

ارزیابی و مقایسه زیستی کیفیت پروتئین سویا

محسن تقی‌زاده^۱، ذات‌الله عاصمی^۱، راهبه شاکر حسینی^۱، آزاده امین‌پور^۲، مهندس ناصر ولانی^۲

۱) دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲) دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۲/۵

تاریخ دریافت: ۸۴/۱۲/۵

چکیده

مقدمه: ارزیابی کیفیت پروتئین مواد غذایی به دلایل بیولوژیک و اقتصادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به همین علت روش‌های بیولوژیک، میکروبیولوژیک، شیمیایی و تلفیقی برای تعیین کیفیت پروتئین‌ها معرفی و بکار گرفته شده است. در بین روش‌های موجود، نسبت خالص پروتئین (NPR)، نسبت خالص نسبی پروتئین (RNPR)، قابلیت حقیقی هضم پروتئین (TPD) و نسبت کارایی پروتئین (PER) بعنوان روش‌های مناسب برای تعیین کیفیت پروتئینها پیشنهاد شده است. با توجه به مصرف بالای فرآورده‌های حبوبات از جمله سویا بویژه در خانوارهای کم درآمد این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه کیفیت پروتئین سویا با روش‌های فوق روی یک نمونه محصول سویا در سال ۱۳۸۲ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: تحقیق با طراحی تجربی روی تعداد ۴۸ موش صحرایی نر در محدوده سنی ۲۳-۲۱ روز، از نژاد *Wistar* تحت رژیم غذایی در گروه‌های ۸ تائی شامل: مورد (سویا)، مینا (کازئین+متیونین) و پایه (بدون پروتئین) برای مطالعه *PER*، *RNPR* (شرایط مطالعه *PER* مشابه *RNPR* می باشد با این تفاوت که طول مدت مطالعه *PER*، ۲۸ روز و همچنین فاقد رژیم بدون پروتئین می باشد) و ۳ رژیم مورد مینا و پایه برای مطالعه *TPD* قرار داده شدند. طول دوره مطالعه برای *NPR*، ۱۴ روز بود. بمنظور محاسبه *NPR*، مقدار پروتئین دریافتی و افزایش وزن حیوانات تعیین گردید. طول دوره مطالعه برای *TPD*، ۹ روز بود. برای محاسبه *TPD*، مقدار ازت دریافتی و ازت دفعی حیوانات تعیین گردید. برای تعیین *PER* مقدار پروتئین دریافتی و تغییر وزن حیوانات اندازه‌گیری شد. مقایسه *NPR*، *RNPR*، *TPD* و *PER* گروه‌های دریافت کننده رژیم کازئین+ متیونین و سویا با استفاده از آزمون *t-test* صورت گرفت.

یافته‌های پژوهش: شاخص *NPR* برای پروتئین کازئین+ متیونین 4 ± 0.4 ، سویا 3 ± 0.3 و $(P < 0.01)$ و شاخص *RNPR* برابر ۸۳ بود. ارقام $2/2 \pm 2/4$ و $5/2 \pm 2/8$ بعنوان میانگین شاخص *TPD* به ترتیب برای پروتئین‌های کازئین متیونین و سویا بود. شاخص *PER* برای پروتئین کازئین و متیونین 2 ± 0.3 ، سویا 3 ± 0.3 و $(P < 0.01)$ بود.

نتیجه‌گیری نهایی: کیفیت پروتئین سویا در مقایسه با کازئین پایین است.

واژه‌های کلیدی: کیفیت پروتئینی، *PER*، *TPD*، *RNPR*، سویا

مقدمه

کشور ضروری بنظر می‌رسد و در آینده می‌تواند از موارد کنترل کیفی محصولات بشمار آید. بنابراین تحقیق حاضر با هدف تعیین کیفیت پروتئینی یک نمونه پروتئین گیاهی (یک نمونه سویا موجود در بازار ایران)، با استفاده از زیست‌آزمون *PER*, *TPD*, *RNPR*, *NPR* در مرداد ماه سال ۱۳۸۲ در دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه به روش تجربی بر روی ۸۸ موش صحرایی نر از نژاد *Wistar* در محدوده سنی ۲۳-۲۱ روزه (از انستیتو رازی کرج خریداری شد) انجام گردید. در ابتدا، نمونه سویا از نظر میزان رطوبت، پروتئین، چربی، فیبر و خاکستر با روشهای آزمایشگاهی (۱۰) مورد آنالیز قرار گرفته تا بر اساس مواد موجود، برای تهیه رژیم‌های غذایی تجربی مربوطه بکار گرفته شود.

در زیست‌آزمون‌های *PER* و *RNPR* سه رژیم تجربی مورد (سویا)، مینا (کازئین و متیونین) و رژیم بدون پروتئین (زیست‌آزمون *PER* فاقد گروه بدون پروتئین می‌باشد) و در زیست‌آزمون *TPD* سه رژیم تجربی مورد، مینا و رژیم بدون پروتئین مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به ترکیب سویا مقادیر مواد غذایی و مواد مغذی اصلی برای رژیم تجربی پایه تنظیم شد. در ضمن همه رژیم‌ها از نظر مقدار رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر با روشهای آزمایشگاهی اندازه‌گیری و آنالیز شدند (۲). در تمام مدت انجام آزمایش، درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی اتاق حیوانات ۷۰-۵۰ درصد ثابت نگهداشته شد. در زمان انجام زیست‌آزمونها، موش‌ها در قفس‌های مجزا قرار گرفتند. فاصله موش‌ها با کف قفس، به کمک توری‌هایی که برای این منظور ساخته شد حفظ گردید تا بدین ترتیب امکان مدفوع‌خواری (*Coprophagy*) توسط حیوانات وجود نداشته باشد و همچنین اختلاط ادرار با مدفوع و غذای ریخته شده کاهش یابد. بعلاوه در کف قفس کاغذ صافی با قابلیت جذب آب قرار گرفته تا از آغشته شدن مواد غذایی ریخته شده و مدفوع موش‌ها با ادرار ممانعت شود (۲).

در سالهای اخیر استفاده از منابع پروتئینی گیاهی در رژیم غذایی روزانه بیش از پیش توصیه می‌شود، زیرا از یک طرف به علت ارزان بودن منابع پروتئینی گیاهی و از طرفی با مصرف کمتر منابع حیوانی، مقدار چربی اشباع مصرفی کاهش یافته و موجب پیشگیری بیماری‌های مزمن بخصوص قلبی - عروقی، دیابت، نارسایی کلیوی، هیپر لیپیدی، سرطان و استئوپروز می‌گردد (۱). استفاده بهینه از پروتئین مورد نیاز بدن تابع قابلیت هضم و الگوی اسیدهای آمینه ضروری در منابع غذایی بوده که برای بدن فراهم می‌گردد (۲). از این رو تعیین کیفیت پروتئین و ارزیابی مواد غذایی مورد مصرف، در برنامه‌ریزی‌های غذا و تغذیه به جهت تأمین نیازهای زیستی انسان لازم می‌باشد (۳). از طرف دیگر فرآیند مواد غذایی بر الگو و میزان فراهمی اسیدهای آمینه ضروری و در نهایت، کیفیت پروتئین محصول تأثیر می‌گذارد (۴). این تغییر در کیفیت انواع غذاهای پروتئینی گیاهی از جمله سویا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۵). بنابراین، ضرورت استفاده از روشهای دقیق، حساس، سریع و قابل اجرا جهت تعیین کیفیت پروتئین احساس می‌شود. این روشها باید هضم واقعی پروتئین و کارآئی پروتئین مورد استفاده را نیز اندازه‌گیری و تعیین کنند (۶، ۷، ۸). بطور کلی، ارزیابی کیفیت پروتئینها شامل روشهای بیولوژیک، میکروبیولوژیک، شیمیایی و تلفیقی هستند. در بین روشهای موجود، نسبت خالص پروتئین ۲، نسبت خالص نسبی پروتئین ۲، ارزیابی قابلیت حقیقی هضم پروتئین ۳ و نسبت کارآئی پروتئین ۴ بعنوان روش‌های مناسب برای تعیین کیفیت پروتئین پیشنهاد می‌شوند (۲، ۷). با این همه، تاکنون این روشها در ایران بر روی محصول سویا مورد بررسی و ارزیابی قرار نگرفته است. نظر به اهمیت ارزش کیفی پروتئین در مواد غذایی خصوصاً در خانواده‌های کم درآمد، مطالعه و ارزیابی روشهای پیشنهادی با توجه به دقت و قابل اجرا بودن آنها در

1. Net Protein Ratio
2. Relative Net Protein Ratio
3. True Protein Digestibility
4. Protein Efficiency Ratio

موشها بطور تصادفی به ۶ گروه، هر گروه شامل ۲ بلوک ظروف پلاستیکی (بدون درپوش) جمع‌آوری گردید.

گروه‌های مورد مطالعه	میانگین غذای دریافتی (g)		میانگین پروتئین دریافتی (g)	
	متوسط روزانه	در ۱۴ روز	متوسط روزانه	در ۱۴ روز
بدون پروتئین	۷۶/۳±۶/۴	۱۰۷±۰/۰۰۶	۵/۴±۰/۴	۰/۰۰۵±۰/۰۰۰۵
کازئین + متیونین	۱۳۷/۰±۱۴/۱	۱۳/۵±۱/۴	۹/۷±۱/۰	۰/۹±۰/۰۹
سویا	۱۳۴/۷±۱۶/۶	۱۳/۲±۱/۶	۹/۵±۱/۲	۰/۹±۰/۱
نتیجه آزمون	P=۰/۱۷۶	P=۰/۶۶	P=۰/۱۷	P=۰/۸۴

و هر بلوک شامل ۴ موش (از مجموع ۴۸ موش اولیه) تقسیم شدند. تقسیم موش‌ها در

بلوک‌ها به گونه‌ای بود که در نهایت، تفاوت بین میانگین‌های وزنی بلوک‌ها با یکدیگر، در محدوده ۰/۵g قرار داشت. در آخرین مرحله، رژیم‌های غذایی تجربی به طور تصادفی برای هر یک از بلوک‌ها در نظر گرفته شد. برای تعیین *NPR* و *RNPR* آب و غذا به مدت ۱۴ روز، به طور آزادانه در اختیار حیوانات قرار داده شد و غذای ریخته شده در هر قفس، پس از جمع‌آوری به طور مجزا در ظروف پلاستیکی (بدون درپوش) در دمای اتاق نگهداری شد. در پایان دوره آزمون، مقدار پروتئین دریافتی توسط هر موش محاسبه و *NPR* هر یک از منابع پروتئینی مورد و مبنای، برای هر موش محاسبه شد (۲، ۱۱).

تعیین *NPR*:

برای تعیین *PER*، غذا و آب بدون محدودیت در اختیار موش‌ها قرار داده شد. موش‌ها تحت رژیم‌های ۲ گانه (سویا و کازئین + متیونین) تغذیه شدند و نهایتاً بعد از ۴ هفته وزن شدند و افزایش وزن در طی این دوره ثبت گردید و سپس *PER* محاسبه شد (۱۲).

روش های آماری: میزان *NPR*، *RNPR*، *TPD* و *PER* گروه کازئین+متیونین و سویا در نمونه‌ها تعیین و فاصله اطمینان آن با احتمال ۹۵ درصد برآورد گردید و سپس اختلاف میانگین گروه‌ها با استفاده از آزمون *t-test* از طریق نرم افزار *SPSS* نسبت به گروه استاندارد (کازئین+متیونین) مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌های پژوهش

این تحقیق بر روی ۴۸ موش صحرائی نر در ۶ گروه ۸

تعیین میانگین کاهش وزن گروه بدون پروتئین + افزایش وزن گروه تست

میانگین مقدار پروتئین دریافتی گروه بدون پروتئین - وزن پروتئین مصرفی گروه تست این ریختن آزمون به مدت ۱۴ روز به طور تصادفی در تمام ۴ روز دوره مقدماتی (*Preliminary period*) و ۵ روز پایانی، دوره تعادلی (*Balance period*) بود. در طول دوره آزمون، غذای حیوانات به ۱۵ گرم در روز (بر اساس ماده خشک) محدود شد اما آب به طور آزادانه در اختیار موش‌ها قرار داده شد، در دوره تعادلی، جمع‌آوری مدفوع و غذای ریخته شده در هر قفس به طور روزانه صورت گرفت. در مورد هر موش، غذای ریخته شده و مدفوع بطور مجزا، بترتیب در

تابی انجام گرفت. میزان غذا و پروتئین دریافتی در

جدول شماره ۱۰: میزای تعیین NPR و $RNPR$ در حیوانات بر حسب گروههای مورد مطالعه برای تعیین NPR و $RNPR$ نشان داده شده است.

جدول شماره ۲. میزان *NPR* و *RNPR* منابع پروتئینی در گروههای مورد و مینا

<i>RNPR</i>	<i>NPR</i>	گروههای مورد مطالعه
۸۳	۴/۳۷±۰/۴۸	کازئین + متیونین
	۳/۶۵±۰/۳۵	سویا
$P < ۰/۰۱$		نتیجه آزمون

میزان *NPR* و *RNPR* گروههای دریافت کننده کازئین+متیونین و سویا در جدول شماره ۲ ارائه شده است. با توجه به میزان *NPR* سویا در نمونههای مورد بررسی، میزان واقعی در محدوده ۳/۳۶ تا ۳/۸۴ برآورد شد.

جدول شماره ۳. میزان غذا و پروتئین دریافتی حیوانات در گروههای پایه، مورد و مینا برای تعیین *TPD*

میزان پروتئین دریافتی (g)		میزان غذای دریافتی (g)		گروههای مورد مطالعه
متوسط روزانه	در ۵ روز	متوسط روزانه	در ۵ روز	
۰/۰۰۳±۰/۰۰۰۹	۰/۰۱±۰/۰۰۴	۳/۸±۰/۸	۱۹/۰±۴/۰	بدون پروتئین
۰/۹±۰/۱	۴/۸±۰/۸	۹/۷±۱/۶	۴۸/۷±۸/۴	کازئین + متیونین
۰/۸±۰/۱	۴/۴±۰/۶	۹/۰±۱/۳	۴۵/۱±۶/۸	سویا
$P=۰/۳۱$	$P=۰/۳۴$	$P=۰/۳۶$	$P=۰/۳۶$	نتیجه آزمون

جدول شماره ۴. میزان *TPD* منابع پروتئینی در گروههای مورد و مینا

<i>TPD</i> (%)	گروههای مورد مطالعه
۹۳/۴۵±۲/۲	کازئین + متیونین
۸۳/۲۳±۲/۵	سویا
$P < ۰/۰۰۰۱$	نتیجه آزمون

میزان *TPD* کازئین+ متیونین و سویا در جدول شماره ۴ نشان شده است. بطوریکه میزان *TPD* سویا ۱۰/۲ و یا حدود ۱۰/۹ درصد کمتر از گروه کازئین + متیونین است و میزان واقعی *TPD* سویا با احتمال ۹۵ درصد در محدوده ۸۱/۵۱ تا ۸۴/۹۵ برآورد می‌گردد.

جدول شماره ۵. میزان غذا و پروتئین دریافتی در گروههای مورد مطالعه برای تعیین *PER*

میزان پروتئین دریافتی (g)		میزان غذای دریافتی (g)		گروههای مورد مطالعه
متوسط روزانه	در ۲۸ روز	متوسط روزانه	در ۲۸ روز	
۱/۰۴±۰/۰۹	۲۹/۴±۲/۶	۱۰/۶±۰/۹	۲۹۷/۱±۲۷/۲	کازئین + متیونین
۱/۰۲±۰/۱	۲۸/۷±۴/۷	۱۰/۴±۱/۷	۲۹۲/۳±۴۸/۵	سویا
$P=۰/۷۱$	$P=۰/۷۳$	$P=۰/۸۲$	$P=۰/۸۱$	نتیجه آزمون

جدول شماره ۶. میزان PER منابع پروتئینی در حیوانات

گروه‌های مورد مطالعه	PER
کازئین + متیونین	$3/0.4 \pm 0/24$
سویا	$2/28 \pm 0/3$
نتیجه آزمون	$P < 0/001$

میزان PER در گروه های دریافت کننده کازئین متیونین و سویا در جدول شماره ۶ گزارش شده است. که نشان می‌دهد میزان PER سویا ۰/۸۴ و یا حدود ۲۷/۶۳ درصد کمتر از گروه دریافت کننده کازئین+متیونین است. میزان واقعی PER سویا با احتمال ۹۵ درصد در محدوده ۲ تا ۲/۴ برآورد می‌گردد.

بحث و نتیجه گیری

کیفی بیولوژیکی کسب شده به روش های NPR ،
 TPD ، RNPR و PER بر روی منبع پروتئین کازئین،
 رضایت بخش بود و این نشانگر آن است که فرمولاسیون
 رژیم به درستی انجام شده است، نژاد Wistar نژاد
 مناسبی برای مطالعه است و از مطالعه قبلی که از نژاد
 NMRI رازی (نژاد بومی Rat صحرائی در مؤسسه رازی
 حصارک کرج) استفاده شد، نتیجه بهتری نشان داده و
 شرایط آزمایشگاه برای نگهداری حیوانات مطلوب
 بوده است زیرا هیچ‌گونه تلفاتی حتی در گروه Non
 Protein مشاهده نگردید. با این وجود مطالعه حاضر نشان
 داد که پروتئین سویای ما از نظر کیفی با پروتئین کازئین (مبنا)
 برابری نمی‌کند. البته پایین بودن NPR ، RNPR و PER در
 منبع پروتئین سویا با قابلیت هضم پروتئین سویا نسبت به
 کازئین، مرتبط می باشد که آن هم، به نسبت بهتر اسیدهای
 آمینه موجود در کازئین، هضم بهتر آن و وجود اسید آمینه
 محدود کننده (مثل متیونین) در پروتئین سویا نیز مربوط است.
 بطور کلی ارزش کیفی پروتئین تحت تأثیر سه عامل است:
 ترکیب اسیدهای آمینه ضروری، هضم پروتئینی و نیاز به
 اسیدهای آمینه گونه مصرف کننده پروتئین. از دلایل دیگر
 عدم برابری هضم واقعی پروتئین سویا با پروتئین کازئین
 مربوط به حضور ممانعت‌کننده‌های پروتئاز در بیشتر غذاهای
 خام پروتئینی از جمله سویا می باشد در صورتیکه حرارت
 مناسب می‌تواند موجب تخریب بیشتر ممانعت‌کننده‌های
 پروتئاز، هیدرولیز بهتر پروتئین (دنا توره شدن بهتر پروتئین) و

یافته های این پژوهش نشان داد که بطور کلی محصول
 پروتئین سویا از ارزش کیفی مناسبی برخوردار است. این
 تحقیق نشان داد که میزان NPR بدست آمده برای پروتئین
 سویا در مطالعه حاضر $3/65 \pm 0/35$ بود. درحالیکه محققان
 دیگر میزان آنرا $3/62$ گزارش کردند (۱۳) که مشابه و در
 محدوده فاصله اطمینانی با این تحقیق بود. میزان NPR
 بدست آمده برای پروتئین کازئین متیونین در مطالعه حاضر
 $4/37 \pm 0/48$ بود در حالیکه محققان دیگر $3/65$ و $3/94$ را
 گزارش کردند (۱۱ ، ۱۲). به عبارت دیگر تفاوت مقدار
 NPR و RNPR مربوط به دریافت غذا و یا پروتئین دریافتی
 نبوده است بلکه می‌تواند با قابلیت هضم و کیفیت پروتئین
 مصرفی مرتبط باشد. میزان TPD بدست آمده برای
 پروتئین سویا در مطالعه حاضر $83/23 \pm 2/5$ است. در
 حالیکه محققان دیگر میزان آن را 83 گزارش کردند (۲) که
 مشابه و در محدوده فاصله اطمینانی با این تحقیق بود. میزان
 TPD بدست آمده برای پروتئین کازئین متیونین در مطالعه
 حاضر $93/45 \pm 2/22$ بود. در حالیکه محققان دیگر میزان آن
 را 99 گزارش کردند (۲). میزان PER بدست آمده برای
 پروتئین سویا در مطالعه ما $2/28 \pm 0/35$ می باشد، در
 حالی که محققان دیگر میزان آن را $2/15$ گزارش کردند
 (۱۴). میزان PER بدست آمده برای پروتئین کازئین متیونین
 در مطالعه حاضر $3/04 \pm 0/24$ بود، در حالیکه محققان
 دیگر میزان آن را $3/2$ گزارش کردند (۱۵). همچنین شاخص
 PER سویا نسبت به کازئین ۷۵ درصد است. نتایج ارزیابی

هضم بیشتر آن گردد

- ۱- ارزش زیستی کیفیت پروتئین سویا پایین تر از کازئین است. بنابراین می توان با افزایش درصد و کیفیت پروتئین سویا، آن را بهبود بخشید.
- ۲- روش NPR و $RNPR$ نسبت به روشهای دیگر انجام شده در این مطالعه برای ارزیابی کیفی پروتئین سویا نتیجه بهتری را نشان داد.
- ۱۶). البته طبق نظر مسئول فنی شرکت سویای سبحان محصول مربوطه بدلیل فرآیند انجام شده و اعمال حرارت در خط تولید فاقد ممانعت کننده پروتئاز می باشد که نیاز به بررسی بیشتر دارد.
- بطور کلی نتایج نشان داد:

References:

1. Yang V, Scrimshaw N, Soybean Protein in human nutrition. *J Am Oil Chem Soc* 1979, 56: 110-120.
2. F.A.O. protein quality evaluation report of the joint FAO/WHO expert consultation (4-8 Dec.1989,Bethesda,USA), FAO, Fd.Nutr paper 1991, Rome.51.
3. Boutrife E. Recent developments in protein quality evaluation. *FNA/ANA* 1991, 1: 36-40.
4. Abrahamsson L, Velarde N, Hambracus L. The nutritional value of home prepared and industrially produced weaning foods. *J Hum Nutr* 1978, 32:279-284.
5. Demaeyer EM. Processed weaning foods in: BeatonGH, Bengoa JM (Eds). *Nutrition in preventive Medicine,WHO,Geneva.1976, 389- 405.*
6. Sarwar G. Digestibility of protein and bioavailability of amino acids in food in: Bourne GH (Ed).*Nutrition in the Gulf Countries-Malnutrition and minerals. Wid Rev Nutr Die* 1987, 54: 26 -70.
7. Whitney EN, Cataldo CB, Rolfes SR. Understanding normal and clinical nutrition. 6th ed, Wadsworth, USA. 2002, 183-184.
8. Shils ME, Olson G, Roos AC. Modern nutrition in health and disease. 9th ed Lippincott Williams and Wilkins; 1999, 42-43.
9. Mahan LK, Escott-Stump S. Food,nutrition & diet thrapy. 11th ed, Saunders Company. 2004, 66.
10. Agricultural Stabilization and Conservation Service. Corn /Soy Blend Announcement CSB-3 with Updating Through Amendment I . *US Agriculture, Shawnee Mission, Kansas. 1982.*
11. Ronald SK, Ronald S. *Pearson,s composition and analysis of foods. 9th ed, London, Longman, 1997, 8-29.*
۱۲. رشیدی آ. مقایسه دو روش امتیاز تصحیح شده اسیدهای آمینه از نظر قابلیت هضم پروتئینی و نسبت خالص نسبی پروتئین در ارزیابی کیفیت پروتئین شادامین گندمی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران. ص ۱۷۹. ۱۳۷۳.
13. Snehil K, Sudesh J. *Biological evaluation of protein quality of barley. Food Chem* 1998, 61:35-39.
14. Abdulaziz M, Al-Othman M. Nutritional evaluation of some commercial baby foods consumed in Saudi Arabia. *Food Sci* 1997, 48:229-236.
15. Temler CH, Dormond A, Finot PA. Assesment of proteins from different sources by Protein Efficiency Ratio (PER) and by Nitrogen Retention. *Nutr Rep Int* 1984, 28: 267-276.
16. Liener IE. Toxic constituents of plant foodstuffs. *NewYork: Academic Press.1980.*