNU, 1985) وتفي كمية الفالين في بذور البان باحتياجات كافة الفئات العمرية طبقاً للإحتياجات التي قدرتها منظمة الزراعة والأغذية ومنظمة الصحة العالمية الموضحة في جدول رقم ٤ (FAO/WHO/UNU, 1985) . كما كانت كمية الميثونين والسيستين Methionine + Cystine في بذور البان أكثر مقارنة بكميته في بعض البذور التي يوضحها جدول رقم ٤ مثل الفول السوداني (Oke et al., 1975) والقطن ودوار الشمس (Betschart et al., 1975) وفول الصويا (Waggle and Kolar, 1979) • (Paredes-Lopez et al., 1991) الا ان كميته كانت أقل مقارنة ببذرة السمسم (Betschart et al., 1975) وبروتين البيض والحليب (FAO/WHO/UNU, 1985) . وتفي كمية الميثونين والسيستين في بذور البان باحتياجات البالغين طبقاً للإحتياجات التي قدرتها منظمة الزراعة والأغذية ومنظمة الصحة العالمية كما هو موضح في جدول رقم ٤ (FAO/WHO/UNU, 1985) .

أما كمية الأيزوليوسين Isoleucine والليوسين Leucine في بذور البان فقد فاقت ما هو موجود في الفول السوداني (Oke et al., 1975) وبذور القطن ودوار الشمس والسمسم (Betschart et al., 1975) والباميه (Bryant et al., 1988) الا أن كميتهما في بذور البان كانت أقل مقارنة لما هو موجود في فول الصويا (Waggle and Kolar, 1979) • (FAO/WHO/UNU, 1985) وبروتين الحليب والبيض كما هو موضح في جدول رقم ٤ (FAO/WHO/UNU, 1985) . وتفي كمية الأيزوليوسين Isoleucine في بذور البان باحتياجات كافة الفئات العمرية التي يوضحها جدول رقم ٤ والتي وضعتها منظمة الزراعة والأغذية ومنظمة الصحة العالمية ، في حين أن كمية الليوسين Leucine في بذور البان تفي فقط باحتياجات اطفال قبل سن المدرسة والبالغين (FAO/HWO/UNU, 1985) .

كانت كمية الفينيل الانين والتايروسين Phenylalanine + Tyrosine في بذور البان منخفضة مقارنة بكميته في البروتينات الموضحة في جدول رقم ٤ عدا بروتينات بذور السمسم والقطن ودوار الشمس (Betschart et al., 1975) وبالرغم من انخفاض كمية هذان الحمضان في بذور البان إلا أن هذه الكمية تعد كافية لاحتياجات اطفال قبل سن المدرسة والبالغين والموضحة في جدول رقم ٤ (FAO/WHO/UNU, 1985).

تعد بذرة البان محدودة في محتواها من الأحماض الامينية الاساسية الالايسين Lysine وثريونين Threonine وتربيوفان Tryptophan حيث كانت كمية هذه الأحماض الامينية الأساسية منخفضة في بذور البان مقارنة بكمية هذه الأحماض في كافة البروتينات الموضحة في جدول رقم ٤ . وتعد هذه الأحماض الامينية اكثراً الأحماض الامينية الأساسية محدودية في البروتينات النباتية limiting amino acids (Kakade, 1974) . وبالرغم من انخفاض الواضح في كمية هذه الأحماض في بذور البان الا ان محتوى بذرة البان منها يفي باحتياجات البالغين طبقاً لنموذج منظمة الزراعة والاغذية ومنظمة الصحة العالمية الموضح في جدول رقم ٤ (FAO/WHO/UNU, 1985) .

قابلية الهضم خارج الجسم ونسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER

تعد طريقة قابلية الهضم خارج الجسم *In vitro* بواسطة الانزيمات الاضامنة للبروتينات مع حساب فعالية البروتين المحسوبة C-PER من الطرق السريعه لتقييم القيمة الغذائية للبروتينات ، كما ثبتت هذه الطريقة جودتها ودققتها عن طريق معامل الارتباط الجيد بينها وبين الطرق الحيوية المستخدمه لتقييم البروتين (Satterlee et al., 1977) .

بلغت نسبة قابلية الهضم خارج الجسم *in vitro* لدقائق بذرة البان منزوع الدهن ٦٠٪ (جدول رقم ٥) وهي نسبة منخفضه مقارنة بالكافيين والمصادر الغذائيه الحيوانيه كاللحوم (Satterlee et al., 1977) وحليب الابل الذي بلغت قابلية الهضم خارج الجسم فيه ٤٨٪ (Sawaya et al., 1984) ، وكذلك انخفاضه مقابل المصادر النباتيه المختلفه مثل الذره الشاميه والذره الرفيعه والارز والقمح واللوبيا ودقائق فول الصويا ودقائق بذرة القطن ودقائق السمسم حيث بلغت نسبة قابلية الهضم في هذه المصادر ٨٢٪ و

٥٪٧٩ و ٨٪٨٤ و ٪٣٨ و ٪٥٨ و ٪٧٦ و ٪٨٥ و ٪٨٠٪٥ على التوالي (Wolzak et al., 1981) كذلك انخفاض قابلية الهضم خارج الجسم *in vitro* للبان (اليسر) مقارنة بزبدة السمسم Sesame Butter والتي بلغت ٪٣٨٪٣ (Sawaya et al., 1985) وكذلك انخفاضه مقابل معزول البروتين الشبكي Chick pea protein isolate Micelle (١٪٩٤) (Paredes-Lopez et al., 1991).

جدول رقم(٥) : قابلية الهضم خارج الجسم ونسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER) لدقيق بذرة البان (اليسر) منزوع الدهن

قابلية الهضم خارج الجسم	نسبة فعالية البروتين المحسوبة (C-PER)
٤٣٦٪٧٤ ± ٠٠٤	١٠٠

* المتوسط ± الخطأ المعياري

إلا أن قيمة نسبة قابلية الهضم خارج الجسم *in vitro* لدقيق البان منزوعة الدهن كانت مقاربة لكلاً من البسله والفاوصوليا البيضاء [٪٧٣ و ٪٧٣٪٧ على التوالي] (Wolzak et al., 1981) ، بينما كانت نسبة قابلية الهضم خارج الجسم *in vitro* لدقيق البان منزوعة الدهن أعلى من نسبة قابلية الهضم خارج الجسم *in vitro* لحبوب الفاوصوليا البلديه الخام [Phaseolus vulgaris L.] Red Kidney Bean (١٨٪٤٣) (Williams et al., 1994) . وقد يرجع انخفاض نسبة قابلية الهضم خارج الجسم *in vitro* لدقيق بذرة البان (اليسر) منزوع الدهن الى وجود مثبطات تغذويه خاصة تلك المثبطه للإنزيمات الهاضمه للبروتين مثل مثبط إنزيم التربسين Trypsin وترجح عدة طرق لزيادة نسبة قابلية الهضم خارج الجسم في البقوليات من اهمها استخدام المعامله الحرارية لتخفيض او القضاء على مضادات التغذيه (Laurena et al., 1991) .

بلغت نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لدقيق بذرة البان منزوع الدهن ٠٪١٠ (جدول رقم ٥) وهي قيمة منخفضة مقارنة بالكازين (٪٥٢) والمصادر النباتيه الأخرى

مثل الذرة الشامية والارز والقمح واللوبيا والفاصوليا البيضاء ودقيق فول الصويا حيث بلغت نسبة فعالية البروتين المحسوبة في هذه المصادر ٢٣٪ و ٩٨٪ و ٥٩٪ و ٦٧٪ و ٣٣٪ و ٥٧٪ على التوالي (Wolzak et al., 1981)، كذلك كانت نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لدقيق بذرة البان متزوع الدهن منخفضة مقارنة بزبدة السمسم [١٤] Sesame butter (Sawaya et al., 1985) وبـ زور Micelle protein isolate (Satterlee et al., 1977) في دقيق الحمّص Chick pea [٢٦] (Paredes-Lopez et al., 1991) الا أن نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لبذرة البان كانت أعلى مقارنة بكلّاً من الذرة الرفيعة والبسلة التي بلغت نسبتها ٦٦٪ و ٧٢٪ على التوالي (Wolzak et al., 1981) وحبوب الفاصوليا البلديه الخام *Phaseolus vulgaris* L. Red Kidney Bean [٥٢] (Williams et al., 1994) بينما قاربت قيمة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER لدقيق بذرة البان المتزوع الدهن قيم كلّاً من دقيق بذرة القطن (١٠٪) ودقيق بذرة السمسم المتزوعة الدهن [٩٣] (Wolzak et al., 1981) وكذلك دقيق الذرة والتي بلغت نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER بها ١٪ (Satterlee et al., 1977). وعند مقارنة نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER للبان (اليسر) بالمصادر الحيوانية اتضحت انخفاضها وذلك مقارنة بحليب الابل [٦٩] (Sawaya et al., 1984) ولحوم الدواجن المزالة منها العظم آلياً وهي رقاب وظهرور الدجاج الخام ولحם الدجاج المطبوخ ولحם الديك الرومي الخام حيث كانت نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PEP في هذه المنتجات ٤٤٪ و ٤٢٪ و ٢٧٪ على التوالي (Babji et al., 1980). وقد يرجع سبب الانخفاض في نسبة فعالية البروتين المحسوبة C-PER في بذور البان (اليسر) الى انخفاض كمية بعض الاحماض الامينيه الاساسيه مثل اللايسين والثريونين والتربوفان والى انخفاض قابلية الهضم خارج الجسم *in vitro*.

مثبطي انزيمي التربسين والكيموتربسين في دقيق بذرة البان متزوع الدهن
 بلغ تركيز مثبط انزيم التربسين في دقيق بذرة البان متزوع الدهن ٤٨٤ وحدة نشاط مثبط الانزيم لكل ملجم بروتين وهي قيمة مرتفعة مقارنة بالقيم التي تحصل عليها القحطاني (Al-Kahtani, 1995) في دراسته على كلّاً من دقيق بذرة البان (اليسر) متزوع

الدهن ودقيق فول الصويا منزوع الدهن والتي بلغت ١٣ و ٢٦ وحدة نشاط مثبط الانزيم لكل ملجم بروتين على التوالي ، كما تعد مرتفعة مقارنة بدقيق بذرة الكركديه منزوع الدهن التي بلغت ٤١ وحدة نشاط مثبط الانزيم لكل ملجم بروتين (Abu-Tarboush and Ahmed, 1996) .

إلا أن قيمة مثبط انزيم التربسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن تعد منخفضه مقارنة بقيمة دقيق فول الصويا منزوع الدهن ١٧٦ وحدة نشاط مثبط الانزيم لكل ملجم بروتين (Abu-Tarboush and Ahmed, 1996) ولعينات فول الصويا المختلفة والتي بلغت قيمتها ما بين ٨٠٦ إلى ١٠٧ وحدة نشاط مثبط الانزيم لكل ملجم بروتين (Kakade et al., 1969) . قد ترجع الاختلافات بين محتوى مثبط انزيم التربسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن في هذه الدراسة ودراسة القحطاني (Al-Kahtani, 1995) ودراسة كاكدي وآخرون (Kakade et al., 1969) لأسباب عديدة من ضمنها نوعية المنظم المستخدم للإستخلاص ومادة التفاعل وأصناف البذور المستخدمة للدراسة والظروف البيئيه . فقد أكيد كلًا من اكيدا وكيسانو (Ikeda and Kusano, 1978) على أن استخلاص مثبط الأنزيم محلول منظم الستيريت Citrate buffers يعطي نتائج (قيم) أكبر لنشاط مثبط الانزيم . استخدم القحطاني (Al-Kahtani, 1995) في دراسته مادة تفاعل Substrate تختلف عن مادة التفاعل المستخدمة في الدراسة الحالية ، فلقد استخدم القحطاني (Al-Kahtani, 1995) الكازين كمادة لتفاعل في حين استخدمت مادة N-benzoyl-DL-arginine-P-nitronilide hydrochloride (BAPA) هذه الدراسة . وقد أكيد كاكيد وآخرون (Kakade et al., 1969) ان قيم مثبط انزيم التربسين ترتفع (ترزيد) عند استخدام BAPA كمادة تفاعل بنحو ٢٥-٣٠٪ عن القيم عند استخدام الكازين كمادة لتفاعل . كما ذكر القحطاني (Al-Kahtani, 1995) ان لأصناف البذور والظروف البيئيه تأثير على قيم نشاط مثبط الانزيم . احتوى دقيق بذرة البان منزوع الدهن أيضًا على مثبط انزيم الكيموتربسين وقد بلغ تركيزه ٥٧ ره وحدة نشاط مثبط الانزيم لكل ملجم بروتين وهي قيمة منخفضه مقارنة بدقيق بذرة الكركديه منزوع الدهن ودقيق فول الصويا منزوع الدهن والتي بلغتا ٢١٨٠ و ٥٧٢٠ وحدة نشاط مثبط الانزيم لكل ملجم بروتين على التوالي (Abu-Tarboush and Ahmed, 1996) ، بينما كانت قيمة مثبط انزيم الكيموتربسين في

فول الصويا ٧٢ وحدة مثبط الانزيم لكل/مل من مستخلص العين
· (Kakade et al., 1970)

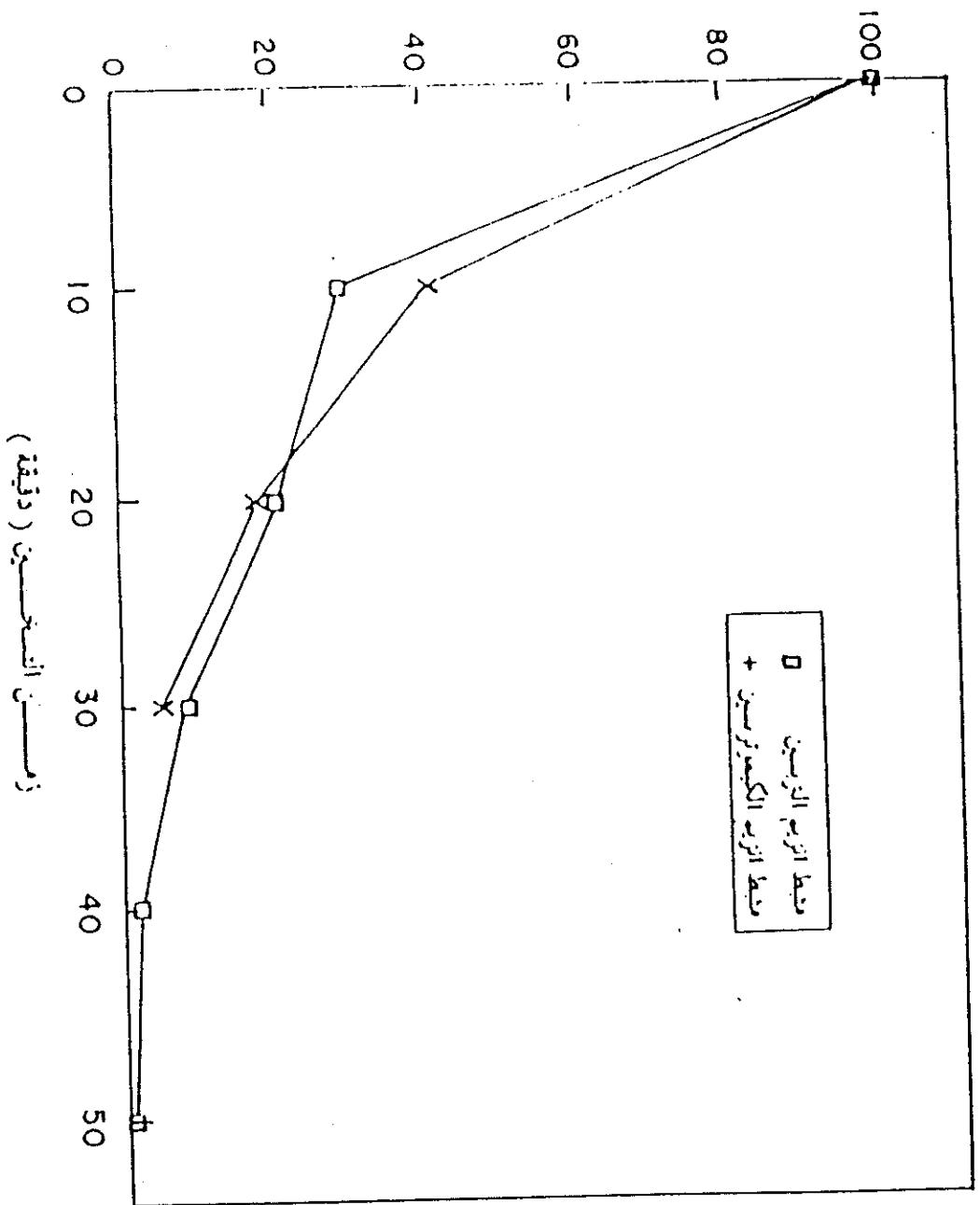
تأثير المعاملة الحرارية على مثبطي انزيمي التربسين والكيموتربسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن

يوضح شكل رقم (١) تأثير المعاملة الحرارية (معاملة الدقيق في ماء يغلي) لفترات مختلفة على نشاط مثبطي انزيمي التربسين والكيموتربسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن. ادت زيادة فترة الغليان الى زيادة تحطيم مثبط انزيم التربسين والذي فقد ٩٩٪ /٢ من نشاطه عند معاملة الدقيق حرارياً بالغليان لمدة ٥٠ دقيقة . إلا أن الفروق لم تكن معنوية ($p \leq 0.05$) بين المعاملات الحرارية عند ٤٠ و ٥٠ دقيقة (الملحق جدول رقم ٣). وينطبق نفس القول على مثبط انزيم الكيموتربسين والذي فقد ٩٤٪ /٨٠ من نشاطه عند معاملة دقيق بذرة البان منزوعة الدهن حرارياً بالغليان لمدة ٣٠ دقيقة إلا أن الفروق لم تكن معنوية ($P \leq 0.05$) بين المعاملات الحرارية عند ٢٠ و ٣٠ دقيقة لتشريع مثبط مثبط انزيم الكيموتربسين . لذا تعد معاملة الدقيق حرارياً بالغليان لمدة ٤٠ دقيقة كافية للحد من نشاط مثبطات الانزيم لذا يمكن القول ان مثبطي انزيمي التربسين والكيموتربسين في دقيق بذرة البان منزوع الدهن حساسين للمعاملة الحرارية . ويتفق ذلك مع النتائج التي توصل اليها القحطاني (Al-Kahtani, 1995) على دقيق بذور البان منزوع الدهن والتي استجابت للمعاملة الحرارية وأن كان زمن المعاملة الحرارية اطول في دراسة القحطاني (Al-Kahtani, 1995) وقد أكدت العديد من الدراسات فعالية المعاملة الحرارية للقضاء على مثبطات الانزيمات الهاضمة للبروتينات فقد أكد كلًا من كولن وباتي (Collins and Beaty, 1980) على ان نسبة فعالية البروتين PER في الفهران قد ارتفعت من ٢١٪ إلى ١٩٪ عند معاملة ثمار فول الصويا الخضراء بالحرارة لمدة ٩ دقائق وتغذية الفهران بها مقارنة بفول الصويا الغير معامل بالحرارة . واكدا لارينا وأخرين (Laurena et al., 1991) على ان قابلية الهضم خارج الجسم *in vitro* قد زادت بنسبة ٦-٨٪ في البقوليات بعد معاملتها حرارياً ، وأشار كلًا من بونفيست ووايتكر (Boonvisut and Whitaker, 1976) ان مثبط انزيم التربسين في فول الصويا امكن تحطيمه بالتسخين عند درجة حرارة ١٠٠ ° م لمدة ٣٠ دقيقة .

كذلك أثبت كلاً من جبta وواجل (Gupta and Wagle, 1980) ان التسخين بعد ٢٤ ساعة من الانبات يقلل بدرجات متفاوتة من نشاط مثبط انزيم التربسين حيث تراوحت نسبة القضاء على مثبط انزيم التربسين ما بين ١٥٪ و ٧١٪ في *Phaseolus mungoreous* عند درجة حرارة تراوحت ما بين ٥٠°C الى ٨٠°C ، بينما كان اقصى تحطيم لمثبط التربسين في *Phaseolus aureus* هو ٤٠٪ بعد ٣٦ ساعة من التسخين على درجة ٨٠°C لمدة ٤٥ دقيقة . كذلك وجد تان وونج (Tan and Wong, 1982) ان استعمال المعالجه الحراريه بالمعقم Autoclave على درجة ١٢٠°C له اثر قوي في تحطيم مثبط انزيم التربسين في الوجبات المعده من البقوليات Beans او الفول Bean . كذلك ذكر كوبى وآخرون (Koepppe et al., 1985) ان المعالجه الحراريه لبذور *Amaranthus hypochondriacus* لمدة ٧ ساعات عند درجة حرارة ١٠٠°C ابقى فقط على ٢٠٪ من نشاط مثبط انزيم التربسين . كما أثبتت دراسة ابو طربوش وأحمد (Abu-Tarboush and Ahmed, 1996) على مستخلص دقيق بذرة الكركميه منزوع الدهن احتواء هذا المستخلص على مثبط انزيم التربسين وامكن تخفيض نشاط هذا المثبط بنسبة ٦٦٪ بغليان المستخلص في الماء لمدة ١٠ دقائق .

شكل رقم (١) تأثير المعاملات الحرارية على مشطى انزيمي التربسين والكيموتربسين

نـشـاط مـدـدـة الـازـبـرـم (%)



الباب الخامس
الخلاصة والتوصيات

الخلاصة والتوصيات :

تنتمي بذور البان (اليسر) *Moringa peregrina* إلى عائلة Moringacease وتنشر في شمال وجنوب منطقة الحجاز بالمملكة العربية السعودية وهي من البذور الزيتية حيث تميزت بفنائها بكلّاً من الريت والبروتين والكربوهيدرات حيث بلغت نسب هذه المكونات ٢٨٪ و ٥٠٪ و ١٠٪ على التوالي ، كذلك تميز دقيقها المنزوع الدهن باحتوائه على كميات عالية من البروتين والكربوهيدرات حيث بلغت ٥٣٪ و ٣٠٪ على التوالي . واحتوت بذرة البان على كل الأحماض الأمينية الأساسية وبكميات كافية حيث تميزت بفنائها بالهستدين والميثيونين والفالين والأيزوليلوسين والليوسين ، وانخفاضها بكلّاً من اللايسين والتربوفان والثريونين . وبلغت نسبة كفاءة البروتين المحسوبه C-PER لبذور البان (١) وهي قيمة منخفضه ويرجع سبب ذلك الى انخفاض قابلية الهضم خارج الجسم (٦٠٪٧٤٪) ونقص بعض الأحماض الأمينية الأساسية المذكوره اعلاه . ويرجع انخفاض قابلية الهضم خارج الجسم في بذور البان (اليسر) الى احتواها على مثبط انزيم التربسين ومثبط انزيم الكيموتربسين وللذان بلغا ٤٦٪ و ٥٧٪ وحدة نشاط مثبط الانزيم لكل ملجرام بروتين على التوالي ، واظهرت الدراسة الحساسيه العاليه لهذين المثبطين ضد الحرارة ، حيث حطمت الحرارة (١٠٠ °م) بعد ٥٠ دقيقة ٩٢٪ من نشاط مثبط انزيم التربسين وبالمثل تم القضاء على ٩٤٪ من نشاط مثبط انزيم الكيموتربسين عند معاملتها بالحرارة (١٠٠ °م) ولمدة ٣٠ دقيقة . وتعد هذه الدراسة أول دراسة تم اجراؤها على هذه البذور لتقدير محتواها من الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية ، ونظرأً لاحتواء دقيق بذرة البان (اليسر) منزوع الدهن على كمية كبيرة من الحامض الأميني الهستدين الهام للأطفال فيمكن استخدام هذه البذور في عمل الألبان الخاصة بالأطفال Formula [وذلك بعد اجراء اختبارات السمية على هذه البذور] خاصة وأن كمية الهستدين في هذه البذور تفوق ما هو موجود في الحليب والبيض . كذلك يوصى بمعاملة هذا البروتين حراريأً للقضاء على مثبطات الانزيمات المخللة للبروتين وحساب نسبة فعالية البروتين بعد معاملتها حراريأً .

المراجع العربية

المراجع العربية

- ١ - جامعة الدول العربية ، المنظمة العربية للتنمية الزراعية لبرنامج الامن الغذائي العربي - دراسة معوقات انتاج محاصيل البذور الزيتية في الوطن العربي (الخرطوم - ديسمبر ١٩٩١)

المراجع الأجنبية

References

AOAC (1990). Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., U.S.A.

Abramové, E. P. and Chernikov, M. P. (1964). Amount of proteinase inhibitor in the seeds of certain legumes. Vopr. Pitaniya 23: 13. (1965).

Abu-Tarboush, H. M., Ahmed, S. B.(1996). Studies on karkade (*Hibiscus sabdarriffa*) : Protease inhibitors, phytate, *In vitro* protein digestibility and gossypol content. Food Chem. (In Press)..

Agren, G. and Lieden, S. A. (1968). Some chemical and biological properties of a protein concentrate from sunflower seeds. Acta Chemica Scandinavica, 22(6) 1981.

Agren, G. and Eklund, A. (1972). Sunflower protein concentrates. PAG Bulletin, Fall Protein Advisory Group of the United Nations. N. Y., U.S.A., p. 33.

Akeson, W. R., and Stahmann, M. A. (1964). A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. J. Nutr. 83: 257.

Al-Kahtani, H. A., and Abou-Arab, A. A. (1993). Comparison of physical, chemical, and functional properties of *Moringa peregrina* (Al-Yassar or Al-Ban) and soybean proteins. Cereal Chem. 70 (6) : 619.

Al-Kahtani, H. A. (1995). Some antinutritional factors in *Moringa peregrina* (Al-Yassar or Al-Ban) and soybean products. J. Food Sci. 60(2) : 395.

Al-Yayha, M. A., Al-Meshal, I. A., Mossa, J. S., Al-Badr, A.A. and Tariq, M. (1990). Saudi Plants. Chemical and biological approach. King Saud Univ. Press, Riyadh. p. 288.

Babji, A. S., Froning, G. W., and Satterlee, L. D. (1980). Protein nutritional quality of mechanically deboned poultry meat as predicted by the C-PER assay. J. Food Sci. 45: 441.

Barampama, Z. and Simard, R. E. (1994). Oligosaccharides, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as affected by processing. J. Food Sci. 59(4) : 833.

Barnes, R. H., Jean, E. M., Knights, M. J. and Burr, G. O. (1945). Measurement of the growth-promoting quality of dietary protein. Cereal Chem. 22:273.

Belew, M., Porath, J., and Sundberg, L. (1975). The trypsin and chymotrypsin inhibitors in chick pea (*Cicer arietinum* L.). Eur. J. Biochem. 60:247.

Bender, A. E. and Doell, B. H. (1957). Biological evaluation of proteins : a new aspect. Brit. J. Nutr. 11 : 140.

Bender, A. E. and Miller, D. S. (1953). A new brief method of estimating net protein value. Biochem. J. 53 : 7.

Betschart, A. A., Lyon, C. K. and Kohler, G. O. (1975). Sunflower, safflower, sesame and castor protein. In "Food protein sources" N. W. Pirie, (Ed.), pp. 79-104. Cambridge University Press, London and New York.

Birk, Y. (1961). Purification and some properties of a highly active inhibitor of trypsin and α -chymotrypsin from Soybeans, Biochim. Biophys. Acta 54: 378.

Block, R. J. and Mitchell, H. H. (1946). Some relationships between the amino acid contents of proteins and their nutritive value for the rat. J. Biol. Chem. 163:599.

Bodwell, C. E. (1977). Problems with the development and application of rapid methods of assessing protein quality Nutr. Rep. Int. 16(2) : 163 .

Boonvisut, S. and Whitaker, J. R. (1976). Effect of heat, amylase, and disulfide bond cleavage on the *in vitro* digestibility of soybean proteins. J. Agric. Food Chem., 24(6) : 1130.

Bowman, D. E. (1944). Fractions derived from soybeans and navy beans which retard the tryptic digestion of casein. Soc. Expt. Biol. Med. 57: 139.

Bowman, D. E. (1946). Differentiation of soybean antitryptic factors. Proc. Soc. Expt. Biol. Med. 63: 547.

Bowman, D. E. (1948). Further differentiation of bean trypsin inhibiting factors. Arch. Biochem. Biophys. 16: 109.

Borchers, R. and Ackerson C. W. (1947). Trypsin inhibitor. 4. Occurrence in seeds of leguminosae and other seeds. Arch. Biochem. 13: (2): 291.

Bryant, H. J, Montecalvo, J, Morey, K.S. and Loy, B. (1988). Processing, functional and nutritional properties of okra seed products. J. Food Sci. 53(3): 810.

Buchanan, R. A. and Byers, M. (1969). Interference by cyanide with the measurement of papain hydrolysis. J. Sci. Food Agric. 20 : 364.

Buchanan, R. A. (1969). *In vivo* and *in vitro* methods of measuring nutritive value of leaf protein concentrates, Brit. J. Nutr. 23 : 53 .

Champan, D. G. Castello, R. and Campbell, J. A. (1959). Evaluation of protein in foods. 1. A method for determination of protein efficiency ratio. Can. J. Biol. Chem. Phys. 37:679.

Chauhan, G. S., Eskin, N. A. M., and Tkachuk, R. (1992). Nutrients and antinutrients in Quinoa seed. Cereal Chem. 69(1) : 85.

Chavan, J. K. and Hejgaard, J. (1981). Detection and partial characterisation of subtilisin inhibitors in legume seeds by isoelectric focusing. J. Sci. Food Agric. 32: 857.

Chu, H. M., and Chi, C. W., (1963). The isolation and crystallization of two trypsin inhibitors of low molecular weight from mung bean *phaseolus aureus*. Chem. Abstr. 59 : 10405.

Collins, J. L., and Beaty, B. F. (1980). Heat inactivation of trypsin inhibitor in fresh green soybeans and physiological responses of rats fed the beans. *J. Food Sci.* 45 : 542.

Devaries, J. W., Koski, C. M., Egberg, D. C., and Larson, P. A. (1980). Comparison between a spectrophotometric and a high-pressure liquid chromatography method for determining tryptophan in food products. *J. Agric. Food Chem.* 28 : 896.

Dhurandhar, N. V., and Chang, K. C. (1990). Effect of cooking on firmness, trypsin inhibitors, lectins and cystine/cysteine content of navy and red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Food Sci.* 55(2) : 471.

Dimler, R. J. (1971). Production and use of oilseed proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 48 : 400.

Dipietro, C. M., and Liener, I. E. (1989). Soybean protease inhibitors in foods. *J. Food Sci.* 54(3) : 606.

El- Tinay, A. H., Nour, A. H., Abdel-Karim, S. H., and Mahgoub, S. O. (1988). Aqueous protein and gossypol extraction from ginned cottonseed flour : factors affecting protein extraction. *Food Chem.* 29 : 27.

FAO (1970). Amino acid content of food and biological data on proteins. FAO. Food and Nutrition Series, No. 21. FAO. Nutritional Studies, No. 24. Rome, Italy, 144.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). (1973). Energy and protein requirements. WHO Technical report series No. 522, FAO Nutrition Meetings Report , series No. 52. FAO/WHO, Geneva.

FAO/WHO/UNU. (1985). Energy and protein requirements. Report of joint meeting. WHO, Geneva, Technical Report Series No. 724.

Fernandez, M. L. and Berry, J. W. (1988). Nutritional evaluation of chickpea and germinated chickpea flours. Plant Foods Hum. Nutr. 38: 127.

Gauthier, S. F., Vachon, C., Jones, J. D., and Savoie, L. (1982). Assessment of protein digestibility by *in vitro* enzymatic hydrolysis with simultaneous dialysis. J. Nutr. 112 : 1718.

Griffiths, D. W. (1984). The trypsin and chymotrypsin inhibitor activities of various pea (*Pisum spp.*) and field bean (*Vicia faba*) cultivars. J. Sci. Food . Agric. 35 : 481.

Gupta, K. and Wagle, D. S. (1978). Antinutritional factors of *Phaseolus mungoreous* (*Phaseolus mungo* var. M₁₋₁ x *Phaseolus aureus* var. T₁) J. Food Sci. Technol. 15(4) : 133.

Gupta, K. and Wagle, D. S. (1980). Changes in antinutritional factors during germination in *Phaseolus mungoreous*, a cross between *Phaseolus mungo* (M₁₋₁) and *Phaseolus aureus* (T₁). J. Food Sci. 45:394.

Hafez, Y.S., and Mohamed, A. (1983). Presence of nonprotein trypsin inhibitor in soy and winged beans . J. Food. Sci. 48 : 75.

Ham, W. E. and Sandstedt, R. M. (1944). A Proteolytic inhibitory substance in the extract from unheated soybean meal. *J. Biol. Chem.* 154: 505.

Han, Y., and Persons, C. M. (1991). Nutritional evaluation of soybeans varying in trypsin inhibitor content . *Poultry Sci.* 70 : 896.

Hill, R. L. and Schmidt, W. R. (1962). The complete enzymic hydrolysis of proteins. *J. Biol. Chem.* 237(2) : 389.

Hove, E. I. and King, S. (1979). Trypsin inhibitor contents of lupin seeds and other grain legumes. *N. Z. J. Agric. Res.*, 22:41.

Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L. D. and Miller, G. A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.* 42: 1269.

Huang, D. Y., Swanson, B. G. and Ryan, C. A. (1981). Stability of proteinase inhibitors in potato tubers during cooking. *J. Food Sci.* 46 : 287.

Ikeda, K. and Kusano, T. (1978). Isolation and some properties of a trypsin inhibitor from Buck wheat grain. *Agric. Biol. Chem.* 42(2) : 309.

Ikena, T. and Norioko, S. (1986). Bowman-Birk family serine proteinase inhibitors. In proteinase inhibitors, p. 361-374. Elsevier Science Publishers .

Jaffe, W. G. (1950). Protein digestibility and trypsin inhibitor activity of legume seeds. *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.* 75: 219.

Johnson, L. A., Hoover, W. J., Deyoe, C. W., Erickson, L. E., Johnson, W. H., and Schwenke, J. R. (1980b). Modeling the kinetics of heat inactivation of trypsin inhibitors during steam-infusion cooking of soymilk. *Trans. Amer. Soc. Agric. Eng.* 23: 1326.

Johnson, L. A., Deyoe, C. W., Hoover, W. J., and Schwenke, J. R. (1980a). Inactivation of trypsin inhibitors in aqueous soybean extracts by direct steam infusion. *Cereal. Chem.* 57 : 376 .

Kakade, M. L., Simons, N. R., and Liener, I. E. (1969). An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chem.* 49 : 518 .

Kakade, M. L., Swenson, D. H., and Liener, I. E. (1970). Note on the determination of chymotrypsin and chymotrypsin inhibitor activity using casein. *Anal. Biochem.* 33: 255 .

Kakade, M. L., Simons, N. R., Liener, I. E., and Lambert, J. W. (1972). Biochemical and nutritional assessment of different varieties of soybeans. *J. Agric. Food Chem.* 20 : 87.

Kakade, M. L. (1974). Biochemical basis for the differences in plant protein utilization. *J. Agric. Food Chem.* 22(4): 550.

Karakoltsidis, P. A., and Constantinides, S. M. (1975). Orka seeds : A new protein source. *J. Agric. Food Chem.*, 23 (6) : 1204.

Khan, M. A. and Ghafoor, A. (1978). The effect of soaking, germination and cooking on the protein quality of mash beans (*Phaseolus mungo*). J. Sci. Food Agric. 29 : 461.

Koeppe, S., Rupnow, J. H, Walker, C. E., and Davis, A. (1985). Isolation and heat stability of trypsin inhibitors in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*). J. Food Sci. 50 : 1519.

Korgdahl, A. and Holm, H. (1979). Inhibition of human and rat pancreatic proteinases by acid and purified soybean proteinase inhibitors. J. Nutr. 109: 551.

Kunitz, M. (1945). Crystallization of a trypsin inhibitor from soybeans. Science 101: 668.

Kunitz, M. (1946). Crystalline soybean trypsin inhibitor. J. Gen. Physiol. 29: 149.

Kunitz, M. (1947a). Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. J. Gen. Physiol. 30, 291.

Laurena, A. C., Rodriguez, F. M., Sabino, N. G., Zamora, A. F. and Mendoza, E. M. T. (1991). Amino acid composition, relative nutritive value and *in vitro* protein digestibility of several philippine indigenous legumes. Plant Food for Humans Nutrition, 41 : 59.

Liener, I. E. and Kakade, M. L. (1969). Protease inhibitors. In "Toxic Constituents of Plant Foodstuffs", (Ed.) Liener, I. E., P. 500. Academic Press, New York.

Liener, I. E. (1981). The nutritional significance of the plant lectins. In "Antinutrients and Natural Toxicants in Foods," R. L. Ory. (Ed.). Food and Nutrition Press, Wesport, CT.

Liener, I. E. and Tomlinson, S. (1981). Heat inactivation of protease inhibitors in a soybean line lacking the kunitz trypsin inhibitor . J. Food Sci. 46 : 1354.

Liener, I. E. (1986). Trypsin inhibitors : Concern for human nutrition or not ?. J. Nutr. 116:920.

Liener, I. E. (1969). "Toxic constituents of plant food stuffs." Academic Press, New York.

Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, N. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 256.

Maga, J. A., Lorenz, K. and Onayemi, O. (1973). Digestive acceptability of proteins as measured by the initial rate of *in vitro* proteolysis. J. Food Sci. 38 : 173 .

Mansfeld, V., Ziegelhoeffer, A., Horakova, Z. and Hladovec, J. (1959). Isolierung der trypsin-inhibitoren aus einigen Huelsenfruechten. Naturwiss. 46: 172.

Mauron, J. Mottu, F. Bujard, E. and Egli, R. H. (1955). The availability of lysine, methionine and tryptophan in condensed milk and milk powder, *in vitro* digestion studies. Arch. Biochem. Biophys. 59 : 433 .

McDonough, F. E., Sarwar, G., Steinke, F. H., Slump, P., Garcia, S., and Boisen, S. (1990). *In vitro* assay for protein digestibility : Interlaboratory study. J. Assoc. off. Anl. Chem. 73(4) : 622.

McLaughlan, J. M. (1972). Nutritional evaluation of proteins by biological Methods. Cereal Sci. Today. 17(6) : 162.

Menden, E. and Cremer, H. D. (1970). Laboratory methods for the evaluation of changes in protein quality in "Newer Methods of Nutritional Biochemistry.", A. A. Albanese, (Ed.) pp. 123-161. Vol. IV. Academic Press. New York and London.

Mitchell, H. H. (1924). A method for determining the biological value of protein. J. Biol. Chem. 58 : 873.

Mitchell, H. H. (1954). Biological value of proteins and amino acid interrelationships. In "Methods for Evaluation of Nutritional Adequacy and Status" H. Spector, M. S. Peterson, and T. E. Friedemann (Eds.), pp. 13-28 Nat. Res. Counc., Washington, D. C.

Morey, K. S., Satterlee, L. D., and Brown, W. D. (1982). Protein quality of fish in modified atmospheres as predicted by the C-PER assay. J. Food Sci. 47: 1399.

Morrison, A. B. and Campbell, J. A. (1960). Evaluation of proteins in foods. V. Factors influencing the protein efficiency ratio of foods. *J. Nutr.* 70 : 112.

Morrison, A. B., Sabry, Z. L., Gridgeman, N. T. and Campbell, A. J. (1963). Evaluation of protein in foods. VIII. Influence of quality and quantity of dietary protein on net protein utilization. *Can. J. Biochem. Physiol.* 41 : 275.

Mueller, R. and Weder, J. K. P. (1989). Isolation and characterization of two trypsin-chymotrypsin inhibitors from lentil seeds (*Lens culinaris Medik.*). *J. Food Biochem.* 13 : 39.

Northrop, J. H., Kunitz, M., and Herriott, R. M. (1948). "Crystalline enzymes," 2nd ed. Columbia University Press , New York.

Ogun, P. O., Markakis, P., and Chenoweth, W. (1989). Effect of processing on certain antinutrients in cowpeas (*Vigna unguiculata*). *J. Food Sci.* 54(4) : 1084.

Oke, O. L., Smith, R. H. and Woodham, A. A. (1975). Ground nut. In "Food protein sources". N. W. Pirie (Ed.), pp. 105-115. Cambridge University Press. London and New York.

Osborne, T. B., Mendel, L. B., and Ferry, E. L. (1919). A method of expressing numerically the growth-promoting value of proteins. *J. Biol Chem.* 37 : 223.

Oser, B. L. (1951). Method for integrating essential amino-acid content in the nutritional evaluation of protein. *J. Am. Diet. Assoc.* 27: 396.

Pant, R. and Chandra, P. (1981). A study on the nutritive value of casein obtained from different sources. *Milchwissenschaft*. 36(7): 411.

Paredes-Lopez, O., Ordorica-Falomir, C. and Olivares-Vazquer, M. R. (1991). Chickpea protein isolates : Physicochemical, functional and nutritional characterization. *J. Food Sci.* 56(3) : 726.

Pellett, P. L. (1978). Protein quality evaluation revisited. *Food Technol.* 5: 60.

Pusztai, A. (1966). The isolation of two proteins, glycoprotein I and a trypsin inhibitor, from the seeds of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). *Biochem. J.* 101: 379.

Rackis, J. J. and Andreson, R. L. (1964). Isolation of four soybean trypsin inhibitor by DEAE-cellulose chromatography. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 15 : 230.

Rackis, J. J. (1972). Biologically active components. In "Soybeans: chemistry and Technology", A. K., Smith and S. J. Circle (Eds.), Vol. 1. AVI Publ. Co., Westport, Conn.

Rackis, J. J., Wolf, W. J., and Baker, E. C. (1986). Protease inhibitors in plant foods : content and inactivation. In " Nutritional and Toxicological Significance of Enzyme Inhibitors in Food ", M. P. Friedman, (Ed.) . 299-347. Advances in Experimental Medicine and Biology, Plenum Press, New York.

Rackis, J. J., and Gumbmann, M. R. (1981). Protease Inhibitors : Physiological properties and nutritional significance. Ch. 12. In "Antinutrients and Natural Toxicants in Foods," R. L. Ory (Ed.), p. 203. Food and Nutrition Press, Westport, CT.

Rackis, J. J. (1965). Physiological properties of soybean trypsin inhibitors and their relationship to pancreatic hypertrophy and growth inhibition of rats. Fed. Proc. 24(6) : part 1: 1488 .

Rackis, J. J. (1974). Biological and physiological factors in soybeans. J. Am. Oil Chem. Soc. 51 : 161 A.

Ramirez, J. S. and Mitchell, H. L. (1960). The trypsin inhibitor of alfalfa. J. Agric. Food Chem. 8:393.

Read, J. W. and Haas, L. W. (1938). Studies on the baking quality of flour as affected by certain enzyme actions. V. Further studies concerning potassium bromate and enzyme activity. Cereal Chem. 15: 59.

Robaidek, E. (1983). Bioassay methods for nutrients in processed foods. Food Technol. 1: 81.

Roy, D. N. and Bhat, R. V. (1974). Trypsin inhibitor content in some varierites of soybean (*Glycine max* L.) and sunflower seeds (*Helianthus annus* L.). J. Sci. Food Agric. 25 : 765.

Ruth, E. and Leuis, J. (1992). Nutritional values of Australian foods: Food tables. p. 26. Australian Government Publishing Service, Canberra.

Ryan, C. A. (1966). Chymotrypsin inhibitor I from potatoes : reactivity with mammalian, plant, bacterial, and fungal proteinases. *Biochem.*, 5:1592.

Ryan, C. A. and Balls, A. K. (1962). An inhibitor of chymotrypsin from *Solanum tuberosum* and its behavior towards trypsin. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 48: 1839.

Salunkhe, D. K. and Kadam, S. S. (1989). CRC Handbook of World Food Legumes : Nutritional chemistry processing technology, and utilization, Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL.

Sarwar, G., Sosulski, F. W., Bell, J. M., and Bowl, J. P. (1978). Nutritional evaluation of oil seeds and legumes as protein supplements to cereals. In "Nutritional Improvement of Food and Feed Proteins." M. P. Friedman, (Ed.) Symposium on improvement of protein nutritive quality of food and feeds, Chicago, (1977). pp. 415-441. Plenum Press. New York and London.

SAS. 1985. SAS/STATTM Guide for personal computers, Version 6 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Satterlee, L. D., Kendrick, J. G. and Miller, G. A. (1977) Rapid *in vitro* assays for estimating protein quality. *Food Technol.* 6: 78.

Satterlee, L. D., Marshall, H. F., and Tennyson, J. M. (1979). Measuring protein quality. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56: 103.

Satterlee, L. D. (1984). The C-PER, a rapid assay for protein nutritional quality. J. Food Quality 6(3): 153.

Satterlee, L. D., Kendrick, J. G, Marshall, H. F., Jewell, D. K., Ali, R. A., Heckman, M. M., Steinke, H. F., Larson, P., Phillips, R. D., Sarwar, G., and Slump, P. (1982). *In vitro* assay for predicting protein efficiency ratio as measured by rat bioassay: Collaborative study. J. Assoc. Anal. Chem. 65(4): 798.

Saunders, R. M., Connor, M. A., Booth, A. N., Blckoff, E. M., and Kohler, G. O. (1973). Measurement of digestibility of alfalfa protein concentrates by *in vivo* and *in vitro* methods. J. Nutr : 103.

Sawaya, W. N., Khalil, J. K. , Al-Shalhat, A. F. and Al-Mohammad, H. (1984). Chemical composition and nutritional quality of camel milk. J. Food Sci. 49: 744.

Sawaya, W. N., Muhammad A., Khalil, J. K., and Al-Shalhat, A. F. (1985). Chemical composition and nutritional quality of tehineh (Sesame butter). Food Chem. 18(1) : 35.

Sawaya, W. N., Daghir, N. J. and Khalil, J. K. (1986). *Citrullus colocynthis* seeds as a potential source of protein for food and feed. J. Agric. Food Chem. 34(2) : 285.

Seidl, D. S. and Liener, I. E (1972). Isolation and properties of complexes of the Bowman-Birk soybean inhibitor with trypsin and chymotrypsin. J. Biol. Chem. 247: 3533.

Sheffner, A. L., Eckfeldt, G. A., and Spector, H. (1956). The pepsin-digest-residue (PDR) amino acid index of net protein utilization. *J. Nutr.* 60 : 105.

Shyamala, G. and Lyman, R. L. (1964). The isolation and purification of a trypsin inhibitor from whole wheat flour. *Can. J. Biochem. Physiol.* 42: 1825.

Singh, U. and Jambunathan, R. (1981). Studies on Desi and Kabuli Chick pea (*Cicer arietinum* L.) . Cultivars : levels of protease inhibitors , levels of polyphenolic compounds and *in vitro* protein digestibility. *J. Food Sci.* 46 : 1364.

Sitren, H. S., Ahmed, E. M. and George, D. E. (1985). *In vivo* and *in vitro* assessment of antinutritional factors in peanut and soy. *J. Food Sci.* 50 : 418.

Smirnoff, P., Khalif, S., Birk, Y. and Applebaum, S. W. (1976). A trypsin and chymotrypsin inhibitor from chick pea (*Cicer arietinum* L.) *Biochem. J.* 157 : 745.

Smith, C., Megen, W. V., Twaalfhoven, L., and Hitchcock, C. (1980). The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.* 31: 341.

Smith, A. K. and Circle, S. J. (1972). "Soybeans, Chemistry and Technology, Vol. 1, proteins." AVI Publishing Co., Westport, CT.

Sohonie, K. and Bhandarkar, A. P. (1954). Trypsin inhibitors in Indian foodstuffs. 1. Inhibitors in vegetables. *J. Sci. Indian. Res.* 13B: 500.

Somali, M. A., Bajneid, M. A. and Fhaimani, S. S. (1984). Chemical composition and characteristics of *Moringa peregrina* seeds and seeds oil. Am. Oil. Chem. Soc. 61: 85.

Stahmann, M. A. and Woldegiorgis, G. (1975). Enzymatic methods for protein quality determination. In "Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds." part 1, M. Friedman, (Ed.), p. 211. Marcel Dekker, New York, NY.

Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1980). *Principles and Procedures of Statistics* (2nd ed.). McGraw-Hill Book Co., New York.

Steinhart, H., and Kirchgessner, R. (1973b). Zum Einflub des enzym : Substrate- Verhaltnisses auf die peptische *in vitro* verdauung von proteinen. Arch. Tierernahrung. 23 : 753.

Steinhart, H. and Kirchgessner, R. (1973a). *In vitro*-Verdauungsapparatur Zur Enzymatischen Hydrolyse Von Proteinen. Arch. Tierernahrung. 23 : 449.

Sumathi, S. and Pattabiraman, T. N. (1976). Natural plant enzyme inhibitors: Part II- Protease inhibitors of seeds. Indian. J. Biochem. Biophys. 13: 52.

Sure, B. (1955). Relative nutritive values of proteins in foods and supplementary value of amino acids in pearled barley and peanut flour. J. Agric. Food Chem. 3 : 789.

Swaisgood, H. E. and Catignani, G. L. (1990). Protein digestibility *in vitro* methods of assessment in "Advances in Food and Nutrition Research." Vol. 35. J. E. Kinsella (Ed.), pp. 155-235. Academic Press, Inc. London and New York.

Tan, N-H., Wong, K.C., and de Lumen, B. O. (1984). Relationship of tannin levels and trypsin inhibitor activity with the *in vitro* protein digestibilities of raw and heat treated winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*). *J. Agric. Food Chem.* 32: 819.

Tan, N.H. and Wong, K.C. (1982). Thermal stability of trypsin inhibitor activity in winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*). *J. Agric. Food Chem.* 30(6) : 1140.

Tan-Wilson, A. L., and Wilson, K. A. (1986). Relevance of multiple soybean trypsin inhibitor forms to nutritional quality. In (Nutritional and Toxicological Significance of Enzyme Inhibitors in Foods). M. Friedman (Ed.), pp. 391-411. Advances in experimental medicine and biology, Plenum Press, New York

Tauber, H., Kershaw, B. B., and Wright, R. D., (1949). Studies on the growth inhibitor fractions of lima beans and isolation of a crystalline heat-stable inhibitor. *J. Biol. Chem.* 179 : 1155.

Thomas, K. (1909). The biological value of nitrogenous substances in different foods. The question of the physiological protein minimum. *Arch. Physiol.* 219.

Tower, D. B., Peters, E. L. and Wherrett, J. R. (1962). Determination of protein-bound glutamine and asparagine. *J. Biol. Chem.* 237(6) : 1861.

Tur-Sinai, A., Birk, Y., Gertler, A., and Rigbi, M. (1972). A basic trypsin and chymotrypsin inhibitors from ground nuts (*Arachis hypogaea*). Biochem. Biophys. Acta. 263.

Turner, R. H. and Liener, I. E. (1975). The effect of the selective removal of hemagglutinins on the nutritive value of soybeans. J. Agric. Food Chem. 23:484.

Vachon, C., Gauthier, S. F., Jones, J. D., and Savoie, L. (1982). Enzymatic digestion method with dialysis to assess protein damage; application to alkali-treated proteins containing lysinoalanine. Nutr. Res. 2:67.

Vachon, C., Gauthiers, S., Jones, J. D., and Savoie, L. (1983). *In vitro* enzymatic release of amino acids from alkali-treated proteins containing lysinoalanine. Nutr. Rep. Int. 27:1303.

Waggle, D. H. and Kolar, C. W. (1979). Types of soy protein products In "Soy Protein and Human Nutrition", H. L. Wilcke, D. T. Hopkins and D. H. Waggle (Eds). pp. 19-51. Academic Press, London and New York.

Weber, C. W., Berry, J. W., and Philip, I. (1977). Citrullis, apodanthera, cucurbita and hibiscus seed protein. Food Technol. 31 (5): 182.

Weder, J. K. P., Hegarty, M. P., Holzner, M. and Kern-Dirm-Dorfer, M. L. (1983). Trypsin and chymotrypsin inhibitors in *Leguminosae*. VIII. Isolation and some properties of the principal inhibitor from lentils (*Lens culinaris Medik.*). Z. Lebensm. Unters. Forsch. 177: 109.

Williams, W. U., W. P., Kunkel, M. E., Acton, J. C., Wardlay, F. B., Huang, Y., and Grimes, L. W. (1994). Thermal effects on *in vitro* protein quality of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Food Sci.* 59(6) : 1187.

Wilson, B. J., Mcnab, J. M., and Bentley, H. (1972). Trypsin inhibitor activity in the field bean (*Vicia faba* L.). *J. Sci. Food Agric.* 23 : 679.

Wolzak, A., Elias, L. G. and Bressani, R. (1981). Protein quality of vegetable proteins as determined by traditional biological methods and rapid chemical assays. *J. Agric. Food Chem.* 29: 1063.

Yamamoto, M. and Ikenaka, T. (1967). Studies on soybean trypsin inhibitors : 1. Purification and characterization of two soybean trypsin inhibitors. *J. Biochem.* 62 : 141.

Ziena, H. M. Youssef, M. M. and El-Mahdy, A. R. (1991). Amino acid composition and some antinutritional factors of cooked faba beans (Medammis): Effects of cooking temperature and time. *J. Food. Sci.* 56(5) : 1347.

الملاحم

جدول رقم (١) : حساب نسبة فعالية البروتين لدقيق بذرة البذان منزوع الدهن C-PER

الوزن ٪ للحمض الاميني الاساسي	الوزن	٪ للحمض الاميني الاساسي الاساسي	٪ للحمض الاميني الاساسي	الحمض الاميني الاساسي
٤٧١ ر	٦٠٠ ر	٢٩٤ ر	٣٤	لابسين (Lys)
٢٤١ ر	٣١ ر	٢١٣ ر	٤٧	ميثونين + ستيدين (M + C)
٤٨ ار	٠٠٨ ر	١٨٥ ر	٥٤	ثيريونين (Thr)
٣٥ ر	٨٢ ر	١٢٢ ر	٨٢٠	ايزولوبسين (Ile)
٥٣ ر	٠٠٤ ر	١٣٢ ر	٧٦	ليرسين (Leu)
٣٤ ر	٨٢ ر	١٢٠ ر	٨٤	فالين (Val)
٣٤ ر	٨٣ ر	١١٩ ر	٨٤	فيناتيل الآلين + تروسين (P + T)
٤٨ ار	٠٠٨ ر	١٨٥ ر	٥٤	تريبتوفان (Trp)
٦٤١ س	٨٥ ص			المجموع

جدول رقم (٢) : حساب نسبة فعالية البروتين للكازين القياسي C-PER

<u>الوزن</u>	<u>الوزن</u>	<u>٪ للحمض الاميني الاساسي</u>	<u>٪ للحمض الاميني الاساسي</u>	<u>الحمض الاميني الاساسي</u>
٠٠٨٣	١	٠٠٨٣	١٢١	لابين (Lys)
٠٠٣٢	٤	٠١٣٢	٧٥	ميثين + ستيون (M + C)
٠٥٢٨	٤	٠١٣٢	٧٦	ثريونين (Thr)
٠٠٩٠	١	٠٠٩٠	١١١	ايزولوبين (Ile)
٠٠٨٦	١	٠٠٨٦	١١٧	ليوسين (Leu)
٠٢٠٨	٢	٠١٠٤	٩٦	فالين (Val)
٠٠٦٩	١	٠٠٦٩	١٤٥	فيتيل الآلين + ترسين (P + T)
٠٠٩٣	١	٠٠٩٣	١٠٨	ترترفان (Trp)
٠١٦٨٩	١٥			المجموع

$$\text{درجة الحمض الاميني الاساسي} = \frac{\text{مجموع الأوزان (ص)}}{\text{مجموع مقلوب (س)}} = \frac{١٥}{١٦٨٩} = ٨٨ \text{ للكازين}$$

$$\text{درجة الحمض الاميني الاساسي للعينة} = \frac{٤٧٩٤}{٨٨} = ٥٣٩٩$$

$$\begin{aligned} \text{نسبة فعالية البروتين الحسابية (C-PER)} &= ١٠٧٤ - ٢١٣١٢ + ٢١٣١٢ - ٧٤١٨٨ (\text{spc})^2 \\ \text{نسبة فعالية البروتين الحسابية (C-PER)} &= ١٠٧٤ - ٢١٣١٢ + ٢١٣١٢ - ٧٤١٨٨ (٥٣٩٩ - ٢١٨٨) \end{aligned}$$

$$= ١٠٧٤ - ٢٨٥٠١ + ٧٣٤٢ =$$

$$= ٢٨٤١٦ - ٣٨٥٠١$$

$$\text{نسبة فعالية البروتين الحسابية (C-PER)} = ١٠٠٨٥ \approx ١$$