تحسين استخلاص البروتينات من فول الصويا

باستخدام الأمواج فوق الصوتية

طالبة الماجستير: مروى خالد حمشو

كلية الهندسة الكيميائية والبترولية – جامعة حمص

بإشراف: أ.د. فؤاد عطا الله

ملخص البحث

إنَ الطلب على الأطعمة الجاهزة ذات الجودة العالية حفَز الحاجة إلى تطوير عدد من الأساليب في معالجة الأغذية والتي أثبتت تقنية الأمواج فوق الصوتية أنها ذات قيمة كبيرة.

توفر تقنية الأمواج فوق الصوتية العديد من المزايا كتسريع العملية والاحتفاظ بخصائص المنتج وتحسين مدة الصلاحية، حيث تم دراسة هذه التقنية في عملية استخلاص البروتينات من فول الصويا.

أُجريت عملية الاستخلاص بطريقتي الاستخلاص بالنقع والاستخلاص بمساعدة الأمواج فوق الصوتية وذلك من خلال استخدام جهازي أمواج يعملان بترددين مختلفين أما طريقة الاستخلاص بالنقع فتمت خلال 3 ساعات، ودُرست متغيرات العملية من درجة حرارة وزمن استخلاص، كما وتمَ استخدام مذيبين لإجراء عملية الاستخلاص وهما الماء المقطر والكحول الإيثيلي وحُدَد المذيب الأفضل الذي يحقق أعلى تركيز للبروتينات.

الكلمات المفتاحية

الاستخلاص، النقع، الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية، البروتينات، فول الصويا.

Improving Protein Extraction from Soybeans using Ultrasound

Abstract

The demand for high-quality convenience foods has stimulated the development of a number of food processing techniques, in which ultrasonic technology has proven to be of great value.

Ultrasonic technology offers several advantages, such as speeding up the process, preserving product properties, and improving shelf life. This technology has been studied in the process of extracting proteins from soybeans.

The extraction process was carried out using two ultrasound-assisted extraction methods, using two ultrasound devices operating at different frequencies. The soaking extraction process took three hours. Process variables, including temperature and extraction time, were studied. Two solvents were used for the extraction process: distilled water and ethyl

alcohol. The optimal solvent, which achieved the highest protein concentration, was determined.

Keywords

Extraction, Infusion, Ultrasound-Assisted Extraction, Proteins, soybeans.

1-المقدمة

يعد فول الصويا أهم محصول بقولي بروتيني زيتي علفي في العالم، حيث أنَ الموطن الأصلي لزراعته جنوب شرقي أسيا وأنَ بذوره تحتوي على نسبة عالية جداً من البروتين تصل إلى 30 – 50 % وهو أكثر من محتوى البروتين في اللحم وهو يمتاز بنوعيته العالية لاحتوائه على الأحماض الأمينية الأساسية الثمانية جميعها الضرورية للإنسان والحيوان، كما ويصنع من بذور فول الصويا حليباً صناعياً ذا قيمة غذائية عالية، ويحتوي طحين فول الصويا على نسبة عالية من النتروجين.[1]

في عمليات الاستخلاص من الأجسام الصلبة تتم عملية استخراج مركب أو أكثر من الجسم الصلب وذلك عن طريق حلها بمذيبات مناسبة وهذه أبسط عمليات الاستخلاص أما العمليات الأكثر تعقيداً هي التي نجدها أثناء استخراج المواد المتوضعة داخل خلايا الجسم الصلب كما الحال في بحثنا استخلاص المواد البروتينية من فول الصويا.[2]

يُشترط في المذيبات المستخدمة توفر العديد من الميزات أهمها انتقائية عالية للمادة المراد استخلاصها وسهولة استرجاعه وأن يكون متوفر ورخيص الثمن وغيرها من الشروط.[3]

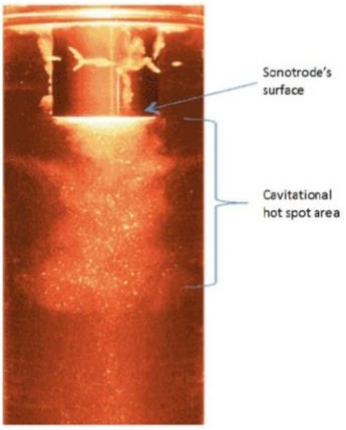
تستغرق الأساليب التقليدية في عمليات استخلاص المركبات من النباتات وبشكل أساسي النقع وقتاً طويلاً جداً وتتطلب كميات كبيرة نسبياً من المذيبات، ولقد وجدت طريقة الاستخلاص بجهاز الأمواج فوق الصوتية لتكون وسيلة أكثر فعالية بسبب خصائصها من زمن استخلاص أقصر واستخدام أقل من المذيبات.[4]

أظهرت الدراسات الحديثة أن الاستخلاص باستخدام الأمواج فوق الصوتية يمكن أن يعزز كفأة الاستخلاص من خلال الفجوة الصوتية وبعض التأثيرات الميكانيكية.

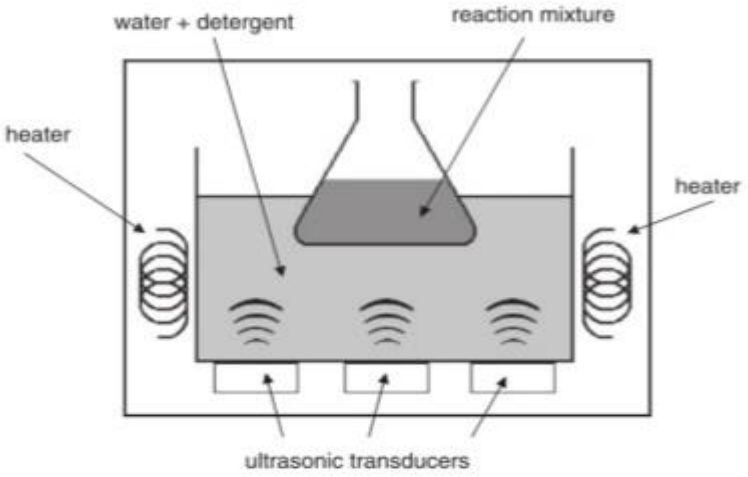
يمكن أن تسبب الفجوة الصوتية خللاً في جدران الخلايا وتسهل تغلغل المذيب إلى المادة النباتية وتسمح باستخلاص المنتج من داخل الخلايا، هناك تأثير أخر ميكانيكي ينجم عن جهاز الأمواج فوق الصوتية أيضاً وهو تسخين المذيبات المستخدمة للاستخلاص، وزيادة مساحة سطح التلامس بين المذيبات والمركبات المستهدفة من خلال السماح باختراق أكبر كمية ممكنة من المذيبات داخل العينة.[5]

قد يكون تطبيق الأمواج فوق الصوتية في العينة مباشراً أو غير مباشر. يشير التطبيق المباشر للموجات فوق الصوتية إلى التطبيق المطبق مباشرة على وسط العينة كما في الشكل1 ويشير

التطبيق غير المباشر إلى تطبيق الموجات فوق الصوتية في وسط مختلف قبل الوصول إلى العينة المستهدفة كما هو موضح في الشكل2 وكما هو الحال في بحثنا.[6]



الشكل 1: تشكل ظاهرة التجويف تحت المسبر عند التطبيق المباشر للأمواج فوق الصوتية



الشكل 2: حمام الأمواج فوق الصوتية (الطريقة غير المباشرة لتطبيق الأمواج فوق الصوتية)

والجدير بالذكر أنه في عام 2004 قام مجموعة من الباحثين بتطبيق الأمواج فوق الصوتية عالية الكثافة 20 كيلو هرتز أثناء استخلاص الزيت من فول الصويا باستخدام الهكسان والإيزوبروبانول وخليط منهما بنسبة 3:2 هكسان – إيزوبروبانول، وتم تعريضه للأمواج فوق الصوتية بين 0 و3 ساعات وتم التوصل إلى أنه باستخدام الهكسان كمذيب زاد المردود بشكل عام مع زيادة كل من وقت تطبيق وكثافة الأمواج فوق الصوتية، كما وأثر نوع المذيب المستخدم على كفاءة الاستخلاص حيث تم الحصول على أعلى مردود باستخدام الأمواج فوق الصوتية مع المذيب المختلط، وقد عُزيت النتائج إلى التأثيرات الميكانيكية الناجمة عن التجويف الناتج عن الأمواج فوق الصوتية مما أدى إلى زيادة نفاذية أنسجة النبات.[7]

2-أهداف البحث

1- استخلاص البروتينات من فول الصويا بطريقتي الاستخلاص بالنقع والاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية باستخدام مذيبين مختلفين (الماء المقطر والكحول الإيثيلي).

2- دراسة العوامل المؤثرة على عملية الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية (درجة الحرارة والزمن والتردد).

3- مقارنة النتائج وتحديد المذيب الأفضل الذي يحقق أعلى كفأة استخلاص.

4- تحديد الشروط المثلى لعملية الاستخلاص.

3-أهمية ومبررات البحث

تكتسب منتجات البروتين النباتي اهتمامًا كبيرًا حاليًا كبديل أكثر استدامة لمنتجات البروتين الحيواني وذلك بسبب:

1- تأمين مصادر جديدة للبروتين بالتزامن مع محدودية الدخل.

2- السعي نحو أسلوب حياة صحي أكثر.

3- ضرورة تحضير منتجات جديدة تلبي المتطلبات الأساسية من حيث القيمة الغذائية والمواصفات الحسية حيث تكسب المنتجات الغذائية التي تُضاف إليها الحموض الأمينية طعماً ونكهة خاصة مرغوب فيها.

4-المواد وطرائق البحث

4-1 المواد المستخدمة

فول الصويا، الماء المقطر، الكحول الإيثيلي، كاشف البايوريت.

4-2 الأجهزة والأدوات المستخدمة

- **الحمام المائي بالأمواج فوق الصوتية:**

أبعاد الحمام المائي (500 ml*300*150) موضح بالشكل3، مزود بمؤقت (1-30 min)، يعمل عند تردد (40 kHz)، ومزود بمؤشر لدرجة الحرارة بمجال (0-80ºC)، يعمل بالتيار الكهربائي (220 V)، (50 Hz) صيني الصنع موديل PS-80A.

الشكل 3: صورة حمام الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 40 kHz

- **الحمام المائي بالأمواج فوق الصوتية:**

يعمل عند تردد ثابت (37 kHz)، مزود بمؤقت زمني (5–30 min) أتوماتيكي مع إمكانية التحكم بدرجة الحرارة بمجال (25–80°C) مزود بسلة داخلية مصنوعة من الستانلس ستيل غير قابل للصدأ مزود بغطاء بلاستيكي ويعمل بالتيار الكهربائي (220 V)،(60 Hz) ألماني الصنع كما في الشكل4.

الشكل 4: صورة حمام الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 37 kHz

- **ميزان:**

ميزان الكتروني حساس مخبري بدقة قياس (0.0001g)، يعمل بتيار كهربائي (50Hz) و(100–240V) أوروبي الصنع.

- **مثفلة:**

تستخدم لفصل الراسب عن الرشاحة بعد عملية الاستخلاص فهي مزودة بمؤقت زمني أتوماتيكي وبعدد دورات (3200rpm).

- **حاضنة:**

مزودة بمؤشر لدرجة الحرارة حيث تُحتفظ بها العينات عند الدرجة (37°C) بعد إجراء تفاعل البايوريت.

- **جهاز التحليل الطيفي:**

يعرف باسم (سبكتروفوتومتر) يعمل بالمجال المرئي وبطول موجي (190–1100 nm).

- **خلاطات مغناطيسية:**

تعمل بعدد دورات يتراوح rpm (1500–0) ومزودة بمؤشر أخر لدرجة الحرارة.

- **زجاجيات وأنابيب مختلفة:**

حيث تم استخدام العديد من الأنابيب والبياشر الزجاجية المختلفة لإجراء التجارب.

3-4 طريقة العمل

أولاً: الاستخلاص بالنقع

<u>الخطوة الأولى تحضير العينة:</u>

وُزن gr 5 من فول الصويا المطحون والمجفف وأُضيف إليه ml 30 من الماء المقطر بنسبة 1\6 ثم حُرك بواسطة خلاط مغناطيسي عند درجة حرارة الغرفة 25ºC عند عدد دورات تحريك 600 rpm وبعدها وُضعت العينات في المثفلة لمدة خمس دقائق وبعدد دورات 3200 rpm للحصول على الرائق (المستخلص البروتيني) ففي هذه الخطوة أُجريت ست عينات لمدة ثلاث ساعات وسُحبت عينة كل نصف ساعة.

<u>الخطوة الثانية إجراء تفاعل البيوريت:</u>

- يُؤخذ ml 2 من محلول المستخلص البروتيني في أنبوب اختبار.
- يُضاف إليه ml 3 من كاشف البيوريت.
- تُحفظ عند درجة الحرارة(37ºC+) في الحاضنة ولمدة عشر دقائق ثم تبرد.

<u>الخطوة الثالثة تحليل العينات:</u>

باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتر تُقرأ الامتصاصية عند الموجة 540 نانو متر مقارنة مع الماء المقطر، ولتحديد تركيز البروتين في العينة يُرسم منحني بياني بسلسلة عيارية من الأنابيب تحتوي على محلول بروتيني عياري معروف تركيز البروتين حيث تُقرأ الامتصاصية لكل أنبوب في السلسلة العيارية.

ثانياً: الاستخلاص باستخدام الأمواج فوق الصوتية

الخطوة الأولى تحضير العينة:

وُزن 5 gr من فول الصويا المطحون والمجفف وأُضيف إليه 30 ml من الماء المقطر بنسبة 1\6 ثم حُرك بواسطة خلاط مغناطيسي لمدة عشرة دقائق عند درجة حرارة الغرفة 25ºC عند عدد دورات تحريك 600 rpm، وُضعت العينات في جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 40 kHz [هنا في هذه المرحلة تم دراسة تأثير الزمن وتأثير درجة الحرارة حيث أُجريت تجارب عند الزمن min (5,10,15,20,25,30) كما وأُجريت تجارب عند درجات الحرارة ºC (20,30,40)] وبعدها وُضعت العينات في المثفلة لمدة خمس دقائق وبعدد دورات 3200 rpm للحصول على الرائق (المستخلص البروتيني).

أُعيدت أفضل تجارب هذه الخطوة في جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 37 kHz وذلك من أجل إجراء المقارنة بينهما.

ملاحظة الخطوة الثانية والخطوة الثالثة أُجريت كما في طريقة الاستخلاص بالنقع.

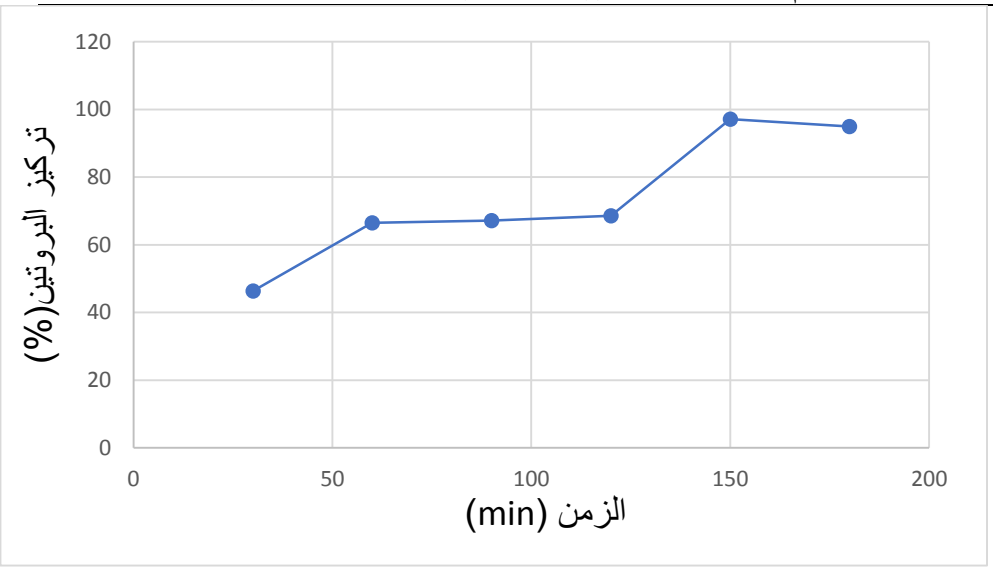
5-النتائج ومناقشتها:

أولاً: مذيب الماء المقطر

- عند القيام بتجربة الاستخلاص بالنقع باستخدام مذيب الماء المقطر حصلنا على النتائج المبينة في الجدول 1.

الجدول (1) نتائج تجربة الاستخلاص بالنقع باستخدام الماء المقطر:

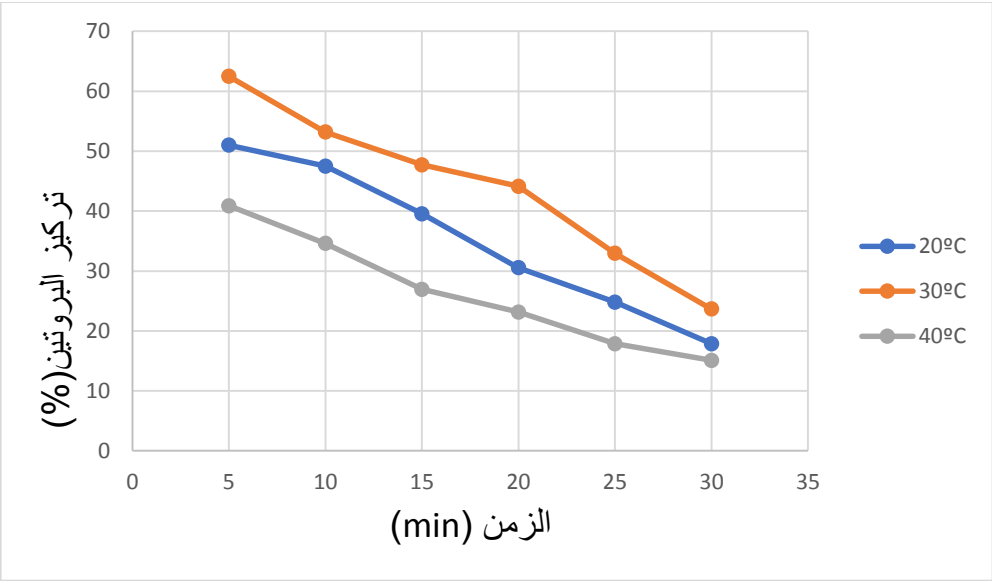
رقم العينة	الزمن (min)	الامتصاصية	تركيز البروتين (%)
1	30	1.465	46.311
2	60	2.075	66.509
3	90	2.093	67.105
4	120	2.137	68.562
5	150	3.000	97.139
6	180	2.934	94.953



الشكل 5: تغير تركيز البروتين مع الزمن عند استخدام الماء المقطر

يُلاحظ من الشكل 5 أنَ أفضل تركيز للبروتين تم الحصول عليه 97.139% عند الزمن 150 دقيقة أي بعد مرور (ساعتين ونصف)، ففي بداية العملية كان المذيب نقي ثم ازداد تدريجياً تركيز المادة المنحلة (البروتينات في الماء المقطر) وبلغ أفضل قيمة عند الزمن 150 دقيقة، وبعد هذه الدقيقة انخفض معدل الاستخلاص بسبب انخفاض القوة الدافعة.

- عند تنفيذ التجارب على جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 40 kHz أخذين بعين الاعتبار الزمن ودرجة الحرارة تم التوصل إلى النتائج المبينة في الشكل6.



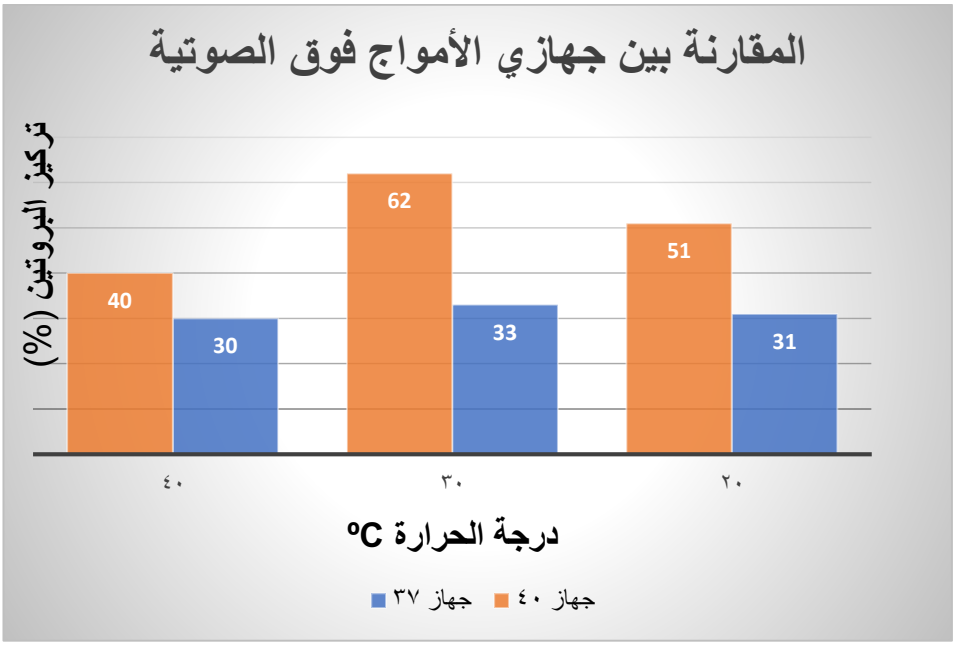
الشكل 6: تغير تركيز البروتين مع الزمن عند درجات حرارة مختلفة

يُلاحظ من الشكل 6 أنَ أفضل تركيز للبروتين تم الحصول عليه 62.48% عند الزمن خمس دقائق ودرجة الحرارة 30°C أما عند درجة الحرارة 20°C تكون عملية الاستخلاص أقل فعالية حيث أنَ درجات الحرارة المنخفضة لا تعزز عملية الاستخلاص وعند درجة الحرارة 40°C تكون البنية الثلاثية للبروتين قد تحطمت.

- في جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 37 kHz قُمنا بالاعتماد على التجارب المنفذة في جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 40 kHz حيث حصلنا على أفضل تركيز عند الدقيقة الخامسة وهنا في هذا الجهاز أجرينا التجارب عند الدقيقة الخامسة فقط (الزمن الأفضل) وتوصلنا إلى النتائج المبينة في الجدول2.

الجدول (2) يظهر المقارنة بين نتائج التجارب المنفذة في الجهازين (الماء المقطر):

تركيز البروتين حسب جهاز (40) kHz	تركيز البروتين حسب جهاز (37) kHz	الزمن (min)	درجة الحرارة (°C)
51.01	31.41	5	20
62.48	33.23	5	30
40.88	30.74	5	40



الشكل 7: تغير تركيز البروتين في جهازي الأمواج فوق الصوتية باستخدام مذيب الماء المقطر

يُلاحظ من الشكل 7 أنَ أفضل تراكيز للبروتين في جهازي الأمواج فوق الصوتية تم الحصول عليها عند درجة الحرارة 30°C ويُلاحظ أنَ التردد 40 kHz كان أفضل من التردد 37 kHz

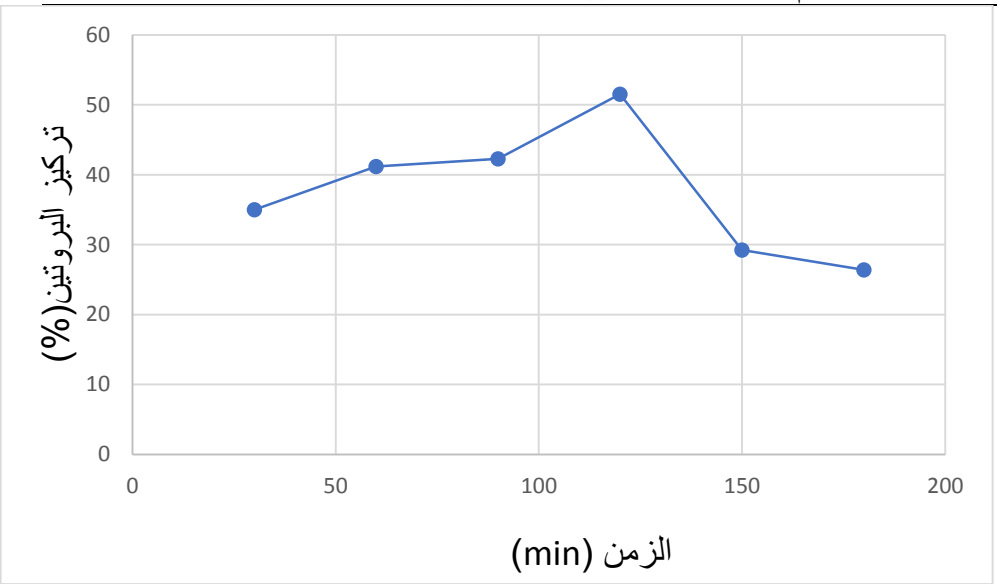
ويُعزى ذلك إلى الفجوة الصوتية التي أحدثت خللاً سريعاً في جدار الخلية وسهلت تغلغل المذيب.

ثانياً: مذيب الكحول الإيثيلي

- عند القيام بتجربة الاستخلاص بالنقع باستخدام مذيب الكحول الإيثيلي حصلنا على النتائج المبينة في الجدول 3.

الجدول (3) نتائج تجربة الاستخلاص بالنقع باستخدام الكحول الإيثيلي:

رقم العينة	الزمن (min)	الامتصاصية	تركيز البروتين (%)
1	30	1.124	35.019
2	60	1.310	41.178
3	90	1.343	42.271
4	120	1.622	51.509
5	150	0.950	29.258
6	180	0.864	26.410

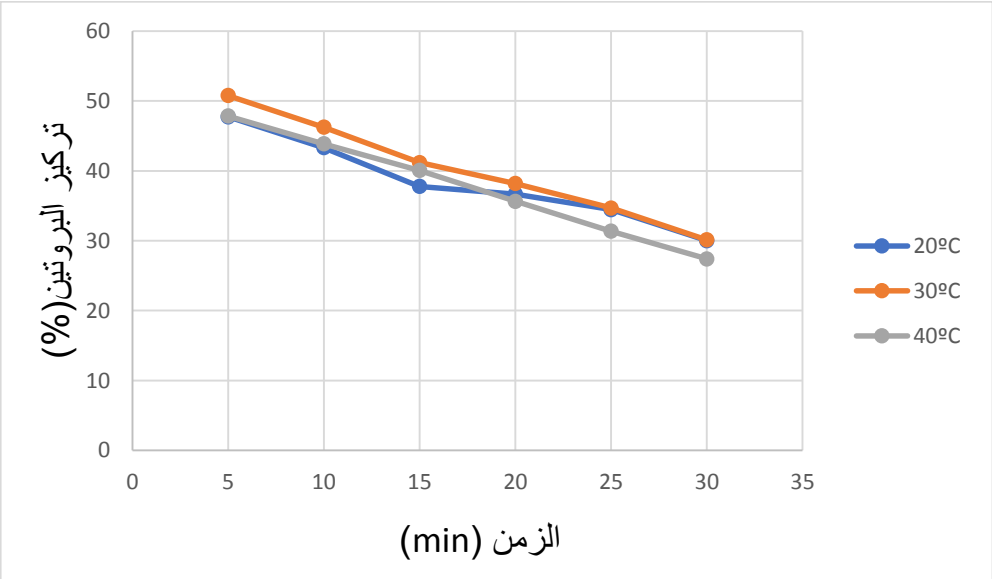


الشكل 8: تغير تركيز البروتين مع الزمن عند استخدام الكحول الإيثيلي

يُلاحظ من الشكل 8 أنَ أفضل تركيز للبروتين تم الحصول عليه 51.509% عند الزمن 120 دقيقة أي بعد مرور (ساعتين)، ففي بداية العملية كان المذيب نقي ثم ازداد تدريجياً تركيز المادة المنحلة (البروتينات في الكحول) وبلغ أفضل قيمة عند الزمن 120 دقيقة، وبعد هذه الدقيقة انخفض معدل الاستخلاص بسبب انخفاض القوة الدافعة وزيادة لزوجة المحلول،

يمكننا القول أنَ مذيب الماء المقطر أعطى نتائج أفضل من مذيب الكحول الإيثيلي ويعود ذلك إلى الحموض الأمينية التي تشكَل المكون الأساسي للبروتينات وبالتالي انحلالية البروتينات تتعلق بشكل أساسي بالحموض الأمينية حيث يذوب قسم كبير من الحموض الأمينية بشكل سهل في الماء.[8]

- عند تنفيذ التجارب على جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 40 kHz أخذين بعين الاعتبار الزمن ودرجة الحرارة تم التوصل إلى النتائج المبينة في الشكل9.



الشكل 9: تغير تركيز البروتين مع الزمن عند درجات حرارة مختلفة

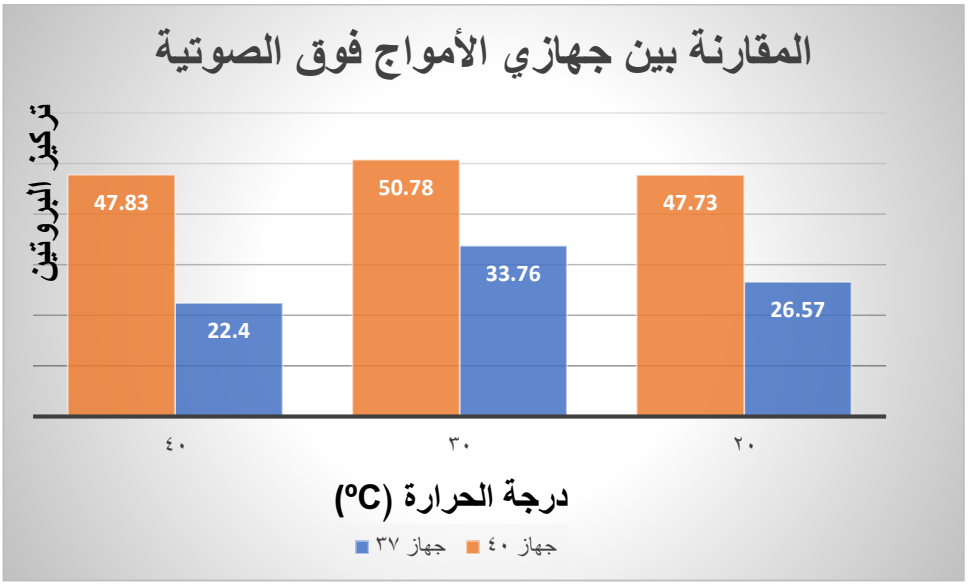
يُلاحظ من الشكل 9 أنَ أفضل تركيز للبروتين تم الحصول عليه 50.78% عند الزمن خمس دقائق ودرجة الحرارة 30ºC أما عند درجة الحرارة 20ºC تكون عملية الاستخلاص أقل فعالية حيث أنَ درجات الحرارة المنخفضة لا تعزز عملية الاستخلاص وعند درجة الحرارة 40ºC تكون البنية الثلاثية للبروتين قد تحطمت.

- في جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 37 kHz قُمنا بالاعتماد على التجارب المنفذة في جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 40 kHz حيث حصلنا على أفضل

تركيز عند الدقيقة الخامسة وهنا في هذا الجهاز أجرينا التجارب عند الدقيقة الخامسة فقط (الزمن الأفضل) وتوصلنا إلى النتائج المبينة في الجدول4.

الجدول (4) يظهر المقارنة بين نتائج التجارب المنفذة في الجهازين (الكحول الإيثيلي):

درجة الحرارة (°C)	الزمن (min)	تركيز البروتين حسب جهاز (37) kHz	تركيز البروتين حسب جهاز (40) kHz
20	5	26.57	47.73
30	5	33.76	50.78
40	5	22.40	47.83



الشكل 10: تغير تركيز البروتين في جهازي الأمواج فوق الصوتية باستخدام مذيب الكحول الإيثيلي

يُلاحظ من الشكل 10 أنَ أفضل تراكيز للبروتين في جهازي الأمواج فوق الصوتية تم الحصول عليها عند درجة الحرارة 30°Cويُلاحظ أنَ التردد 40 kHz كان أفضل من التردد 37 kHz ويُعزى ذلك إلى الفجوة الصوتية التي أحدثت خللاً سريعاً في جدار الخلية وسهلت تغلغل المذيب.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

1)أظهرت طريقة الاستخلاص الحديثة (الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية) فعالية أفضل من طريقة الاستخلاص التقليدية (الاستخلاص بالنقع) حيث أعطت استخلاصاً أسرع للبروتينات من فول الصويا وعند أزمنة قصيرة

2)أكدت الدراسة أنَ لتردد الأمواج فوق الصوتية تأثير إيجابي على تركيز البروتينات حيث أظهر جهاز الأمواج فوق الصوتية ذي التردد 40 تفوقاً على جهاز الأمواج ذي التردد 37.

3)أثبت الدراسة أنَ الماء المقطر هو المذيب الأفضل لاستخلاص البروتينات من فول الصويا فقد أعطى تركيزاً أعلى وعند طريقتي الاستخلاص (الاستخلاص بالنقع والاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية).

4)أظهرت الدراسة أنَ لدرجة الحرارة تأثير مهم على كفأة عملية الاستخلاص حيث كان لدرجة الحرارة تأثير سلبي بعد الدرجة 30 وهذا يتوافق مع الدراسات المرجعية (البروتينات تتأثر بدرجة الحرارة وعندما يتعرض البروتين للحرارة العالية تتفكك الروابط الهيدروجينية والترابط الثنائي التي تحافظ على هيكلة البروتين وتعرضه للتلف).

5)أظهرت الدراسة أنَ للزمن تأثير عكسي بعد مرور الخمس دقائق وذلك عند استخدام طريقة الاستخلاص باستخدام الأمواج فوق الصوتية ويرجع ذلك إلى ظاهرة التكهف.

6)في حال تطبيق الاستخلاص باستخدام الأمواج فوق الصوتية كانت الشروط المثلى للحصول على أعلى تركيز كانت عند الدرجة 30 والزمن 5 دقائق وباستخدام جهاز الأمواج ذي التردد 40 كيلو هرتز.

التوصيات المقترحة:

1)يوصى بتطبيق طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية بسبب فعاليتها العالية وتفوقها على طريقة الاستخلاص بالنقع.

2)تمت دراسة العوامل المؤثرة درجة الحرارة والزمن وتردد الأمواج فوق الصوتية ويوصى بدراسة عوامل أخرى كدراسة نسبة الصلب إلى السائل ودراسة توزع حبيبي أخر لفول الصويا.

3)العمل على تصميم وحدة استخلاص محفَز بالأمواج فوق الصوتية.

6-المراجع:

[1] الزراعة العراقية (مجلة زراعية إرشادية) العدد الثاني -2010

[2] يوسف، جورج. خرفان، سعد الدين. العمليات الموحدة الفيزيائية، منشورات جامعة البعث، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية. 1997-1998

[3] الجوهري، حسين. تقانة وعمليات تصنيع الجزء النظري والعملي، منشورات جامعة البعث، كلية العلوم. 2012

[4] Aljindy, M. S., & Shouman, F. EFFECT OF EXTRACTION SOLVENT, EXTRACTION TIME AND EXTRACTION TEMPERATURE

ON TOTAL POLYPHENOLS CONTENT EXTRACTED BY ULTRASONIC FROM SYRIAN FRESH OLIVE LEAVES.

[5] Gutte, K. B., Sahoo, A. K., & Ranveer, R. C. (2015). Effect of ultrasonic treatment on extraction and fatty acid profile of flaxseed oil. *OCL*, *22*(6), D606.

[6] Huezo, L. A. (2017). *Effects of Ultrasound on Ethanol Fermentation by Saccharomyces cerevisiae* (Master's thesis, The Ohio State University).

[7] Li, H., Pordesimo, L., & Weiss, J. (2004). High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food research international*, *37*(7), 731-738.

[8] الباقوني، محمد. كيمياء الأغذية الجزء النظري، منشورات جامعة البعث كلية الهندسة الكيميائية والبترولية. 2017-2018