مقارنة تأثير الغلي كطريقة طهي تقليدية مع الميكروويف على بروتين الحليب البقري

د. هلا بركات*

د. ديمة الدياب**

رينا عطيه***

(تاريخ الإيداع 24 / 1 / 2021. قبل للنشر في 12 / 5 / 2021)

□ ملخّص □

إن الانتشار الكبير للميكروويف كوسيلة طهي حديثة أسرع وأقل استهلاكاً للطاقة من الطرق التقليدية المعروفة جعل من الضروري دراسة تأثيره على المغذيات بشكل عام وخاصة البروتين، لذلك تم إجراء مقارنة لتأثيرات كل من الغلي والميكروويف على بروتين الحليب البقري من حيث الأكسدة وقابلية البروتين للحلمهة. دُرست سويات البروتين كربونيل (PCs) كمشعر لأكسدة البروتين في عينات الحليب غير المعالج حرارياً والمغلي تقليدياً والمُسخن بالميكروويف، كما درست قابلية البروتين للحلمهة باستخدام الحلمهة الحمضية ثم الاشتقاق بالنينهيدرين لحساب النسبة المئوية للمجموعات الأمينية الحرة.

سببت المعالجة الحرارية للحليب ارتفاعاً في معدل أكسدة البروتين من خلال زيادة سويات PCs سواء تم غليه تقليدياً أوبالميكروويف، وكانت معدلات الأكسدة أقل في العينات المحضرة بالميكروويف. فيما يتعلق بقابلية البروتين للحلمهة لوحظ انخفاض في نسبة المجموعات الأمينية الحرة في العينات المعالجة حرارياً بالمقارنة مع الحليب الطازج، وقد أظهرت العينات المُسخنة بالميكروويف نسبة أعلى من المجموعات الأمينية الحرة بالمقارنة مع العينات المغلية تقليدياً مما يشير لكونها أكثر قابلية للحلمهة.

الكلمات المفتاحية: الميكروويف، الغلي، أكسدة البروتين، بروتين كربونيل، قابلية البروتين للحلمهة، الحليب.

* مدرسة – قسم المراقبة الدوائية والكيمياء الصيدلية – كلية الصيدلة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية

** أستاذ مساعد - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية – كلية الصيدلة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية

*** طالبة ماجستير – قسم الكيمياء التحليلية والغذائية– كلية الصيدلة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية

Comparative Study On The Effects of Boiling As Conventional Cooking Method And Microwaving On Bovine Milk Protein

Dr. Hala Barakat [*]
Dr. Dima Al Diab **
Reina Atieh ***

(Received 24 / 1 / 2021. Accepted 12 / 5 /2021)

□ ABSTRACT □

The widespread of microwave oven which is low-powered and faster than conventional methods was accompanied by the increasing importance of studying its effect on nutrients, especially protein. Therefore, the effects of both boiling and microwaving on bovine milk protein in terms of oxidation and hydrolysis were studied.The levels of PCs (an indicator of protein oxidation) were compared between fresh, conventionally boiled and microwaved milk. Hydrolyzing protein by the acidic method was studied to evaluate the releasing of free amino groups.

The heat treatment increased protein oxidation by increasing the levels of PCs. The oxidation rates were lower in the microwaved samples. a decrease in the free amino groups levels was observed in the heat treated samples compared with fresh samples, protein hydrolysis of microwaved samples was greater than conventionally boiled samples which release more free amino groups .

Key words: Microwave, boiling, protein oxidation, protein carbonyl, protein hydrolysis, milk.

[*] **Assistant Professor in Drug Control and Pharmaceutical Chemistry Department, Faculty of Pharmacy- Tishreen University, Lattakia, Syria.**
**** Associate Professor in Analytical and Food Chemistry Department, Faculty of Pharmacy- Tishreen University, Lattakia, Syria.**
***** Postgraduate Student, Analytical and Food Chemistry Department, Faculty of Pharmacy- Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

تزايد الاهتمام مع تطور العصر وتسارع وتيرة حياة الناس ببعض تقنيات الطهي والتسخين السريعة والمريحة بدلاً من الطرق التقليدية التي تتطلب أوقاتاً أطول ودرجات حرارة أعلى، مما يؤدي إلى فقدان العديد من العناصر الغذائية (Yong *et al.*, 2019)، ويعد الميكروويف من أبرز هذه التقنيات السريعة والتي أخذت حيزاً كبيراً من الاهتمام في الآونة الأخيرة.

إن تسخين الأغذية بالميكروويف عملية معقدة تعتمد على انتشار الأشعة الميكروية وتفاعلها مع مكونات الغذاء، وعلى خلاف الطرق التقليدية المعتمدة على الحمل والتوصيل الحراري، فإن الأشعة الميكروية تخترق الطعام ليتم امتصاصها وتحويلها إلى حرارة بسرعة وبالتالي توليد حجمي للحرارة ومعدلات تسخين عالية، وهذا ينتج عنه كفاءة طاقية أعلى وخفض بأوقات التسخين والحصول على منتجات غذائية ذات خصائص حسية وتغذوية أفضل عند مقارنتها مع طرق التسخين التقليدية. (Salazar-Gonzalez *et al.*, 2012)

يعتبر الحليب ومشتقاته من أهم العناصر في النظام الغذائي للبشر حيث يشكل جزءاً هاماً من التوصيات الغذائية الرسمية في كثير من بلدان العالم خاصة تلك الصادرة من منظمة الغذاء والزراعة (FAO 2016)، فهو مصدر عالي القيمة التغذوية لغناه بالمغذيات الكبرى والمغذيات الصغرى مع كميات جيدة من الكالسيوم والمغنزيوم والسيلينيوم والريبوفلافين والزنك وفيتامين B12 وحمض البانتوتينيك (Martins *et al.*, 2019). كما يعد الحليب من المصادر المهمة للبروتين عالي القيمة التغذوية، وتعود هذه القيمة التغذوية العالية لبروتينات الحليب إلى ارتفاع مستويات الحموض الأمينية الأساسية من جهة ولتوافرها الحيوي العالي من جهة أخرى (Van Lieshout *et al.*, 2019). إن غنى الحليب بالمغذيات يجعله وسطاً مناسباً لنمو الجراثيم (Borad *et al.*, 2017)، حيث يكون الحليب الطازج ملوثاً غالباً بالعديد من الكائنات الحية الدقيقة كالايشيرشيا كولي *Escherichia coli* والسالمونيلا *Salmonella sp* وغيرها وبالتالي من الضروري إزالة جميع العوامل الممرضة لضمان سلامة الحليب (Martins *et al.*, 2019) من هنا برزت أهمية المعالجة الحرارية للحليب لضمان سلامته (تحقيق المعايير الميكروبية المطلوبة) وجودته (الشكل، القيمة الغذائية، الملمس، العمر على الرف...) (Borad *et al.*, 2017).

بالمقابل، ينتج عن المعالجة الحرارية للحليب آثاراً سلبية غير مرغوب بها من أهمها التفاعلات الحاصلة على البروتين وخاصة تفاعلات الأكسدة، حيث تكون بروتينات الحليب عرضة لعملية الأكسدة تحت ظروف الحرارة المرتفعة أوالضغط العالي أو الإشعاع، وذلك لوجود مجموعة متنوعة من العوامل المحفزة للأكسدة في الحليب مثل الأنزيمات المؤكسدة والشوارد المعدنية والأحماض الدسمة غير المشبعة (Li *et al.*, 2019). من أكثر الحموض الأمينية عرضة للأكسدة بشكل أساسي الليزين والأرجينين والبرولين إذ تتأكسد ثمالاتها، مما يؤدي إلى حصول تعديل للسلاسل الجانبية لها وتشكل مجموعات كربونيلية مرتبطة بالبروتين تسمى البروتين كربونيل Protein Carbonyl (PC). تعتبر الـPCs من المشعرات الأساسية للأكسدة ويتم قياسها باستخدام كاشف دي نتروفينيل هيدرازين (DNPH) Di nitro phenyl hydrazine، كما يمكن تحليل نواتج أخرى للأكسدة كسلفوكسيد الميتيونين وثنائي التيروزين (Hellwig, 2020).

تؤدي عملية الأكسدة أيضاً إلى خسارة في الحموض الأمينية الأساسية وإلى تشكل روابط تصالبية (cross-linking) بين البروتينات وضمنها وهذا يؤدي بدوره إلى انخفاض قابلية حلمهة البروتين والذي قد يكون مؤشراً لانخفاض قابليته للهضم، لتكون كل من خسارة الحموض الأمينية الأساسية وتناقص قابلية البروتين للهضم مؤشرين هامين لانخفاض

القيمة التغذوية لبروتين الحليب. يمكن التحري عن قابلية البروتين للهضم بإجراء حلمهة كيميائية (حمضية أو قلوية) أو حلمهة أنزيمية باستخدام الأنزيمات الهاضمة (Bouhamed and Kechaou, 2017) ليتم بعدها تقييم قابلية البروتين للحلمهة من خلال تحديد نسبة المجموعات الأمينية المتحررة والمتفاعلة مع كاشف النينهيدرين (Friedman, 2004).

من جهة ثانية، أثبتت الدراسات أن نواتج عملية أكسدة البروتين تسبب سمية خلوية حيث تزداد تراكيزها في الدم والأعضاء الداخلية مما يساهم في ترقي الشدة التأكسدية وحدوث خلل بالتوازن التأكسدي في الجسم (Estevez and Luna, 2017)، كما يترافق انخفاض قابلية البروتينات للهضم مع زيادة في كمية البروتين الواصل للكولون وزيادة في معدل تخمره من قبل الجراثيم المعوية مما يعطي مستقلبات بكتيرية سامة يُعتقد بأنها تسبب ضرراً بالحمض النووي وتعيق التجدد الطبيعي للظهارة المعوية وتوازنها والذي قد يساهم في تطور سرطان الكولون (Kim *et al.*, 2013).

من هنا ظهرت الحاجة إلى تحديد تأثير كل من الغلي كطريقة طهي تقليدية والميكروويف على أكسدة البروتين وقابليته للحلمهة خاصة في ظل قلة الدراسات عامةً التي تحدد بشكل واضح هذا التأثير السلبي المحتمل للميكروويف وغياب الدراسات المحلية خاصةً التي تقارن بينه وبين الطرق التقليدية في الطهي.

أهمية البحث وأهدافه

قد يؤثر كل من الغلي كطريقة طهي تقليدية والميكروويف على:

1- القيمة التغذوية للأغذية فمن الممكن أن يحصل خسارة بالفيتامينات وخسارة بالحموض الأمينية الأساسية نتيجة لأكسدة البروتين بالإضافة إلى انخفاض قابلية هضم البروتينات وبالتالي عدم الاستفادة منها تغذوياً.

1-الإصابة بالأمراض وخاصةً أمراض سوء التغذية، والسمية الخلوية الناجمة عن نواتج عملية أكسدة البروتين وبالتالي من المهم تحديد طريقة المعالجة الحرارية الأنسب التي تحافظ على المواد المغذية بشكل أكبر.

يهدف هذا البحث إلى المقارنة بين الميكروويف والغلي (كطريقة طهي تقليدية) من حيث تحديد سويات أكسدة البروتين، ودراسة قابلية البروتين للحلمهة.

طرائق البحث ومواده

1 : المواد والأجهزة والأدوات:

- استخدم في انجاز هذا البحث الأجهزة الموضحة بالجدول (1) ومجموعة من المواد والمحلات كما هو موضح في الجدول (2)

الجدول (1): الأجهزة المستخدمة في الدراسة

الجهاز	الطراز
ميزان حساس ذوحساسية 0.0001غ	Precisa XB 220 A
مقياس الطيف الضوئي	Jasco v-530 UV
مثفلة أنابيب مخبرية سعة 10 مل	Labofuge 200 Heraeus
حمام مائي مزود بتقنية الأمواج فوق الصوتية	BANDELIN soronexDigitec
ميكروبيبيت Micropipette	Labkit (Chemelex, S.A., Spain)
ميكرويف Microwave	Wattar Lux (WAT26A)

الجدول (2) المواد المستخدمة في الدراسة

المادة	الشركة	المادة	الشركة
اليوريا	Merck, Germany	يود البوتاسيوم	Hemedia Laboratory
دي نتروفينيل الهيدرازين	Hemedia Laboratory	نينهيدرين	Merck, Germany
ثلاثي كلور حمض الخل	Merck, Germany	حمض الخل الثلجي	Surecheme products LTD
حمض كلور الماء	Surecheme products LTD	فوسفات أحادية الصوديوم	Labocheme
خلات الايتيل	Merck, Germany	فوسفات ثنائية الصوديوم	Labocheme
كحول مطلق	Sham lab, Syria	خلات الصوديوم	Hemedia Laboratory
حمض الأسكوربيك	Fluka, Germany	ايزوبروبانول	ROMIL, England
بروبيلين غليكول	TEKKIM, Turkey	ماء مقطر حديثاً	مخابر كلية الصيدلة
هيدروكسيد الصوديوم	TEKKIM, Turkey		

2 الاعتيان :

جُمعت عينات من حليب البقر الطازج من خمس مصادر مختلفة في مدينتي اللاذقية وطرطوس. حيث تم تقسيم الحليب من المصادر الخمسة إلى ثلاثة أقسام بحيث يكون حجم كل قسم 25 مل. حددت كل من سويات البروتين كربونيل وقابلية البروتين للحلمهة على القسم الأول بشكل مباشر في حين سُخِّن القسم الثاني على سخان كهربائي حتى لحظة الغليان (استغرق ذلك بضع دقائق) ثم بُرِّد بحمام مائي ليتم بعدها تحديد سويات البروتين كربونيل وقابلية البروتين للحلمهة، أما القسم الثالث فسُخِّن أيضاً حتى لحظة الغليان في الميكروويف (استغرق ذلك 50 ثانية)، وبُرد بعدها بحمام مائي ومن ثم تم إجراء التفاعلين السابقين.

تم تكرار كل تجربة ثلاث مرات وعبر عن النتيجة بالمتوسط الحسابي. أجريت هذه الاختبارات في الفترة الممتدة بين شهر آب 2017 وشهر آب 2019 في مخابر كلية الصيدلة – جامعة تشرين.

3 : الطرائق:

1.3 :دراسة أكسدة البروتين من خلال تحديد سويات البروتين كربونيل:

تم تحديد مشعر البروتين كربونيل وفق دراسة ليفان (Levine *et al.*,1990) وبناء على الدراسات المرجعية المماثلة (Zrekah *et al.*, 2017) مع بعض التعديلات بحيث طُبقت الخطوات التالية : سُحبت أخيذة من الحليب بحيث تحوي مايعادل 2 ملغ بروتين ثم تم ترسيب البروتين باستخدام محلول ثلاثي كلور حمض الخل Tri chloro acetic acid (TCA) (التركيز النهائي 10%)، والتثفيل بسرعة 4500 دورة/د لمدة 5 دقائق، وبعدها تُحضن الرسابة مع 2 مل من كاشف DNPH (0.01 M) في الظلام لمدة نصف ساعة مع مراعاة التثفيل كل عشر دقائق (بسرعة 4500 دورة/د لمدة 3 دقائق)، تلا ذلك مرحلة غسيل للرسابة ثلاث مرات باستخدام 1 مل من محلول الغسل المكون من مزيج خلات الايتيل : ايتانول (1:1) مع التثفيل في كل مرة وذلك للتخلص من بقايا كاشف DNPH الغير متفاعل. ثم حُلت الرسابة بإضافة 4 مل من محلول اليوريا (6 M) وقيست الامتصاصية عند طول موجة370 nm. أخيراً، تم التعبير

عن تركيز البروتين كربونيل كـ نانومول كربونيل/ ملغ بروتين بالاعتماد على معامل الامتصاص الجزيئي (22.000 $(M^{-1}cm^{-1}$

مع إجراء ثلاثة مكررات لكل عينة حليب مدروس (الحليب الطازج والحليب المحضر بالميكروويف والحليب المغلي تقليدياً) ومن ثم حُسب المتوسط الحسابي والانحراف المعياري.

2.3 تحديد كمية البروتين بالطريقة الطيفية عند طول موجة 280 nm :

حددت كمية البروتين في العينات المدروسة وكان ذلك بالتزامن مع تحديد البروتين كربونيل وذلك بأخذ كمية من الحليب تحوي 2 ملغ بروتين وترسيبه باستخدام محلول TCA (التركيز النهائي 10%)، ليتم بعدها حضن الرسابة مع 2 مل من محلول HCL (2N) لمدة نصف ساعة في الظلام مع مراعاة التثفيل كل عشر دقائق (بسرعة 4500 دورة /د لمدة 3 دقائق)، تبعها مرحلة الغسيل ثلاث مرات باستخدام 1 مل من محلول الغسل المكون من مزيج من خلات الايتيل : ايتانول (1:1)، حُلت الرسابة أخيراً بـ 4 مل من محلول الوقاء الفوسفاتي (0.1 N ، pH:7) وقيست الامتصاصية عند طول موجة 280 nm. حُضرت سلسلة عيارية من ألبومين المصل البقري بتراكيز (0.2 – 0.5 – 0.7 – 0.9 – 1.1 – 1.5) ملغ/مل وكانت المعادلة الخطية $y = 0.4353x + 0.1112$

أخيراً، تم حساب كمية البروتين بالتعويض بالمعادلة الخطية الناتجة.

3.3 دراسة قابلية بروتين الحليب للحلمهة من خلال إجراء الحلمهة الحمضية للبروتين ثم الاشتقاق بالنينهيدرين:

أجريت حلمهة جزئية للبروتين من خلال تسخينه مع حمض كلور الماء ومن ثم تحديد كمية المجموعات الأمينية المتحررة بنتيجة الحلمهة وهذا يعطي فكرة عن قابلية البروتين للحلمهة وعن قابليته للهضم في الجهاز الهضمي للانسان أيضاً.

أُخذت كمية من الحليب بحيث تحوي مايعادل 2 ملغ بروتين وتم ترسيب البروتين باستخدام محلول TCA (التركيز النهائي 10%) والتثفيل بسرعة 4500 دورة/د لمدة 5 دقائق، يُضاف بعدها للرسابة 5 مل من محلول HCL (6N) تلاها تسخين العينات في حمام مائي بالدرجة $100\ C^{\circ}$ لمدة ساعة، ثم عُدِّلت pH الوسط لتصبح ضمن مجال : [5– 5.5] باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم (2 M) ووقاء خلات الصوديوم بحجوم مناسبة.

بعد ذلك أُخذ 0.5 مل من كل أنبوب وأضيف لها 1 مل من محلول النينهيدرين والتسخين لمدة 5 دقائق في الماء المغلي ثم تركها 5 دقائق في حمام مائي بدرجة حرارة الغرفة، أُضيف 250 µl من الايزوبروبانول مع الانتظار 15 دقيقة، فتشكل لون بنفسجي قيست امتصاصيته عند طول الموجة 570 نانومتر.(Abboud and Mtaweg, 2013) تم إجراء ثلاثة مكررات لكل عينة حليب مدروس (الحليب الطازج والحليب المغلي بالميكروويف والحليب المغلي على حرارة مباشرة) ومن ثم حُسب المتوسط الحسابي والانحراف المعياري.

حضرت سلسلة عيارية للغليسين بتراكيز (0.05 – 0.07 – 0.11 – 0.18 – 0.2) µM وكانت المعادلة الخطية الناتجة $y = 3.708x + 0.069$. عُوضت الامتصاصية الناتجة لاحقاً بمعادلة السلسلة العيارية للغليسين.

4 التحليل الاحصائي :

تم الاعتماد على اختبار T- student الإحصائي باستخدام برنامج Microsoft Excel للتأكد من وجود فرق إحصائي هام بين سويات PCs العائدة لكل من عينات الحليب والعينات المغلية تقليدياً والعينات المعالجة بالميكروويف.

وأيضاً لدراسة وجود فرق إحصائي هام بين نسبة المجموعات الأمينية الحرة في العينات المذكورة سابقاً أثناء دراسة قابلية البروتين للحلمهة. وكان ذلك بالاعتماد على الـ P-value بحيث إذا كانت قيمة P-value أكبر من 0.05 فهذا يعني عدم وجود فرق إحصائي هام، أما إذا كانت قيمة P أصغر من 0.05 فهي تشير لوجود فرق إحصائي هام.

النتائج والمناقشة

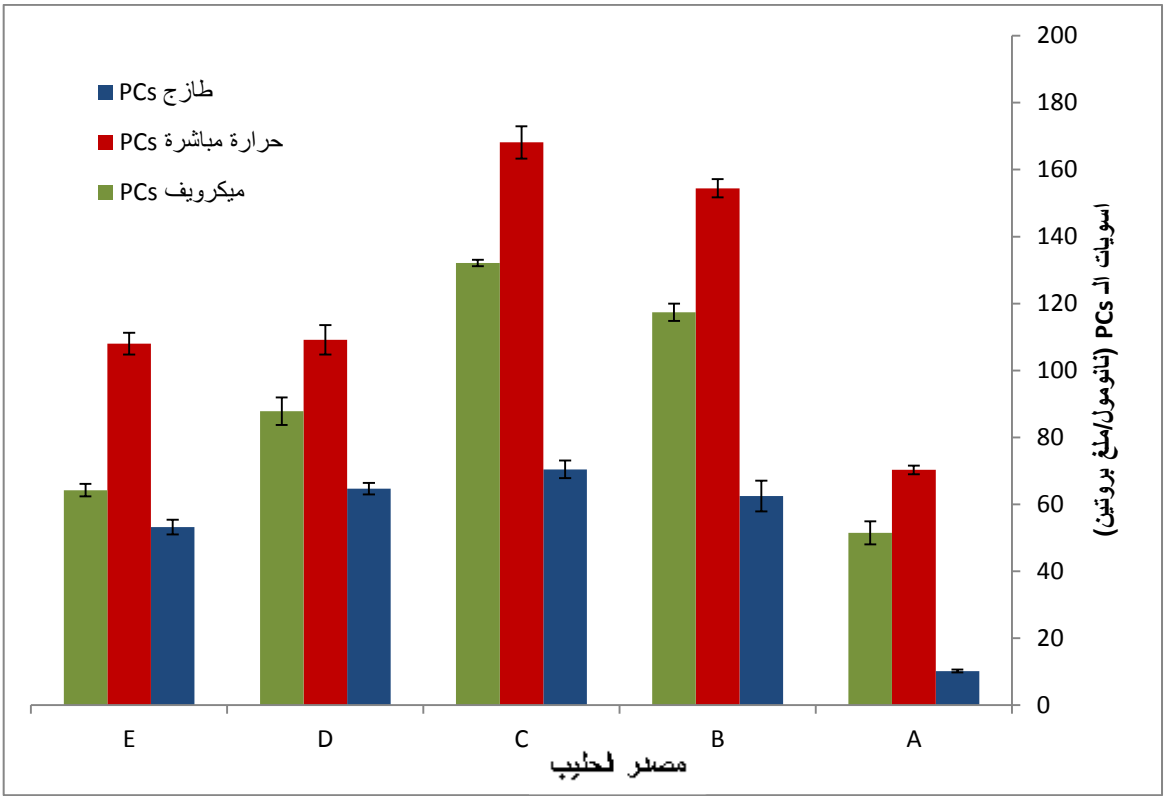
1 دراسة تأثير غلي الحليب بحرارة مباشرة وبالميكروويف على أكسدة البروتين:

يتبين من الشكل (1) وجود البروتين كربونيل في كل العينات المقاسة بما فيها عينات الحليب غير المعالج حرارياً (الطازج)، ويمكن أن يُعزى ذلك إلى قيام بعض المحال بحفظ الحليب في عبوات معقمة بالماء الأوكسجيني أو اختلاف بطرق التخزين والنقل قبل البيع وكل ذلك يؤدي إلى تحريض الأكسدة، بالإضافة إلى عدم معرفة الوقت الفاصل بين عملية حلب الحليب وبين بيعه في المحال، فالعامل الزمني مهم جداً في حدوث التفاعلات التأكسدية.

تراوحت قيم PCs في العينات المقاسة بين (10.2− 168.13 نانومول/ملغ بروتين) مع ملاحظة ارتفاع سويات PCs في كل من الحليب المغلي بحرارة مباشرة والحليب المسخن بالميكروويف بالمقارنة مع الحليب الطازج. يُلاحظ أيضاً تباين في هذه القيم بين المصادر الخمسة إذ تراوحت بالنسبة للحليب المغلي تقليدياً بين (70.29 – 168.13 نانومول/ملغ بروتين)، أما بالنسبة للحليب المحضر بالميكروويف فقد تراوحت بين (51.94 – 132.14 نانومول/ملغ بروتين).

كانت جميع قيم الـ P أصغر من 0.05 وهذا يؤكد وجود فوارق ذات دلالة إحصائية بين كل من سويات PCs في الحليب الطازج بالمقارنة مع الحليب المعالج بالغلي وبين سويات PCs في الحليب الطازج بالمقارنة مع الحليب المعالج بالميكروويف.

إن قيم البروتين كربونيل تعبر عن درجة أكسدة البروتين في الحليب، حيث أثبت الباحث Choudhary وزملاؤه عام 2017 وجود ارتباط إيجابي بين كل من شدة التسخين وتفاعل ميارد وتشكل البروتين كربونيل أيضاً، فلاحظوا ارتفاعاً في تراكيز البروتين كربونيل عند زيادة تسخين الحليب للوصول إلى الغليان وهذا ما يتوافق مع نتائج دراستنا الحالية.



الشكل (1): سويات الـPCs في كل من الحليب الطازج والحليب المعالج بالمايكروويف والحليب المغلي تقليدياً بحرارة مباشرة

يُعزى ارتفاع سويات PCs عند تسخين الحليب إلى عدة أسباب منها تشكل الجذور الحرة بتأثير الحرارة وزيادة حساسية المجموعات الأمينية الموجودة في السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية إلى هذه الجذور الحرة وبالتالي زيادة في تشكل PCs (Li *et al.*, 2019)، بالإضافة إلى أكسدة الدسم وخاصة تشكل الهيدروبيروكسيدات من أكسدة الأحماض الدسمة غير المشبعة والتي تسبب بدورها تشكل مجموعات الكربونيل على السلسلة الجانبية للبروتين (Estevez, 2011)

تمت المقارنة بين سويات PCs في الحليب المغلي بحرارة مباشرة والمعالج بالميكروويف بالاعتماد على P-value فكانت جميع القيم أصغر من 0.05 مما يدل على وجود فوارق ذات دلالة إحصائية أي أن سويات PCs في الحليب المعالج بالحرارة المباشرة أعلى من الحليب المسخن بالميكروويف، ويمكن تفسير ذلك بالزمن الأقصر اللازم للوصول إلى الغليان عند استخدام الميكروويف .

قام الباحث Li وزملاؤه عام 2019 بدراسة تأثير طرق تسخين الحليب على أكسدة البروتين فلاحظوا ازدياداً بمستويات البروتين كربونيل عند غلي الحليب وعند تسخينه بالميكروويف بمقارنته مع الحليب الطازج وزادت هذه القيم بزيادة زمن التسخين، كما كانت سويات PCs أعلى عند الغلي بالمقارنة مع الميكروويف وهذا يتوافق مع نتائج دراستنا الحالية، إلا أن الدراسة شملت مشعرات إضافية للأكسدة مثل ثنائي التيروزين ومجموعات التيول وبالمحصلة كان الضرر التأكسدي الكلي الحاصل على بروتين الحليب أكبر عند المعالجة بالميكروويف مما يؤكد أهمية التقييم الشامل لعملية الأكسدة.

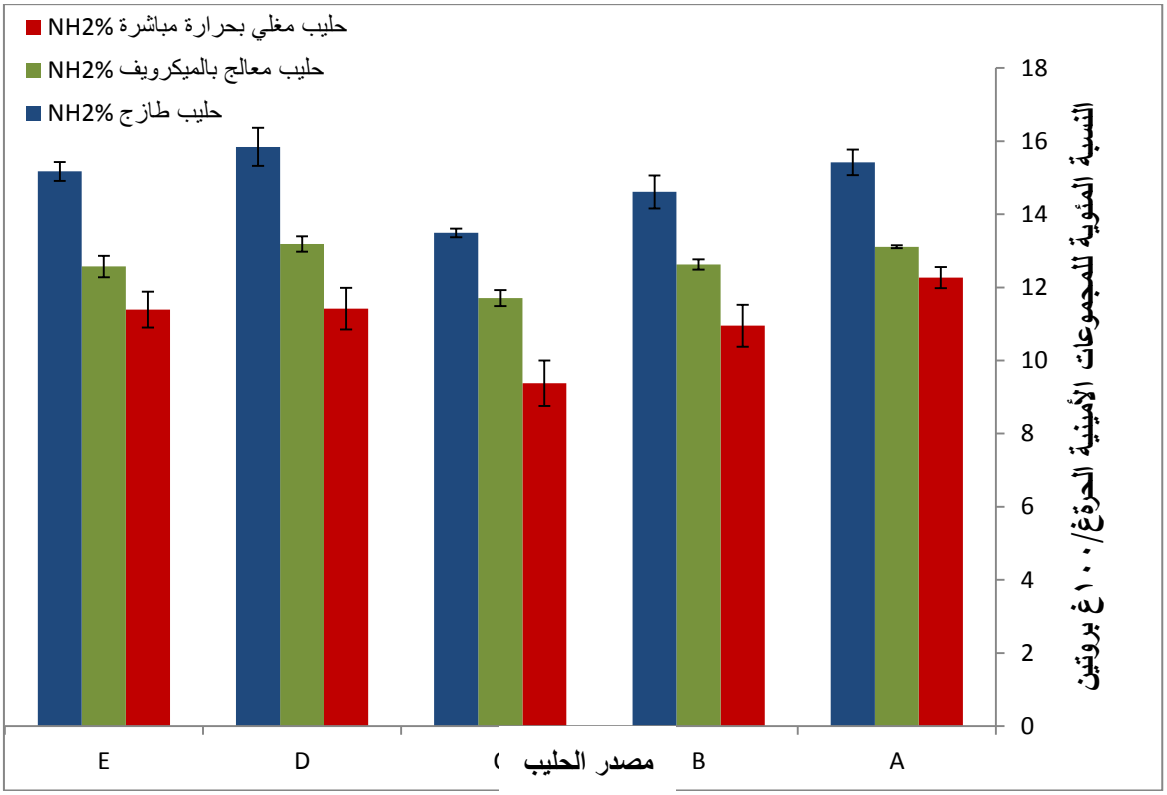
قارن أيضاً الباحث Semedo Tavares وزملاؤه عام 2018 تأثير طرق مختلفة للطهي من ضمنها الغلي على سويات PCs باستخدام عينات من لحم السمك، فلاحظوا إجمالا ازدياد سويات PCs عند المعالجة الحرارية واختلفت هذه الزيادة حسب طريقة الطهي المتبعة وتم ربط ذلك مع سويات أكسدة الدسم والتي تحفز بدورها أكسدة البروتين من

خلال الهيدروبيروكسيدات الناتجة عنها، فضلاً عن ذلك فإن الجذور الأوكسيجينية الحرة المتولدة خلال أكسدة الدسم تتفاعل مع المجموعات الأمينية على السلاسل الجانبية للبروتين محولةً إياها إلى مجموعات كربونيل.

3 دراسة تأثير غلي الحليب بحرارة مباشرة وبالميكرويف على قابلية البروتين للحلمهة :

يُلاحظ من الشكل (2) اختلاف بنسبة تحرر الأحماض الأمينية من بروتين الحليب الطازج حيث تراوحت نسبة المجموعات الأمينية الحرة (غ/100غ بروتين) بعد الحلمهة الجزئية من 13.49% إلى 15.84% واعتبرت هذه القيم كشاهد لدراسة تأثير المعالجة الحرارية على قابلية البروتين للحلمهة.

انخفضت نسبة المجموعات الأمينية الحرة في الحليب المعالج حرارياً سواء بطريقة تقليدية أو بالميكروويف، إذ تراوحت هذه النسبة عند غلي الحليب تقليدياً بحرارة مباشرة بين 9.38% و12.27% وهي أقل من القيم المسجلة للحليب الطازج وكانت P-value أقل من 0.05 مما يؤكد على أن انخفاض نسبة تحرر المجموعات الأمينية من البروتين نتيجة المعالجة الحرارية ذو دلالة إحصائية.



الشكل (2) : النسبة المئوية للمجموعات الأمينية المتحررة بعد الحلمهة للحليب الطازج والحليب المغلي بحرارة مباشرة والحليب المعالج بالميكروويف

كذلك كانت نسبة المجموعات الأمينية الحرة بعد الحلمهة في الحليب المسخن بالميكروويف أقل من نسبة المجموعات الأمينية الحرة في الحليب الطازج وتراوحت هذه النسب بين 11.71% و13.19% بفرق هام إحصائياً عن قيمها في الحليب الطازج حيث كانت جميع P-value أصغر من 0.05

يوضح الشكل (2) بأن تحرر المجموعات الأمينية من بروتين الحليب كان الأعلى في الحليب غير المعالج حرارياً بينما كان الأخفض في عينات الحليب المغلي بالحرارة المباشرة، كذلك أدى الميكروويف إلى انخفاض بتحرر المجموعات

الأمينية بالمقارنة مع الحليب الطازج (الشاهد) إلا أنه كان أفضل من الغلي من حيث تحرر المجموعات الأمينية بفرق ذو دلالة إحصائية فإن ($P<0.05$) وبالتالي قابليته للحلمهة والهضم أكبر، وهذا يتوافق مع نتائج أكسدة البروتين وسويات البروتين كربونيل المذكورة في (1.3) حيث كان الميكرويف أقل إحداثاً للأكسدة وسبب تشكلاً أقل لمجموعات الكربونيل من المعالجة الحرارية المباشرة (الغلي).

تعد حلمهة البروتين إلى أحماض أمينية وببتيدات الخطوة الأساسية في عملية الهضم والامتصاص (Deb-Choudhury *et al.*, 2014) لذلك يمكن اعتبار تحرر الأحماض الأمينية وزيادة المجموعات الأمينية الحرة أثناء الحلمهة الحمضية كمؤشر على قابلية البروتين للهضم Protein Digestibility.

يمكن تفسير تأثير المعالجة الحرارية على قابلية البروتين للحلمهة وبالتالي قابليته للهضم سواء كانت هذه المعالجة الحرارية مباشرة أو باستخدام الميكرويف، بحدوث تفاعل ميارد (والذي هو تفاعل بين مجموعة أمينية حرة لحموض أمينية كاللليزين والأرجينين ومجموعة كربونيل حرة لسكر مرجع كاللاكتوز) كنتيجة للمعالجة الحرارية وتأثيره على حلمهة البروتين، حيث تُحصر ثمالات الليزين وهذا يمنع أنزيم البروتياز في الجهاز الهضمي من تمييزه وكسر البروتين، كذلك فإن مشاركة ثمالات الليزين في تفاعل ميارد تسبب إعاقة فراغية وتعذر وصول الأنزيمات لمواقع الانقسام. (Van Lieshout et al., 2019)

كما يحرض تفاعل Glycation تشكل الارتباطات التصالبية وهي بدورها تخفض من قابلية وصول البروتياز لمواقع الانقسام في البروتين، حيث أن نواتج ميارد النهائية والروابط التصالبية المحرضة بميارد تقلل من قابلية البروتين للهضم والحلمهة. (Van Lieshout *et al.*, 2019)

من جهة ثانية يمكن أن تقلل أكسدة البروتين من قابلية البروتين للحلمهة حيث لوحظ أن ازدياد سويات البروتين كربونيل يترافق مع انخفاض قابلية البروتين للحلمهة وللهضم كنتيجة للمعالجة الحرارية (Van Lieshout *et al.*, 2019.

وبشكل عام فإن أكسدة البروتين على اختلاف أساليبها تسبب تغيرات هيكلية وفيزيوكيميائية مثل الارتباطات التصالبية وخسارة بمجموعات التيول وتشكل ثنائي التيروزين والبروتين كربونيل، كما تزداد خصائص سطح البروتين الكارهة للماء وهذا يترافق مع انخفاض بقابلية بروتين الحليب للحلمهة بالزجاج في كلٍ من الشروط المعدية والمعوية حسب الدراستين التاليتين (Chang and Zhao, 2012; Feng *et al.*, 2015).

بالمقارنة مع الدراسات المرجعية، قام الباحث Kaur وزملاؤه عام 2014 بدراسة تأثير المعالجة الحرارية على قابلية هضم بروتين لحم البقر، حيث تم تعريض العينات لحلمهة أنزيمية وبعدها الاشتقاق بالنينهيدرين فكانت النتيجة انخفاض نسبة المجموعات الأمينية الحرة بعد الحلمهة نتيجة المعالجة الحرارية (في اللحم النيء 17% و11% بعد التسخين للدرجة 100 °C لمدة 30 دقيقة) وهذا يتوافق مع دراستنا الحالية، وفُسر ذلك بحدوث تعديلات كيميائية على الأحماض الأمينية خلال المعالجة الحرارية وبشكل خاص تشكل الجسور الأميدية والروابط التصالبية التي تقلل من حساسية الأنزيمات الهاضمة لواقع ارتباطها على البروتين وهذا بدوره يؤثر على تحرر الأحماض الأمينية خلال الهضم.

تبين أن الأحماض الأمينية الأساسية في لحم البقر تكون أكثر حساسية للحرارة بالإضافة لزيادة قابليتها لتشكيل تكدسات Aggregations وللتعديلات التأكسدية بشكل خاص عندما تكون بشكلها المنحل وهذا مشابه لبروتينات الحليب خاصة لبروتينات المصل التي تتواجد بشكل منحل.(Deb-Choudhury *et al.*, 2014)

لاحظ الباحث Semedo Tavares وزملاؤه عام 2018 وجود ارتباط بين سويات البروتين كربونيل وبين قابلية البروتين للهضم حيث تبين انخفاض بقابلية الهضم والحلمهة عند زيادة سويات البروتين كربونيل عند دراسة تأثير طرق مختلفة لطهي لحوم الأسماك ومن بينها الغلي، وهذا يتوافق مع الدراسة الحالية ومع ماتوصل إليه الباحث Van Lieshout وزملاؤه عام 2019.

درس الباحث Xiang وزملاؤه عام 2020 تأثير الميكروويف على بروتين الغلوتين من حيث الهضم والتوافر الحيوي، فتبين تشكل روابط تصالبية ضمن الجزيئات وبين بعضها البعض أيضاً وهذا سبب زيادة في تشكل التكدسات Aggregations، وزادت هذه التعديلات بزيادة زمن التسخين بالميكروويف ليؤدي ذلك إلى انخفاض قابلية البروتين للهضم وانخفاض بالأحماض الأمينية الحرة والمتاحة للتوافر الحيوي.

تدعم نتائجنا الحالية أفضلية استخدام الميكروويف كطريقة للتسخين والطهي حيث كانت سويات PCs أقل من الغلي باستخدام الحرارة المباشرة، وكانت قابلية البروتين للحلمهة أعلى لكن هذا لا يشير بالضرورة إلى عدم تأذي باقي المغذيات بتأثير الميكروويف وهذا يحتاج إلى المزيد من الدراسات.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

- أكسدة البروتين نتيجة المعالجة الحرارية للحليب حيث ترتفع سويات PCs في كل من طريقتي المعالجة الغلي والميكروويف عند مقارنتها مع الحليب الطازج.
- سويات PCs عند استخدام الميكروويف أقل من تلك المسجلة عند الغلي التقليدي.
- التحرر الأعلى المجموعات الأمينية من بروتين الحليب كان في الحليب غير المعالج حرارياً.
- انخفاض تحرر المجموعات الأمينية من بروتين الحليب بعد معالجته حرارياً سواء بالغلي أو بالميكروويف وبالتالي قابلية أقل للحلمهة بالمقارنة مع بروتين الحليب الطازج.
- بروتين الحليب المعالج بالميكروويف أكثر قابلية للحلمهة من بروتين الحليب المعالج بالغلي التقليدي، حيث سُجلت سويات تحرر المجموعات الأمينية الأدنى عند الغلي، فيما أدى الميكروويف إلى تحرر نسبة أعلى من هذه المجموعات عند مقارنته مع الغلي.

التوصيات

تطوير طرق معالجة حرارية أقل إحداثاً للتغيرات الكيميائية على البروتين .

1. متابعة دراسة تأثير الميكروويف على المغذيات الأخرى.
2. متابعة دراسة أكسدة البروتين بتأثير المعالجة الحرارية بشكل أشمل من خلال تحديد مشعرات تأكسدية أخرى.
3. متابعة دراسة حلمهة البروتين وقابليته للهضم من خلال اجراء الحلمهة الأنزيمية لمحاكاة عملية الهضم في الجسم الحي.
4. متابعة دراسة قابلية البروتين للهضم في حيوانات التجربة.

Reference

1. ABBOUD,A; MTAWEG,A. *Content control of some commercial products containing amino acid available in the local market.* Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series, Vol.35, No.3, 2013, 213-228.
2. BORAD,S.G; KUMAR,A; SINGH,A.K. *Effect of processing on nutritive values of milk protein*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Vol.57, No.17, 2017, 3690-3702.
3. BOUHAMED,S.B; KECHAOU,N. *Kinetic study of sulphuric acid hydrolysis of protein feathers*. Bioprocess Biosyst Eng,Tunisia, 2017.
4. CHANG,C.H; ZHAO,X.H. *In vitro digestibility and rheological properties of caseinates treated by an oxidative system containing horseradish peroxidase, glucose oxidase and glucose*. International Dairy Journal, China, Vol.27 , 2012, 47-52.
5. CHOUDHARY,S; ARORA,S; KUMARI,A; NARWAL,V; SHARMA,V. *Effect of quality of milk on maillard reaction and protein oxidation during preparation of cow and buffalo milk khoa*. J Food Sci Technol, India, 2017.
6. DEB-CHOUDHARY,S; HAINES,S; HARLAND,D; CLERENS,S; KOTEN,C; DYER,J. *Effect of Cooking on Meat Proteins: Mapping Hydrothermal Protein Modification as a Potential Indicator of Bioavailability*. J. Agric. Food Chem, Vol.62, 2014, 8187-8196.
7. ESTEVEZ,M. *Protein carbonyls in meat systems: A review*. Meat Science, Spain, Vol.89, 2011, 259-279
8. ESTEVEZ,M; LUNA,C. *Dietary protein oxidation: A silent threat to human health?*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr, Spain, Vol.57, 2017, 3781-3793.
9. FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Dairy pro- duction and product*, 2016. Retrieved from http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-and-milk-products/en/#.VuL1rLnSnrd/.
10. FENG,X; LI,C; ULLAH,N; CAO,J; LAN,Y; GE,W; HACKMAN,R.M; LI,Z; CHEN,L. *Susceptibility of whey protein isolate to oxidation and changes in physicochemical, structural, and digestibility characteristics.* Journal of Dairy Science, Vol.98, No.11, 2015, 1-12.
11. FRIEDMAN,M. *Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol.52, 2004, 385- 406.
12. HELLWIG,M. A*nalysis of Protein Oxidation in Food and Feed Products*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020.
13. KAUR,L; MAUDENS,E; HAISMAN,D.R; BOLAND,M.J; SINGH,H. Microstructure and protein digestibility of beef: The effect of cooking conditions as used in stews and curries. LWT - Food Science and Technology, Vol.55, 2014, 612-620.
14. KIM,E; COELHO,D; BLACHIER,F. Review of the association between meat consumption and risk of colorectal cancer**.** Nutrition Research, Vol.33, 2013, 983-994.
15. LEVINE, R. L; GARLAND,D; OLIVER,C.N; AMICI,A; CLIMENT,I; LENZ,A; AHN, B-W; SHALTIEL,S; STADTMAN,E.R. *Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins*. Methods Enzymol. Vol.186, 1990, 464-478.
16. LI,B; MO,L; YANG,Y; ZHANG,S; XU,J; GE,Y; XU,Y; SHI,Y; LE,G. *Processing milk causes the formation of protein oxidation products which impair spatial learning and memory in rats*. The Royal Society of Chemistry, China, 9 , 2019, 22161–22175

17. MARTINS,C.P; CAVALCANTI,R.N; COUTO,S.M; MORAES,J; ESMERINO,E.A; SILVA,M; RAICES,R.S; GUT,J.A; RAMASWAMY,H.S; TADINI,C.C; CRUZ,A.G. *Microwave Processing: Current Background and Effects on the Physicochemical and Microbiological Aspects of Dairy Products*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Brazil, Vol.18, 2019, 67-83.

18. SALAZAR-GONZALEZ,C; MARTIN-GONZALEZ,M.F; LOPEZ-MALO,A; SOSA-MORALES,M.E. *Recent studies related to microwave processing of fluid foods*. Food and Bioprocess Technology,Vol *5*, 2012, 31–46.

19.SEMEDO TAVARES,W.P; DONG,S; YANG,Y; ZENG,M; ZHAO,Y. *Influence of cooking methods on protein modification and in vitro digestibility of hairtail (Thichiurus lepturus) fillets.* LWT - Food Science and Technology, China, Vol.96, 2018, 476-481.

20. VAN LIESHOUT,G.A; LAMBERS,T.T; BRAGT,M.C; HETTINGA,K.A. *How processing may affect milk protein digestion and overall physiological outcomes*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, the Netherlands, 2019.

21. XIANG,S; ZOU,H; LIU,Y; RUAN,R. *Effects of microwave heating on the protein structure, digestion properties and Maillard products of gluten*. J Food Sci Technol, India,Vol.57, 2020, 2139-2149.

22. YONG,W; AMIN,L; DONGPO,C. *Status and prospects of nutritional cooking.* Food Quality and Safety, China, Vol 3, 2019, 137-143.

23. ZREKAH,G; AL.DIAB,D; ABBOUD,A. *Determination of protein and fat oxidation levels in imported infant formula available in Syria*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol.8, 2016, 169-172.