مجله علوم کشاورزی ایران جلد اول ، ۲۵۳۶ ، ۱۰-۱

اثر استخراج مواد چربی وسایر ناخالصیها در مقدار اسیدهای آمینه آزاد لوبیا

دکتر منصور توکلی و خانم اشرف علـــوی

به ترتیب دانشیار و مربی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهـــران

تاریخ وصول ۸ اردیبهشت ۲۵۳۵

خلاصـــه

در این آزمایش تاثیر وجود مواد چربی وسایر ناخالصیها در سنجش مقدار اسیدهای آمینه آزاد لوبیا مورد بررسی قرار گرفت ، برای این منظور ابتدا اسیدهای آمینه بوسیله الکل استخراج گردید . قسمتی از محلول الکلی محتوی اسیدهای آمینـه بوسیله مخلوطی از پروپانول و کلروفرم از مواد چربی عاری شد . سایر ناخالصیهای موجود دراین قسمت ودر قسمتی که مـــواد چربی آن استخراج نشده بود بوسیله چهار روش مختلف از اسیدهای آمینه جدا گردید . مخلوط اسیدهای آمینـــه سپس با استفاده از روش کروماتوگرافی تعویض یونی از نظر کیفی و کمی مورد مطالعه قرار گرفت . آزمایش نشان میدهد که استخراج مواد چربی مقدار قابل استخراج لیزین ، آرژنین ، اسید گلوتامیک ، آلانین ، والین ، ایزولوسین ، لوسین و مجموع اسیدهـــای آمینه آزاد لوبیا را افزایش میدهد . همچنین اثر روشهای مختلف استخراج ناخالصیهای غیر چربی در مقدار لیزیـــــن ، هیستیدین ، آرژنین ، اسید اسپارتیک ، اسید گلوتامیک ، آلانین ، متیونین ، لوسین ، تیروزین و مجموع اسیدهای آمینه از نظر آماری معنی دار میباشد . در بین چهار روش مختلف ، رسوب دادن مواد غیر اسید آمینه بوسیله اسید کلریدریک تاثیـر مثبت و قابل توجهی در چگونگی تجزیه اسیدهای آمینه دارد . با توجه به اثر متقابل مواد چربی و سایر ناخالصیها حداقـل جدا نمودن یکی از دو ترکیبات نامبرده کافی بنظر میرسد .ولی با درنظر گرفتن نتایج بدست آمده چنین استنباط میگـرددکه رسوب دادن مواد غیر چربی بوسیله اسید کلریدریک موثر ترین روش برای تخلیص اسیدهای آمینه آزاد لوبیا بشمار میآیـــد .

مقـــدمـــه

بررسی اسیدهای آمینه غیر پروتئینی یا اسید های آمینه آزاد مورد توجه محققین بسیاری بوده است . مطالعه در چگونگی تشکیل اسیدهای آمینه در واکنشهای بینا بینی واثر عوامل مختلف در سرعت انجام واکنشهای مربـوط بـه سنتز و یا تجزیه مواد پروتئینی حائز اهمیت فراوانی میباشد.

تغییرات اسیدهای آمینه آزاد درشیره سلولی و مخصوصا " در پلاسمای خون از نظر تحقیقات بیولوژیکی قابل بررســـــی میباشد . همچنین کوشش در جهت کاستن اثر تخریبی روش هـای نگهداری مواد غذائی در اسیدهای آمینه پروتئینـی و غیر پروتئینی و پی بردن به ارتبا ط بین اسیدهای آمینـه آزاد و خواص کیفی نظیر بویائی و چشائی از جمله مسـائلی است که مورد نظر متخصصین علوم تغذیه و مواد غذائی قرار

گرفته است . فیلد و همکارانش (۳ و ۴) و پریـــــش و همکارانش (۹) تغییرات اسیدهای آمینه آزاد گوشت را در زمانهای مختلف نگهداری و رابطه آنها را با تردی گوشـت مورد مطالعه قرار داده اند . نتیجه این مطالعـات نشان میدهد که مقدار اسیدهای آمینه رابطه مستقیمی باطول‌مدت نگهداری دارد . فوسکز (۵) در آزمایشی که در همیـــن زمینه انجام داده توانسته است رابطه بین پیشروی فسـاد در گوشت ماهی را بکمک تغییرات حاصله در مقداراسیدهای آمینه آزاد مشخص سازد . آزبورن (۱۳) توانسته است به وجود رابطه‌ای بین میزان مواد پروتئینی و اسیدهای آمینه و کیفیت گوشت خوک پی ببرد . درمورد فرآورده هـــای گیاهی نیز تحقیقاتی در زمینه رابطه بین اسیدهای آمینه‌و خواص کیفی آنها صورت گرفته است . بعنوان مثال نـوع‌و مقدار اسیدهای آمینه آزاد و آمیدها نه تنها بستگی به نوع میوه و سبزی دارد بلکه پیدایش بعضی از آنها و تغییراتی که درمیزان عده دیگری ازآنها صورت میگیرد بستگی‌بمراحل مختلف رسیدن دارد (۱) . مقدار این نوع اسیدهای آمینه حتی بعد از برداشت میوه ویا سبزی نیز میتواند دستخوش نوساناتی قرار گیرد . لو وهمکارانش (۷) و المیلادی (۲) و همکاران او بترتیب در زمینه اثر حرارت درمقدار اسیـــد های آمینه آزاد پوره هویج و آب پرتقال مطالعاتی انجـــام داده اند . وندر کوک وپرایس (۱۴) باین نتیجه‌رسیده‌اند که میزان اسیدهای آمینه میتواند شاخصی برای پی بردن‌به تقلبات احتمالی در آب پرتقال باشد . وندر کوک دربررسی دیگری (۱۵) که با سایر همکارانش انجام داده توانستـــه است با اندازه گیری اسیدهای آمینه انواع مختلف آبلیمورا از یکدیگر متمایز سازد . ریندر نخت (۱۰) اسیدهای آمینه آزاد خرما را مطالعه نموده و نحوه تغییرات آنهارادرمراحل مختلف رسیدن خرما روی درخت و نگهداری درانبار روشن نموده است . مطالعات متعدد دیگری نظیر آنچه در فـــوق اشاره گردید در مورد فرآورده‌های دیگر صورت گرفته است . اصل قابل توجه در این بررسیها بدون توجه به اهداف‌آنها در اختیار داشتن روشی است که بوسیله آن بتوان تمامـــی اسیدهای آمینه را ازماده مورد آزمایش استخراج نمـــود . برای‌این منظور از حلالهای مختلفی استفاده میشود .ازجمله حلالهای متداول الکل اتیلیک (۱۱) و اسیدکلریدریک (۶) را میتوان نام برد . این حلال‌ها نه تنها اسیدهای آمینـه را درخود حل‌مینمایند بلکه موادی نظیر چربی وپپتیدها و بعضی از مواد پروتئینی را نیز تامیزان معینی استخـــراج مینمایند . وجود این ترکیبات بعنوان ناخالصی‌دراسیدهای آمینه استخراج شده تاثیر نامطلوبی‌در تجزیه اسیدهای‌آمینه دارد . باین دلیل خصوصا " موقعی‌که هدف مطالعه‌اسیدهای آمینه بطور جداگانه باشد استخراج ناخالصیها ضروری‌بنظر میرسد . ازآنجائی که نوع ومیزان ناخالصی درمواد مختلف متغیر است عملا " نمیتوان ازیک روش کلی پیروی نمـــودو نتیجتا " در هر موردی احتیاج به روش خاصی میباشد .بـا توجه‌بمطالب فوق‌پیدانمودن روشی مناسب برای استخراج اسیدهای آمینه آزاد حبوبات نیز حائز اهمیت میباشـد . نظر باینکه مقدار چربی درحبوبات ازحدکمی (حداکثر۱درصد) تجاوز نمی‌نماید امکان دارد بدون استخراج موادچربـــی به اندازه گیری اسیدهای آمینه آزاد آنها مبادرت نمود . از طرفی چون سایر ناخالصیها اغلب از مواد پروتئینی تشکیل یافته اند میتوان آنها را رسوب داده و از اسیدهای آمینـه جدا کـرد .

مواد و روشها

در تهیه مواد مورد استفاده دراین آزمایش ازمخلوط ده واریته لوبیای سفید محصول سال ۱۳۵۲ مزرعه آزمایشی دانشکده کشاورزی استفاده‌گردیده است . مقدار کافی از مخلوط فوق را بوسیله‌آسیاب مجهز به الک استاندارد شماره ۴۰ آرد نموده بنحوی که قطر متوسط ذرات ۴۲۰ میکرون باشد . دو نمونه ۱۰ گرمی از آرد بدست آمده جهت استخراج اسید های آمینه آزاد بکار برده شد . اسیدهای آمینه آزاد بشرح زیر استخراج ـ تخلیص‌وسپس تجزیه گردیدند .

استخراج آسیدهای آمینه ـ نمونه آرد لوبیا که بترتیب فوق تهیه شده بوددریک ارلن بظرفیت ۱۰۰سی سی منتقل وبآن ۸۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۸۰ درصد اضافه گردید . نمونه مزبور برای مدت یکساعت بوسیله دستگاه بهم زن مخلوط شد و سپس به لوله سانتریفیوژ منتقل وبرای مدت ۱۵ دقیقه و سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه‌سانتریفیوژ گردید .فاز مایع به یک بالن ژوژه ۵۰۰ سی‌سی منتقل‌گردید و به باقیمانده ۱۰۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۸۰ درصد اضافه شد وپس از بهم زدن مخلوط حاصله مجددا " مانند فوق سانتریفیوژ گردید . فاز مایع حاصل به فاز مایع استخراج شده نوبت اول اضافه‌گردید و عمل استخراج دوبار دیگربر روی باقیمانده انجام شد . حجم مایع‌محتوی مواد استخراج شده با الکل اتیلیک ۸۰ درصد به ۵۰۰ سی‌سی رسانیده‌شدو سپس بدو قسمت مساوی تقسیم گردید .

استخراج مواد چربی ـ بمنظور بررسی ضرورت استخراج مواد چربی از اسیدهای آمینه آزاد یکی‌ازدوقسمت فوق که بصورت چ۱ علامت گذاری شده بود کنار گذاشته‌شد . قسمت دیگر با علامت چ ۲ رابه یک دکانتور۵۰۰ سی‌سی‌منتقل نموده و بآن ۱۰۰ میلی‌لیتر از مخلوط ۱۰ درصد ۲ـ پروپا ـ نول و کلرو فرم (به نسبت مساوی) افزوده و پس ازهم‌زدن مخلوط بحال خود باقی ماند تا دو فاز الکل و کلروفرم از هم جدا شوند . بعد ازجدا شدن ، فاز الکلی محتوی اسید های آمینه که‌بترتیب فوق از مواد چربی عاری شده بود دریک‌بشر نگهداری گردید .

استخراج سایر ناخالصیها ـ از هریک از دوقسمت مذکور ۴ نمونه ۵۰ میلی لیتری اختیار گردید . این نمونه ها در ۴ جفت که هر جفت متشکل از نمونه ای از هردوقسمت‌بود بصورت ن۱ و ن ۲و ن ۳و ن ۴ علامتگذاری گردید و عملیات تخلیص بشرح زیر بر روی آنها انجام شد .

۱ـ نمونه های چ ۱ ن ۱ و چ ۱ ن ۱ ـ این‌نمونه‌ها ابتدا در ۴۰ درجه سانتیگراد ودر خلاء خشک گردیدندو باقیمانده خشک شده سپس در ۲ میلی‌لیتر از بافر سیترات بغلظت ۰/۱ مول و پ هاش = ۲ حل گردید و تا هنگام آزمایش در لوله شیشه ای در دار بحالت انجماد نگهداری‌شد.

۲ـ نمونه‌های چ ۱ ن ۲ و چ ۲ ن ۲ ـ این نمونه‌ها مانند فوق تبخیر گردید و پس از افزودن ۲۰ میلی‌لیتراسید کلریدریک دسی نرمال به باقیمانده وحل کردن آن مخلوط برای مدت ۳۰ دقیقه در یک بن ماری ۳۵ درجه‌سانتیگراد حرارت داده شد تا رسوب تشکیل گردد . مخلوط فوق برای مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵ هزار دوردر دقیقه سانتریفیوژ گردید . مایع روئی محتوی اسیدهای آمینه را سپس به‌بالن تبخیر منتقل و پس از خشک کردن باقیمانده حاصله‌در بافر سیترات حل و سپس منجمد گردید .

۳ـ نمونه های چ ۱ ن ۳ و چ ۲ ن ۳ ـ هریک‌ازاین دونمونه به یک ستون شیشه ای بقطر ۰/۵ سانتیمتر که تا ارتفاع ۱۵ سانتیمتر از رزین داوکس ـ ۵۰ بقطر ذرات ۳۸تا ۷۵ میکرون پر شده بود منتقل گردید وسپس اسیدهای آمینه را که جذب رزین شده‌بود بکمک محلول ۰/۴ نرمال هید رو

کسید آمونیوم استخراج ومانند فوق پس از تبخیرباقیمانده در بافر سیترات سدیم حل و نگهداری‌گردید .

۴ـ نمونه‌های چ ۱ ن ۴ و چ ۲ ن ۴ ـ این نمونه ها ابتدا مانند نمونه های چ ۱ ن ۲ و چ ۲ ن ۲ تبخیر گردیدو سپس ناخالصی موجود درآنها بااسید کلریدریک رسوب داده شد . فاز مایع محتوی اسیدهای آمینه بکمک‌سانتریفیوژ جدا وپس‌از خشک کردن باقیمانده در۱۰۰ میلی لیترالکل اتیلیک ۸۰ درصد حل گردید ومانند نمونه‌های شماره ۳ تخلیص شد .

تجزیه اسیدهای آمینه ـ اسیدهای آمینه آزاد لوبیا که بترتیب فوق استخراج شده بود با استفاده از روش کروماتوگرافی تعویض یونی وبکمک دستگاه اتوآنالیزر اسیدهای آمینه[۲] تجزیه وپس از شناسائی مقدار هریک بر حسب میکروگرم در گرم نمونه محاسبه گردید .

نمونه ها را ابتدا در درجه حرارت اطاق‌ازحالت انجماد خارج وسپس مقدار معینی از آنها بطور جداگانه با مقدار مساوی از محلول نورلوسین مخلوط‌گردید . نورلوسین بعنوان استاندارد داخلی بکار برده شد . دونمونه‌از مخلوط فوق باندازه‌های ۲۰ و ۱۰۰ میکرولیتر مورد تجزیه قرارگرفت. تجزیه نمونه ها بنحوی‌انجام گرفت که هرع عددآنها بین دواستاندارد واقع شد (۱۲) .

نتایج

میانگین هریک از اسیدهای آمینه بدست آمده از این آزمایش در جدول ۳ مندرج است . لیزین و تیروزین و فنیل آلانین بدلیل ناچیز بودن مقدار آنها در بعضی‌از نمونه ها اندازه گیری نگردید . همچنین تریپتوفان و سیستئین بعلت محدود بودن امکانات مورد مطالعه قرار نگرفت . مقدار هر یک از اسیدهای آمینه آزاد لوبیا که‌از آزمایشهای مختلف بدست آمده بود مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که نتایج آن بشرح زیر میباشد .

۱ـ تاثیر استخراج مواد چربی درمقدار اسیدهای آمینه ـ میانگین اسیدهای آمینه مربوط به نمونه های‌محتوی مواد چربی (چ ۱) و بدون چربی (چ ۲) درجدول شماره ۱ مندرج است . بطوریکه مشاهده میگردد خارج ساختن‌مواد چربی بطور معنی داری در مقدار قابل اندازه گیری لیزین آرژنین ـ اسید گلوتامیک ـ آلانین ـ والین ـ ایزو لوسین، لوسین و بالاخره مجموع اسیدهای آمینه آزاد تاثیردارد . اختلاف مربوطه در مورد اسید گلوتامیک و مجموع‌اسیدهای آمینه در سطح ۱ درصد و درمورد سایر اسیدهای آمینه‌در سطح ۵ درصد معنی دار میباشد . با جدانمودن مواد چربی مقدار قابل اندازه گیری اسیدهای آمینه آزاد از۳۳۶۲ به ۳۹۸۴ میکروگرم در گرم پودر لوبیا افزایش یافته است .

۲ـ تاثیر استخراج سایر ناخالصیها در میزان اسیدهای آمینه ـ اثر روشهای مختلف تخلیص در مقدار قابل اندازه گیری اسیدهای آمینه بدون توجه به مواد چربی در جدول شماره ۲ مندرج است .

آزمایش نشان میدهدکه روش های چهارگانه‌تخلیص اثرات نسبتا " متفاوتی در میزان قابل استخراج واندازه‌گیری اسیدهای آمینه آزاد لوبیا داشته است . اختلاف میانگین اسیدهای آمینه لیزین وهیستیدین ـ آرژنین ـ اسید اسپارتیک ـ اسید گلوتامیک ـ آلانین ـ میتونین‌ـ لوسین‌ـ تیروزین، و مجموع اسیدهای آمینه مربوط به روشهای‌مختلف تخلیص از نظر آماری معنی دار میباشد . این اختلاف در مورد اسید اسپارتیک ، اسید گلوتامیک و مجموع اسیدهای آمینه درسطح ۱ درصد و درمورد سایر اسیدهای آمینه در سطح ۵ درصد معنی دار میباشد . آزمایش نشان میدهد که رسوب دادن مواد غیر اسید آمینه با اسید کلریدریک اثر

جدول (۱) ــ مقایسه میانگین مقدار اسیدهای آمینه آزاد لوبیا برحسب میکرو گرم درگرم درحالت معمولی (چ۱) و بعد از استخـــــــراج مواد چربی (چ ۲)

اسید آمینـــــه	چ ۱	چ ۲	اسید امینـــه	چ ۱	چ ۲
* لیزین	۳۲/۷۵	۲۳/۰۰	* آلانیـــن	۱۶۶/۷۵	۱۸۲/۷۵
هیستیدین	۱۳۶/۷۵	۱۳۹/۰۰	والیـــن	۱۰۰/۲۵	۱۵۷/۷۵
* آرژنین	۶۰۶/۷۵	۷۲۸/۷۵	متیونین	۳۴/۲۵	۳۱/۵۰
اسید اسپارتیک	۶۹۵/۷۵	۷۴۸/۷۵	* ایزولوسین	۳۷/۰۰	۴۷/۷۵
ترئونین	۸۱۳/۷۵	۱۰۱۰/۷۵	* لوسین	۴۷/۵۰	۵۷/۵۰
** اسید گلوتامیک	۶۰۵/۰۰	۷۴۹/۵۰	تیروزین	۴/۵۰	۵/۵۰
گلیسین	۵۵/۲۵	۷۲/۰۰	فنیل آلانین	۲۶/۰۰	۳۰/۷۵
–	–	–	** مجموع	۳۳۶۲/۲۵	۳۹۸۴/۷۵

* اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است .

** " " " ۱ " " " " "

قابل توجهی در مقدار قابل استخراج اسیدهای آمینـــــه آزاد دارد . این مقدار برابر ۴۸۶۸ میکرو گرم در گـــرم میباشد . مقدار اندازه گیری شده اسیدهای آمینه‌بااستفاده از سایر روشها با یکدیگر اختلاف معنی داری نشان‌ندادنـد ولی بطور معنی داری از مقدار مربوط به روش فوق کمتـــر بودند .

۳ــ اثرات متقابل موادچربی وسایرناخالصیها ــ بطوریکه جدول شماره۳ نشان میدهد اختلاف مربوط به اثر متقابل عوامل فوق‌الذکر در مورد لیزین ــ اسیداسپارتیکــ اسید گلوتامیک ــ فنیل آلانین ومجموع اسیدهای آمینه در سطح یک درصد و درمورد ترئونین ــ گلیسین ــ آلانیـــن ــ والین ــ ایزولوسین ــ لوسین و تیزورین درسطح ۵ درصـــد معنی دار میباشد . میانگین مربوط به اثر متقابل عوامـــل مورد مطالعه در مقدار اسیدهای آمینه آزاد با مقایســـــه باال.اس.دی[1] مربوطه گروه بندی و درجدول ۳ درج گردیده است .

نتایج نشان میدهدکه به ترتیب نمونه‌های چ۱ن۲ــ چ۲ن۱ ــ چ۲ن۲ از نظر مجموع دارای بالاترین مقدار اسید آمینه میباشند . این سه نمونه درگروه اول قـــرار دارند . میانگین مربوط به نمونه های چ۱ن۳ ــ چ۱ن۴ ــ چ۲ن۳ ــ چ۲ن۴ درگروه دوم واقع شده اند . میانگین مربوط بـــه نمونه چ ۱ ن ۱ نشان میدهد که وجود مواد چربی تـــوام با سایر ناخالصیها اثر قابل توجهی در کاستن مقدار قابـــل استخراج اسید های آمینه آزاد لوبیا دارد .

بحث

روش متداول در استخراج اسیدهای آمینه آزاد این است که ابتدا آنها را بکمک یک حلال استخراج کرده و سپس آنها را بااستفاده از خاصیت تعویض یونی از سایر ترکیبات جدا مینمایند . نظر باینکه مقدار مواد چربی در حبوبات در حدود یک درصد میباشد (۸) بنابراین بنظر میآید که جدا نمودن این مواد از اسیدهای آمینه قبل از

جدول (۲) ـ مقایسه اسیدهای آمینه آزاد لوبیا بر حسب میکرو گرم در گرم با چهار روش تخلیص

اسید آمینه	ن ۱	ن ۲	ن ۳	ن ۴
لیزین *	۲۵/۰ b	۴۷/۰ a	۹/۵ c	۳۰/۰ b
هیستیدین *	۹۰/۵ b	۱۷۵/۵ a	۱۲۵/۵ a	۱۵۶/۰ a
آرژنین *	۵۴۴/۰ b	۹۹۵/۵ a	۵۳۰/۵ b	۶۰۱/۰ b
اسید اسپارتیک **	۴۷۷/۰ c	۹۱۲/۰ a	۸۱۶/۵ a	۶۸۳/۵ b
ترئونین	۷۱۸/۵	۱۰۶۶/۰	۱۰۳۷/۵	۸۲۷/۰
اسید گلوتامیک **	۶۸۵/۰ b	۱۰۰۰/۰ a	۵۷۶/۰ c	۴۴۸/۰ d
گلیسین	۴۹/۵	۷۵/۰	۶۷/۵	۶۲/۵
الانین *	۱۳۱/۵ b	۲۲۴/۵ a	۱۶۶/۰ b	۱۷۷/۰ a
والین	۹۶/۰	۱۶۵/۰	۱۳۰/۰	۱۲۵/۰
متیونین *	۲۷/۰ b	۳۳/۰ a	۲۷/۰ b	۴۴/۵ a
ایزولوسین	۳۴/۰	۵۰/۵	۴۲/۰	۴۳/۰
لوسین *	۴۳/۵ b	۶۷/۰ a	۵۰/۰ b	۴۹/۵ b
تیروزین *	—	۱۳/۰	۶/۰	—
فنیل آلانین	۲۶/۰	۴۰/۰	۳۶/۵	۱۱/۰
مجموع **	۲۹۴۷ b	۴۸۶۸ a	۳۶۲۰ b	۳۲۵۸ b

* اختلاف درسطح ۵ درصد معنی دار است .

** اختلاف در سطح ۱ درصد معنی دار است .

(۱) میانگین های روی‌هرسطح که با حروف یکسان مشخص شده اند ازلحاظ آماری اختلاف معنی داری‌با یکدیگر ندارند .

جدول (۳) ــ اثر متقابل وجود وعدم وجود مواد چربی (چ۱وچ۲) وروشهای مختلف تخلیص (ن ۱ــ۴) در مقـــــدار اسیدهای آمینه آزاد لوبیا بر حسب میکروگرم درگرم

	چ ۱				چ ۲			
اسید آمینه	ن ۱	ن ۲	ن ۳	ن ۴	ن ۱	ن ۲	ن ۳	ن ۴
لیزین **	۹ e	۴۳ be	۱۹ d	۶۰ a	۴۱ c	۵۱ a	–	–
هیستیدین	۳۷	۱۸۹	۱۴۳	۱۷۸	۱۴۴	۱۷۰	۱۰۸	۱۳۴
آرژنین	۱۷۰	۱۰۶۵	۵۸۶	۶۰۶	۹۱۸	۹۲۶	۴۷۵	۵۹۶
اسیداسپارتیک**	۱۸۷ e	۹۴۲ a	۸۲۷ a	۸۲۷ a	۷۶۷ a	۸۸۲ a	۸۰۶ a	۵۴۰ b
ترئونین *	۲۶۰ b	۱۱۲۳ a	۱۰۴۳ a	۸۲۹ a	۱۱۷۷ a	۱۰۰۹a	۱۰۳۲ a	۸۲۵ a
اسیدگلوتامیک**	۲۵۲ e	۱۰۷۵ a	۶۱۴ e	۴۷۹ e	۱۱۱۸ a	۹۲۵b	۵۳۸ a	۴۱۷ a
گلیسین*	۱۷ b	۷۵ a	۶۴ a	۶۵ a	۸۲ a	۷۵a	۷۱ a	۶۰ a
آلانین *	۴۸ e	۲۶۱ a	۱۷۳ b	۱۸۵ a	۲۱۵ a	۱۸۸a	۱۵۹ b	۱۶۹ b
والین *	۲۷ e	۱۲۹ a	۱۱۰ b	۱۳۵ a	۱۶۵ a	۲۰۱a	۱۵۰ a	۱۱۵ b
متیونین	۲۳	۲۸	۳۳	۵۳	۳۱	۳۸	۲۱	۳۶
ایزولوسین *	۱۳ b	۵۰a	۴۲ a	۴۳a	۵۵ a	۵۱a	۴۲ a	۴۳ a
لوسین *	۱۴ e	۷۰a	۴۹ b	۵۷a	۷۳ a	۶۴a	۵۱ b	۴۲ b
تیروزین *	–	۱۲a	۶ b	–	–	۱۴a	۶ b	–
فنل آلانین **	–	۳۵a	۴۷ a	۲۲b	۵۲ a	۴۵a	۲۶ b	–
مجموع**	۱۰۵۷ c	۵۰۹۷a	۳۷۵۶ b	۳۵۳۹b	۴۸۳۸a	۴۶۳۹ a	۳۴۸۵b	۲۹۷۷ b

* اختلاف درسطح ۵ درصد معنی دار است .

** اختلاف درسطح ۱ درصد معنی دار است .

میانگین های روی هرسطح که با حروف یکسان مشخص شده اند بایکدیگر اختلاف معنی داری‌ندارند .

تجزیه ضروری نباشد . ازطرفی آزمایشهای مقدماتی نشان داده است که استخراج سایر ناخالصیها اساسا " ضرورت دارد. نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان میدهد که وجود مواد چربی مقدار قابل استخراج اسیدهای آمینه را نسبت به مقدار واقعی معادل ۶۲۲ میکرو گرم درگرم کاهش میدهد . این کاهش درحدود ۱۵ درصد مجموع اسیدهای آمینه بحساب میآید . بطوریکه مشاهده میگردد سایر ناخالصیها مجموع اسیدهای آمینه اندازه گیری شده را با مقایسه‌حداکثر مقدار اندازه گیری شده در حدود ۱۹۲۰ میکروگرم درگرم کاهش میدهد . این کاهش معادل ۳۹ درصد مجموع‌اسیدهای آمینه میباشد . درمورد اثر متقابل دو نوع ناخالصی‌نامبرده چنین استنباط میشودکه چنانچه سایر ناخالصیها ازاسیدهای آمینه خارج شوند وجود مواد چربی تاثیر معنی‌داری در کاهش مقدار قابل اندازه گیری اسیدهای آمینه ندارد . در مورد روشهای بکار رفته رسوب دادن ناخالصیهای غیرچربی بوسیله اسید کلریدریک بر سایر روشها ارجحیت دارد . از طرف دیگر چنانچه ناخالصیهای غیر چربی جدا نگردد استخراج مواد چربی ضرورت پیدا می‌نماید . با توجه بمطالب فوق میتوان نتیجه گیری کردکه استخراج حداقل یکی از دو گروه ناخالصی نامبرده ضروری بنظر میرسد . در هرحال با توجه باین نکته که تجمع ناخالصیهای غیر چربی از طرفی اثر نامطلوبی در ستون کروماتو گرافی داشته و از طرف دیگر امکان ترکیب بعضی از آنها بانین هیدرین‌وجود دارد استخراج آنها نیز لازم میباشد . بادرنظر داشتن‌نکات فوق باید اظهار داشت که طولانی بودن مراحل استخراجو عاری نمودن اسیدهای آمینه از ناخالصیها کمک زیادی به اندازه گیری و مقدار واقعی آنها مینماید ولی نباید فراموش نمودکه از دست دادن مقداری از اسیدهای آمینه درهر یک از مراحل آزمایش اجتناب ناپذیر است . باین ترتیب‌ضمن منظور داشتن اثر نامطلوب ناخالصیهای نامبرده دراندازه گیری اسیدهای آمینه باید از روشی استفاده گردد که اسیدهای آمینه از دست رفته در مراحل مختلف آزمایش‌به حداقل ممکن کاهش یابد .

موضوع قابل توجه دراین آزمایش این است که وجود ناخالصیها تاثیر یکسانی بر روی اسیدهای آمینه ندارد . آزمایش نشان داده است که تعدادی‌ازاسید های آمینه در حضور مواد ناخالصی کاهش قابل توجهی پیدا نمی‌نمایند . برعکس‌این کاهش در مورد تعدادی از آنها کاملا " فاحش‌است . با توجه باینکه اسیدهای آمینه درهر دو گروه نامبرده از لحاظ خاصیت اسیدی ـ بازی و خنثی بودن در یک دسته قرار نمیگیرند . بنابر این خاصیت یونی آنها نمیتواند عامل موثری در این کاهش بشمارآید. در هرصورت وجود مواد چربی و سایر ناخالصیها نه تنها تاثیر نامطلوبی در جدا کردن اسیدهای آمینه دارد بلکه تا اندازه ای از ترکیب شدن نین هیدرین با اسیدهای آمینه نیز جلوگیری مینماید . از طرف دیگر ناخالصیهای‌پروتئین خود با نین هیدرین ترکیب شده وباین ترتیب نه تنهااز غلظت نین هیدرین میکاهند بلکه کمپلکس تشکیل شده‌بین معرف و این ناخالصیها شناسائی و اندازه گیری اسیدهای آمینه را با استفاده از منحنی های کروماتو گرافی مشکل میسازد . نتیجتا " با توجه به اثر ناخالصیهاواشکالاتی که این ترکیبات در عملیات مختلف استخراج و اندازه گیری بوجود میآورند عاری ساختن اسیدهای آمینه از این مواد ضروری میباشد .

منابع مورد استفاده

8. Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding . 1972. Proo. of PAG , FAO ,, Rome Italy .

9. Parrisch JR,F.C., D.E. Goll , W.J. Newcomb 11,B.O. de - Lumen, H.M. Chaudhry and - E.K. Kline . 1969. Molecular properties of post - mortem muscle,I-Changes in nonpro- tein and free amino acids of bovine muscle. J. Food Sci, Vol. 34, PP 196-202.

10. Rindernecht , H. J . 1959 . The free amino acids pattern - of dates in relation to - darkening during maturation and storage . J. Food Res. 24 : 298 .

11. Standard Methods of Chemical - Analysis. 1966.Six. Editeon. Vol.3, Instrumental Methods. Part A. Van Nostrand Compa- ny, Inc. Toranto ,Princten, New Jersey , New York,London.

12. Techniques in Amino Acid Analysis. Technicon International Divi- sion. S.A., Geneva, Switzer- land .

13. Usborne ,R.W. 1967. The relation of certain protsin compone- nts and free amino acids to quality of porcine muscle from 5 different weights of hogs. Ph.D. Thesis. Univer- sity of Kentucky ,Lexington.

REFERENCES

1. Bonner, J. and J.E. Varner.1965. Plant Biochemistry .Academic Press. New York and London . 1054 PP .

2. El Miladi, S.S., W.A. Gould and R.L. Clements . 1969 . Heat Processing effects on starch sugar , proteins , amino acids and organic acids of tomato juice .J. Food Tech. Vol. 23, PP 93-95 .

3. Field , R.A. and Yet-Oy Chang . 1969. Free amino acids in bovine muscles and their relationship to tenderness. J. Food Sci, Vol. 34, No.4, PP 329 - 331 .

4. Field,R.A., M.L. Riley and Yet - Oy Chang.1971. Free amino - acid changes in different aged bovine muscle and their relationship to shear values J. Food Sci. Vol .34, No.4 , PP 611- 612 .

5. Fusks,T. and J. Wierzchowski,1970 Free amino acid as an index of the decomposition of fish Chem. Abstr. 72: 2280 B.

6. Lawrie, R.A. 1970 . Proteins As Human Food. Whitefriasspress. Ltd. Tonbridge,Kent. 525PP.

7. Luh, B.S., John Antonakos , and - H.N. Dacud . 1969. Chemical and quality changes in strai- ned carrots canned by the aseptic and retort processes. J. Food Tech . Vol.23,PP1003- 1007 .

and Ikeda, R.M.1963. Lemon Juice Composition .1-Characterization of Califorina - Arizona Iemon juice by its total amino acids and 1-malic acid content . J.A.O.A.C. , 46:353 .

14. Vandercook , C.E. and R.L. Price. 1972. The quality of amino-acid composition to the - Characterization of citrus juice .J. Food Sci.,Vol.37, No. 3, PP 284-386.

15. Vandercook , C.E., Rolle , L.A .