



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العالي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

كلية التكنولوجيا

مذكرة نهاية الدراسة لنيل شهادة

ماستر أكاديمي

ميدان : التكنولوجيا

شعبة: هندسة الطرائق

تخصص: هندسة كيميائية

إعداد الطالبات:

بريك رونق

الأشهب منال

غنابزبة رندة

الموضوع

إستخلاص وإستخدام البروتينات النباتية كمصدر مستدام

نوقشت يوم: 13 / 06 / 2022 أمام اللجنة المكونة من:

د. رجب يوسف أستاذ مساعد ب جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي رئيسا

د. محمد الطيب وصيف خالد أستاذ محاضر أ جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي مناقشا

د. بن الصغير البشير أستاذ مساعد ب جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي مؤطرا

السنة الجامعية: 2022/2021

الإهداء

أهدي هذا العمل المتواضع إلى من منحني التحدي والمثابرة ومصدرا دعمي أُمي الغالية **بوغزالة حمد صليحة** التي كانت ينبوع العطاء التي حاكت سعادتي بخيوط منسوجة من قلبها ولا تكفيها كل كلمات الثناء والشكر وإلى أبي العزيز **بريك بدر** الذي كلت أنامله ليقدّم لنا لحظة سعادة وحصد الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم اطال الله في أعمارهما والى كل من ساعدني في إتمام هذا العمل تقديرا وعرفانا بالجميل.

رونق

الحمد لله وكفى والصلاة على الحبيب المصطفى وأهله ومن وفى أما بعد:

الحمد لله الذي وفقنا لتتمين هذه الخطوة في مسيرتنا الدراسية بمذكرتنا هذه ثمرة الجهد والنجاح بفضلته تعالى مهداة إلى أُمي الغالية **فريدة سليمان** وأبي الغالي **الأشهب مصباح** حفظهما الله وأدانهما نورا لدربي ولكل روح شاركتني بدعائها وكل من أعانني ولو بكلمة طيبة لهم الشكر الجزيل.

منال

أهدي ثمرة جهدي إلى الوالدين الكريمين وإلى زوجي ورفيق دربي **بحري مكي** وإلى بناتي العزيزات **عبير** و**أسيل** الذين كانوا لي نعم السند في مسيرتي العلمية والبحثية وإلى كل من ساعدني ودعمني في إتمام هذا العمل.

رندة

شكر و عرفان

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أشرف الأنبياء والمرسلين سيدنا محمد عليه وعلى آله وصحبه أفضل الصلاة وأزكى التسليم، فلك الشكر والحمد ربي حتى ترضى ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضى.

يجدر بنا في هذا المقام أن نتقدم بالشكر الجزيل والإمتنان و العرفان لكل من مد يد العون والمساعدة وفي مقدمتهم أستاذنا الفاضل **الدكتور بن الصغير البشير** الذي تشرفنا بإشرافه على هذا العمل وكانت لملاحظاته القيمة وتوجيهاته السديدة ومعاملته الكريمة الأثر الكبير في وصول العمل إلى هذه الصورة فله عظيم شكرنا وتقديرنا وجزاه الله عنا خير الجزاء.

كما أشكر أعضاء اللجنة المناقشة قبولها لمناقشة هذا العمل بداية برئيسها والمناقشين.

كما أتوجه بأرقى عبارات الشكر والعرفان إلى كل من ساعدنا من قريب وبعيد في إنجاح هذا العمل وخاصة طاقم الأساتذة وأخص بالذكر

مدير وحدة تطوير الطاقات المتجددة في المناطق القاحلة بجامعة الشهيد حمه لخصر بالوادي **الدكتور محمد طيب وصيف خالد والدكتور ربيعي عبد الكريم والدكتورة همامي هادية والأستاذة بن عمر إلهام والدكتورة زغود سمية.**

قائمة الأشكال

الصفحة	الشكل
الجزء النظري	
الفصل الأول: عموميات حول البروتينات	
7	الصيغة الكيميائية العامة للحمض الأميني الشكل (1-I)
13	ثنائية بيتيد الشكل (2-I)
18	التركيب الأولي للبروتين الشكل (3-I)
19	التركيب اللولبي للبروتين الشكل (4-I)
20	تركيب الصفيحة المطوية للبروتين الشكل (5-I)
20	الهيكل اللولبي الثلاثي الشكل (6-I)
21	تركيب ثلاثي للبروتين الشكل (7-I)
22	التركيب الرباعي الشكل (8-I)
الفصل الثاني: طرق استخلاص البروتين	
31	كروماتوغرافيا التبادل الأيوني الشكل (1-II)
32	كروماتوغرافيا التقارب الشكل (2-II)
33	ذوبانية البروتين الشكل (3-II)
34	كروماتوغرافيا الأغشية الشكل (4-II)
34	كروماتوغرافيا الترسيب الشكل (5-II)
الجزء العملي	
الفصل الثالث: المواد والطرق	
41	يوضح الذرة الصفراء الشكل (1-III)
41	حبات الذرة الشكل (2- III)
42	الذرة بعد الطحن الشكل (3- III)
43	مخطط يوضح طريقة إستخلاص هلام البروتين الشكل (4-III)
44	مخطط يوضح تحضير البلاستيك الحيوي الشكل (5- III)
45	مراحل تحضير فيلم البلاستيك بإضافة النشاء الشكل (6- III)
46	مراحل تحضير فيلم البلاستيك الحيوي بإضافة سكر (غلوكوز) الشكل (7- III)
46	ترسيب البروتين وتنقيته الشكل (8- III)
48	جهاز التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء الشكل (9- III)

قائمة الأشكال

49	جهاز التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية	الشكل (III-10)
50	يمثل مبدأ حيود الأشعة السينية بواسطة المستويات الشبكية للمؤشرات	الشكل (III-11)
الفصل الرابع: .النتائج والمناقشة		
56	طيف الأشعة تحت الحمراء لبروتين الزين	الشكل (IV-1)
57	طيف الأشعة السينية (XRD) للهلام المستخلص	الشكل (IV-2)
59	طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV-VIS) للهلام المستخلص	الشكل (IV-3)
59	يوضح طريقة الكشف عن هلام البروتين	الشكل (IV-4)
61	هيكل بروتين الزين	الشكل (IV-5)

قائمة الجداول

الصفحة	الجدول
الجزء النظري	
الفصل الأول: عموميات حول البروتينات	
8	الجدول (1-I) أحماض أمينية ذات سلاسل قطبية كارهة للماء
9	الجدول (2-I) يوضح سلاسل طرفية غير مشحونة ومحبة للماء
11	الجدول (3-I) يوضح سلاسل طرفية مشحونة بشحنة موجبة
11	الجدول (4-I) يوضح سلاسل طرفية مشحونة بشحنة سالبة
الجزء العملي	
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	
58	الجدول (1-IV) يوضح قطر بروتين الزين المستخرج من الذرة الصفراء باستخدام معادلة Bragg
60	الجدول (2-IV) يمثل نسبة الرطوبة ومؤشر الإنتفاخ للعينات

قائمة الرموز

الرمز	المعنى
SDS	Sodium Dodecyl-Sulfate
MF	الترشيح الدقيق
UF	الترشيح الفائق
FTIR	جهاز الأشعة تحت الحمراء
Rayon-X	الأشعة السينية
UV-VIS	الأشعة المرئية فوق البنفسجية
ml	وحدة قياس الحجم
g	الغرام وحدة قياس الكتلة
M	المولارية
m	الكتلة
v	الحجم
c	التركيز
mol	المول
C°	قياس درجة الحرارة
%	نسبة مئوية
Cm ⁻¹	وحدة السنتيمتر ناقص واحد
λ	طول الموجة
n	عدد صحيح
θ	زاوية حدوث الأشعة السينية
dhkl	المسافة بين شبكية الشبكة البلورية
ρ	الكثافة
Cm	وحدة السنتيمتر
Cm ³	وحدة السنتيمتر مكعب
Wf	الوزن في النهاية
Wi	الوزن في البداية
T	درجة الحرارة

الصفحة	العنوان
	الإهداء
	التشكرات
	قائمة الأشكال
	قائمة الجداول
	قائمة الرموز
	الفهرس
1	المقدمة العامة
	الجزء النظري
	الفصل الأول: عموميات حول البروتينات
6	مقدمة
6	1.I. الأحماض الأمينية
6	1.1.I. تعريف الأحماض الأمينية
7	2.1.I. تصنيف الأحماض الأمينية
7	1.2.1.I. على حسب عدد الوظائف الأمينية والكاربوكسيلية المتواجدة في الحمض الأميني
8	2.2.1.I. على حسب المجاميع R في الماء عند: pH=7
8	1.2.2.1.I. أحماض أمينية ذات سلاسل قطبية كارهة للماء
9	2.2.2.1.I. أحماض أمينية ذات سلاسل طرفية غير مشحونة ومحبة للماء
11	3.2.2.1.I. أحماض أمينية ذات سلاسل طرفية مشحونة بشحنة موجبة
12	4.2.2.1.I. أحماض أمينية ذات سلاسل طرفية مشحونة بشحنة سالبة
12	3.1.I. الخصائص الفيزيائية والكيميائية للأحماض الأمينية
13	2.I. الببتيدات
13	1.2.I. تعريف الببتيدات
13	2.2.I. أنواع الببتيدات
13	1.2.2.I. الببتيدة الثنائية
14	2.2.2.I. الببتيدة الثلاثية: Tripeptide
14	3.2.2.I. عديد الببتيد: polypeptide
14	3.I. البروتينات
14	1.3.I. تعريف البروتينات
15	2.3.I. تصنيف البروتينات

15	1.2.3.I البروتينات البسيطة: simple proteins
15	2.2.3.I البروتينات الليفية : Fibrous proteins
15	3.2.3.I البروتينات الكروية: Globular proteins
16	4.2.3.I البروتينات المرتبطة (المقترنة): Conjugated proteins
16	5.2.3.I البروتينات المشتقة: Derived proteins
17	3.3.I هيكل الكيميائي البروتين ووظيفته
18	1.3.3.I التركيب الأولي
18	2.3.3.I التركيب الثانوي
18	1.2.3.3.I الهيكل اللولبي ألفا
19	2.2.3.3.I الصفيحة المطوية
20	3.2.3.3.I منحنى حلزون ثلاثي
21	3.3.3.I التركيب الثلاثي
21	3.3.3.I التركيب الرابعي
22	4.3.I الخصائص الفيزيائية والكيميائية للبروتينات
22	1.4.3.I الكتلة المولية
22	2.4.3.I الذوبانية
23	3.4.3.I للزوجة
23	5.3.I تطبيقات البروتينات
24	خلاصة الفصل
25	مراجع الفصل الأول
الفصل الثاني: طرق إستخلاص البروتين	
28	مقدمة
28	1.II إستخلاص البروتين وتنقيته
28	2.II العوامل المؤثرة في إستخلاص البروتين
28	1.2.II مصدر المادة الخام
29	2.2.II طبيعة المادة الخام
29	3.2.II نوع البروتين (خصائص الذوبان)
30	3.II طرق إستخلاص البروتين
30	1.3.II الكروماتوغرافيا
30	1.1.3.II كروماتوغرافيا التبادل الأيوني (IEC)

31	2.1.3.II. كروماتوغرافيا التقارب
32	2.3.II. الذوبانية
33	3.3.II. كروماتوغرافيا الأغشية
34	4.3.II. كروماتوغرافيا الترسيب
34	4.II. خصائص هيكل البروتين ووظيفته
35	خلاصة الفصل
36	مراجع الفصل الثاني
	الجزء العملي
	الفصل الثالث: المواد و الطرق
40	III. المواد و الأجهزة المستعملة
40	1.III. المواد
40	2. III. الأجهزة المستعملة
41	3. III. خطوات العمل
41	1.3.III. تجميع الذرة الصفراء
42	2.3.III. طحن الذرة
42	3.3.III. تحضير المحاليل الكيميائية
42	4.3.III. إستخلاص البروتين الزين
43	5.3.III. تحضير البلاستيك الحيوي
46	6.3.III. ترسيب البروتين وتنقيته
47	4. III. تقنيات التوصيف
47	1.4.III. مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR
47	1.1.4.III. تعريف
47	2.1.4.III. مبدأ العمل
48	2.4.III. جهاز مطيافية الأشعة المرئية فوق البنفسجية (UV-Vis)
48	1.2.4.III. تعريف
49	2.2.4.III. مبدأ العمل
49	3.4.III. الأشعة السينية DRX
49	1.3.4.III. تعريف
49	2.3.4.III. مبدأ العمل
50	5.III. تحديد خصائص البروتين الحيوي
51	1.5.III. قابلية الذوبان
51	2.5.III. محتوى الرطوبة
51	3.5.III. معدل الإنتفاخ
53	مراجع الفصل الثالث

الفصل الرابع: النتائج و المناقشة	
56	IV. دراسة خصائص العينات
57	1.IV. تحليل بواسطة الأشعة تحت الحمراء FTIR
58	2.IV. تحليل بواسطة الأشعة السينية: Rayon-X
59	3.IV. تحليل الأشعة المرئية فوق البنفسجية: UV-ViS
59	4.IV. كشف عن هلام البروتين
60	5.IV. حساب نسبة الرطوبة ومعدل الانتفاخ
61	6.IV. تركيبة بروتين الزين
62	7.IV. حساب مردود البروتين المستخلص
63	مراجع الفصل الرابع
65	الخاتمة العامة
	الملاحق

المقدمة العامة

المقدمة:

يعتمد الإنسان منذ القدم على الطبيعة من أجل توفير احتياجاته الأساسية على الرغم من أن البروتينات المشتقة من الحيوانات تشكل غالبية البروتين الذي نستهلكه، إلا أن البروتينات المشتقة من النباتات يمكن أن تلبي نفس المتطلبات^[1] كما يساهم البروتين النباتي بشكل كبير كمورد غذائي لأنه يحتوي على أحماض أمينية أساسية لتلبية متطلبات الإنسان، تعد مصادر البروتين المستدامة كالحبوب والبقوليات والبذور الزيتية، لهذا نحتاج إلى معرفة خصائصها الغذائية وإستغلالها كمصدر مستدام^[2].

إزداد الإهتمام العالمي في السنوات الأخيرة لإستخدام البروتينات النباتية كمواد مكونة للتغليف وقابلة للأكل بسبب الخطر مواد التعبئة والتغليف المصنوعة من المواد الخاملة واللدائنية غير قابلة للتحلل فضلا عن مخاطرها السمية والمرضية على صحة المستهلك^[3].

كما يعد البروتين الزين من أهم البروتينات النباتية ولذلك تهدف هذه الدراسة إلى إستخلاص الزين من جلوتين الذرة الصفراء وإستعماله في تحضير مواد تغليف قابلة للأكل، في هذا الصدد إرتأينا في هذه الدراسة أن نساهم في تحسين إستخلاص البروتين الزين من الذرة، لإستخدامه في تشكيل البلاستيك الحيوي كمصدرا مستداما ومفيدا لتكوين منتجات جديدة لها قيمة تجارية مهمة في الكثير من المجالات.

كان من الأحسن تلخيص كل هذا وتثمينه في هذه المذكرة وقد تمت هذه العملية وفق مراحل قسمت

إلى أربعة فصول تضمنت العناوين التالية:

❖ **الفصل الأول:** يتضمن عموميات حول البروتينات؛ من حيث التصنيف والتركيبية والخصائص.

❖ **الفصل الثاني:** طرق إستخلاص البروتين؛ وقد تطرقنا إلى أهم الطرق التي يمكن إستخدامها

لإستخراج البروتينات النباتية.

❖ **الفصل الثالث: المواد والطرق؛** لقد تناولنا في هذا الفصل إلى كيفية إستخلاص هلام البروتين، وكيفية تحضير البلاستيك الحيوي إنطلاقا من هلام المستخلص وطرق الكشف عنه وكذلك خصائص البلاستيك الحيوي.

❖ **الفصل الرابع: النتائج والمناقشة؛** وفي هذا الفصل تطرقنا إلى دراسة خصائص العينات بواسطة UV-ViS، Rayon-X، FTIR .

وفي الأخير نعرض مدى تحقيق الأهداف المرجوة من هذه الدراسة في إستخلاص البروتين الزين من الذرة الصفراء لإستخدامه في تشكيل البلاستيك الحيوي، وهذا ما تأكده النتائج المتحصل عليها.

المراجع العربية

[3] ا.م. بشير, التعبئة والتغليف في التصنيع الغذائي, وزارة التعليم العالي والبحث العلمي, جامعة الموصل, العراق, دار الكتب للطباعة والنشر, 1987.

المراجع الأجنبية

[1] S. Nadathur, J.P. Wanasundara, L. Scanlin, Sustainable protein sources, Academic Press, 2016.

[2] J.Y. Nehete, R.S. Bhambar, M.R. Narkhede, S.R. Gawali, Natural proteins: Sources, isolation, characterization and applications, Pharmacognosy reviews, 7.107 (2013)

الجزء النظري

الفصل الأول:

عموميات حول البروتينات

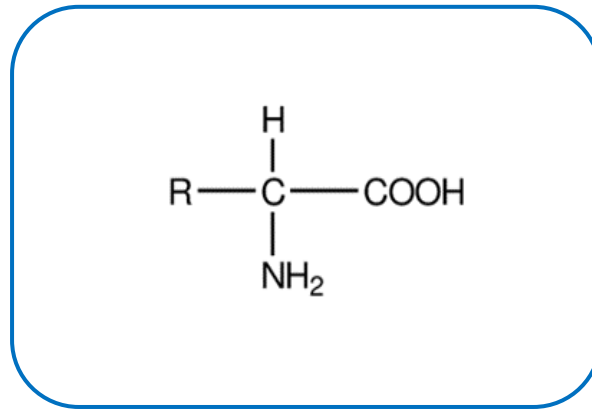
مقدمة:

حاول عدد من العلماء في القرن الثامن عشر دراسة طبيعة المواد الحيوانية والنباتية ومنهم العالم الفرنسي Denis Papin (1648-1712م) الذي وضع الأسس لدراسة المواد البروتينية إذ كان يطلق على هذه المواد الحيوانية إسم المواد الزلالية Albuminous بعدها جاء العالم الدانمركي Gerardus Mulder (1802-1882م) الذي كان أول من أطلق على هذه المواد إسم البروتين Proteins^[1] و هي مركبات كيميائية حيوية مكونة من وحدات بناء هي الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها بروابط ببتيدية تختلف في درجة التعقيد، العدد، وطريقة إرتباطها، كما أن هذه الأحماض تختلف في الوظيفة، وأيضاً في كان الواحد من عضو لأخر، إذ تحتوي هذه الأخيرة على النيتروجين بسبب هذه الحقيقة يتم تمييز البروتين عن المركبات الأخرى وهي موجودة وموزعة في جميع أنحاء أنسجة كل من النباتات والحيوانات، كما تعتبر مصدر مهما للتغذية بإعتبارها من أهم مصادر البروتين وهي ضرورية جداً للحياة^[2].

1.1. الأحماض الأمينية:

1.1.1. تعريف الأحماض الأمينية:

تعتبر الأحماض الأمينية ضمن المكونات الأساسية لجميع الأغذية ومع ذلك فإنه يوجد إختلافا كبيرا في محتواها؛ وهي توجد كمتكون أساسي في تكوين البروتينات النباتية، وهي عبارة عن مركبات عضوية ذات أوزان جزيئية منخفضة تتراوح ما بين 100-200 وتحتوي على الأقل على مجموعة كربوكسيل واحدة (-COOH) ومجموعة أمين واحدة (-NH₂) كما هو موضح في (الشكل I-1)؛ وترجع الإختلافات بين الأحماض الأمينية المختلفة إلى طبيعة مجموعات السلاسل الجانبية (-R) والتي لها أهمية أساسية وتميز كل حمض أميني عن الآخر وتبنى البروتينات في الطبيعة على عشرون حمض أميني والتي تنتج من التحلل الكامل للبروتين، أو التصنيع بالطرق الكيمياوية^[3].



الشكل (1-I): الصيغة الكيميائية العامة للحمض الأميني.

2.1.I. تصنيف الأحماض الأمينية:

هناك العديد من الطرق لتصنيف الأحماض الأمينية إلا أن أهم الطرق المستعملة لتصنيف

الأحماض الأمينية هي:

1.2.1.I. على حسب عدد الوظائف الأمينية والكربوكسيلية المتواجدة في الحمض الأميني:

أحماض أمينية متعادلة تحتوي على مجموعة أمينية واحدة ومجموعة كربوكسيلية واحدة.

❖ أحماض أمينية قاعدية: تحتوي في تركيبها البنائي على عدد من الوظائف الأمينية أكثر من عدد

الوظائف الكربوكسيلية.

❖ أحماض أمينية حامضية: تحتوي في تركيبها البنائي على عدد من الوظائف الكربوكسيلية أكثر

من عدد الوظائف الأمينية[4].

2.2.1. I. على حسب المجاميع R في الماء عند: pH=7

تعد هذه الطريقة من أفضل الطرق لتصنيف الأحماض الأمينية حيث ينقسم هذا التصنيف إلى أربعة

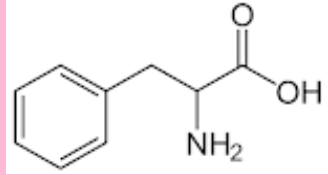
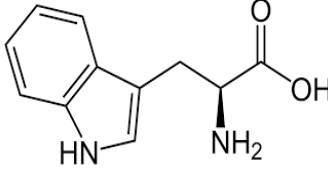
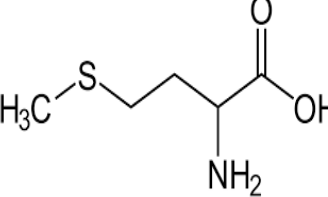
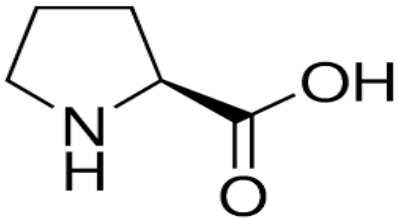
أقسام:

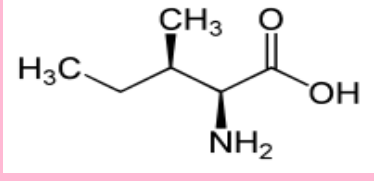
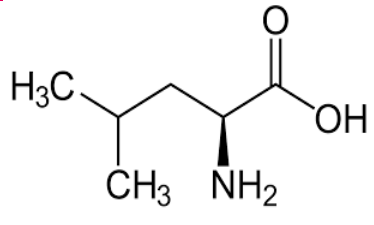
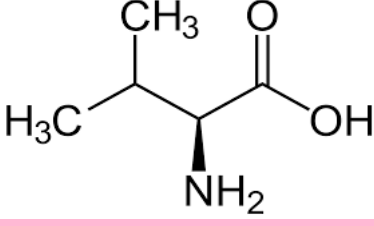
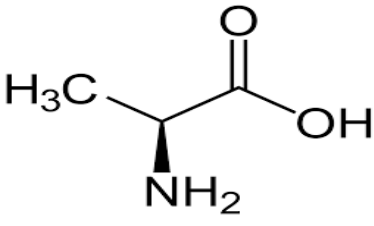
1.2.2.1. I. أحماض أمينية ذات سلاسل قطبية كارهة للماء:

هذه الأحماض قليلة الذوبان في وتشمل الأحماض الأمينية التالية كما هو موضح في **(الجدول I)**

(1-

(الجدول I-1): أحماض أمينية ذات سلاسل قطبية كارهة للماء.

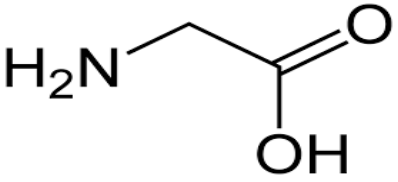
الإسم المختصر	الصفة الكيميائية	الإسم	الصيغة البنائية
Phe	متعادل	phenylalanine	
TRY	متعادل	Tryptophane	
Met	متعادل	Methionine	
Pro	متعادل	Proline	

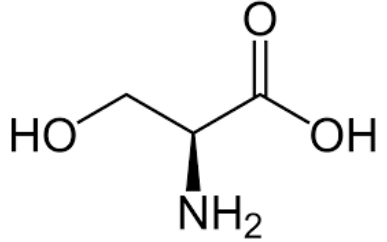
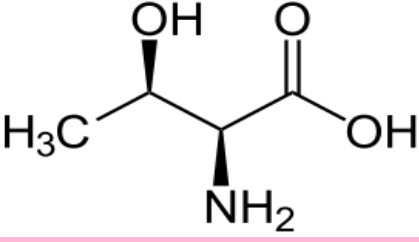
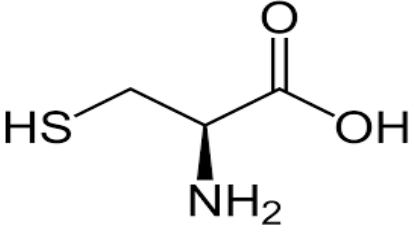
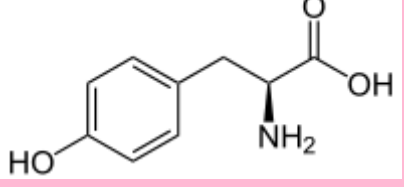
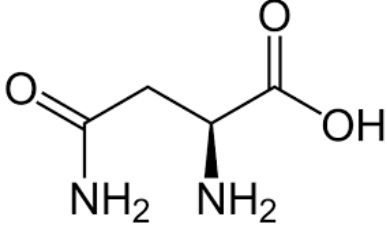
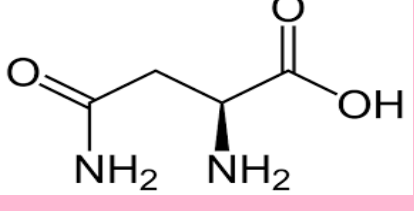
Iso	متعادل	Isoleucine	
Leu	متعادل	Leucin	
Val	متعادل	Valine	
Ala	متعادل	Alanine	

I. 2.2.2.1. أحماض أمينية ذات سلاسل طرفية غير مشحونة ومحبة للماء:

تشمل الأحماض الأمينية التالية كما هو مبين في الجدول (2-1).

الجدول (2-1): يوضح سلاسل طرفية غير مشحونة ومحبة للماء.

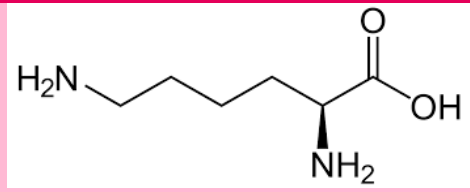
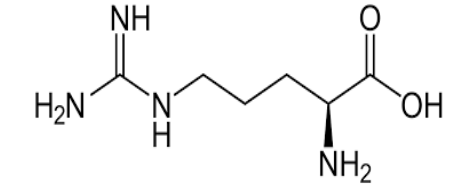
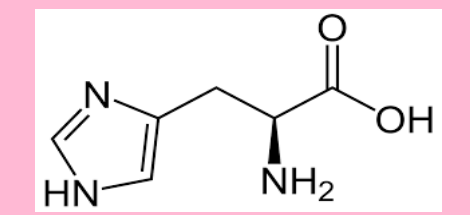
الصيغة البنائية	الإسم	الصفة الكيميائية	الإسم المختصر
	Glycine	متعادل	Gly

Ser	متعادل	Serine	
Thr	متعادل	Threonine	
Cyc	متعادل	Cysteine	
Tyr	متعادل	Tyrocine	
Asp	متعادل	Asparagine	
Glu	متعادل	Glutamine	

3.2.2.1. I. أحماض أمينية ذات سلاسل طرفية مشحونة بشحنة موجبة :

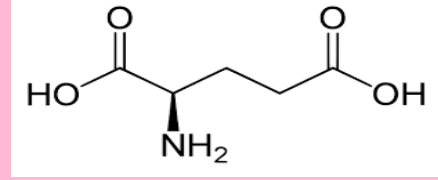
وتشمل الأحماض التالية كما هو مبين في (الجدول I-3)

(الجدول I-3): يوضح سلاسل طرفية مشحونة بشحنة موجبة.

الإسم المختصر	الصفة الكيميائية	الإسم	الصيغة البنائية
Lys	قاعدي	Lysine	
Ara	قاعدي	Araginin	
His	قاعدي	Histidine	

4.2.2.1. I. أحماض أمينية ذات سلاسل طرفية مشحونة بشحنة سالبة [5]:

(الجدول I-4): يوضح سلاسل طرفية مشحونة بشحنة سالبة.

الإسم المختصر	الصفة الكيميائية	الإسم	الصيغة البنائية
Glu	حامضي	Acide glutamique	

Asp	حامضي	Acide aspartique	
-----	-------	------------------	--

3.1.I. الخصائص الفيزيائية والكيميائية للأحماض الأمينية:

- ✓ الأحماض الأمينية تكون على شكل بلورات مميزة.
- ✓ تكون الأحماض الأمينية عادة عديمة اللون عندما تكون نقية.
- ✓ ليس لها درجات إنصهار محددة ولكنها تنكسر عند درجات الحرارة التي تتراوح ما بين 185 و340°م.
- ✓ الأحماض الأمينية لا تذوب في المذيبات العضوية ولكنها تذوب في الماء [6].

2. I. الببتيدات:

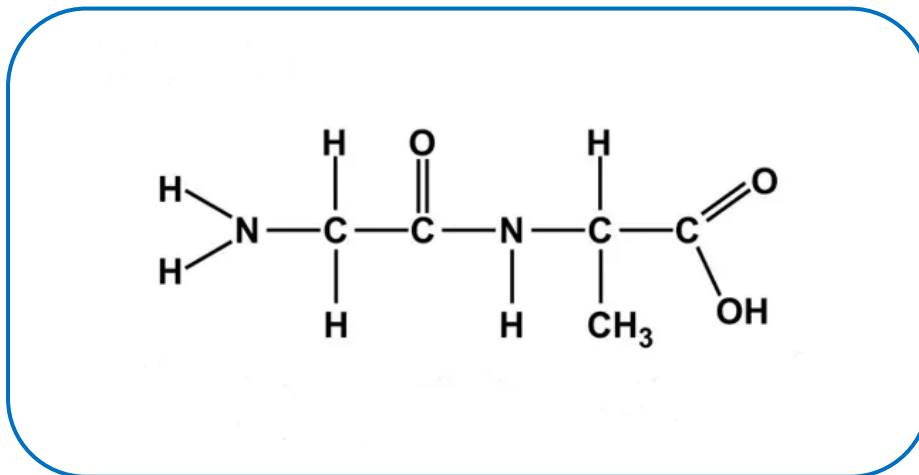
1.2. I. تعريف الببتيدات:

هي عبارة عن ترابط بين الأحماض الأمينية ومجموعة كربوكسيل لأحد الأحماض الأمينية مع مجموعة الأمين من حمض أميني آخر مع فقد جزئ ماء، وتسمى الرابطة بينهما بالرابطة الببتيدية؛ وعند إرتباط حمضين أمينين برابطة ببتيدية يسمى ثنائي الببتيد وعند إرتباط ثلاثة حموض أمينية يسمى ثلاثي الببتيد وعند إرتباط عدد كبير من الأحماض الأمينية تسمى عديد الببتيد ويكون للسلسلة إتجاه معين للمجموعة الأمينية الطرفية لا ترتبط بحمض أميني جديد بينما المجموعة الكربوكسيلية يمكن أن ترتبط مع حمض أميني آخر [17].

2.2. I. أنواع الببتيدات:

1.2.2. I. الببتيدة الثنائية :

ترتبط بين حمضين من الأحماض الأمينية كما هو واضح في المعادلة التالية:



الشكل (2-I): ثنائية ببتيد.

I. 2.2.2. Tripeptide: الببتيدة الثلاثية:

وهي ثلاثة أحماض أمينية متصلة ببعضها بروابط ببتيديّة.

I. 3.2.2. polypeptide: عديد الببتيد:

تتألف من أكثر من 10 وحدات من الأحماض الأمينية متصلة بروابط ببتيديّة وأكثر البروتينات عبارة

عن عديدة الببتيد [8].

كما أنه للببتيدات صفات القاعدية والحامضية أهمها درجات إنصهار عالية، مما يساعد على إمكانية تبلورها من المحاليل المتعادلة بشكل أيوني وتعود الصفات القاعدية والحامضية للببتيدات إلى المجاميع الكربوكسيلية الحرة أكثر من المسافة الموجودة في الحامض الأميني فينتج عن ذلك ضعف في التصادم الكهربائي بينهما وتصبح حينئذ قيم ثابت التفكك لمجاميع الألفا كربوكسيل أكبر من المجاميع الكربوكسيلية نفسها الموجودة في الأحماض الأمينية كون الروابط هي روابط الأساسية الداخلة في تركيب البروتينات [1].

I. 3. البروتينات:**I. 1.3.1. تعريف البروتينات:**

تعتبر البروتينات مركبات عضوية معقدة ذات أوزان جزيئية عالية (12000 إلى مليون كيلو دالتون أو أكثر)، تتميز البروتينات النباتية بإحتوائها على الهستونات والغلوبولينات ونسبة منخفضة من الألبومينات لا تتعدى 1%، حيث تتواجد في جميع الخلايا في عدة أشكال، كمحلول غروي في السائل الخلوي أو في صورة نصف صلبة في شكل مادة غروية أو على صورة صلبة كما في البذور أو في صورة شبه بلورية تتواجد في البقوليات، الفواكه، الحبوب، والخضر، والبذور [2]، ومن الناحية الكيميائية تحتوي البروتينات على الكربون والهيدروجين والأكسجين وذلك يماثل تركيب كل من الكربوهيدرات والدهون، إلا أن البروتينات

تختلف عنهما في إحتوائها على النتروجين الذي يكون ما يقارب (16%) من وزنها، كما أن البروتينات تحتوي على الكبريت أو الفوسفور أو الحديد أو الكوبالت (بحسب نوعها)^[9].

I.2.3.2. تصنيف البروتينات:

تصنيف البروتينات عادة على أساس تركيبها الكيميائي أو إقترانها بالمواد الأخرى العضوية وغير عضوية وهي:

- ❖ البروتينات البسيطة Simple proteins
- ❖ البروتينات المرتبطة Conjugated proteins
- ❖ البروتينات المشتقة Derived proteins

I.2.3.3.1. البروتينات البسيطة: Simple proteins:

هي أبسط أنواع البروتينات وهي مكونة من ببتيدات وسلاسل مكونة من الأحماض الأمينية فقط وتقسم هذه المجموعة إلى:

I.2.3.3.1. البروتينات الليفية : Fibrous proteins :

وتشمل البروتينات غير ذائبة أو مقاومة للمذيبات وتكون الأجزاء الداعمة للأعضاء الحيوانية ويطلق عليها إسم ألبومينويدز Albuminoids ومن أمثلة هذه البروتينات: الكولاجين، الكيراتين، الأستينات.

I.3.2.3.1. البروتينات الكروية: Globular proteins:

وتمثل البروتينات الذائبة ولها شكل كروي نتيجة إلتفافها على بعضها وتكوين راوبط كبريتية وغيرها بين أجزائها الببتيدية ومن هذه البروتينات: الألبومينات، الكلوبولينات، الكلوتيلينات، البرولامينات، البروتامينات، الهيستونات.

I.4.2.3.1. البروتينات المرتبطة (المقترنة): Conjugated proteins:

البروتينات المرتبطة عبارة عن بروتينات مكونة من جزء بروتيني مع جزء غير بروتيني يدعى المجموعة الترفيعية Prosthetic group مثل الكاربوهيدرات والدهون والأحماض النووية ومن هذه

البروتينات ما يأتي: البروتينات النووية، البروتينات الكاربوهيدراتية، الفوسفور بروتينات، البروتينات الصبغية، بروتينات دهنية، بروتينات معدنية.

5.2.3.I. البروتينات المشتقة: Derived proteins

وهي ناتجة من تحلل البروتينات ومكونة من سلاسل ببتيدية مثل الببتونات واللببتيدات وكذلك البروتينات المعاملة حراريا والمغيرة طبيعيا (الممسوخة) Denatured proteins فضلا عن البروتينات المتخثرة ومن الأمثلة على البروتينات المشتقة: بروتينات الميتا، الببتونات، البروتيسين^[1].
يمكن تصنيفها أيضا حسب طريقة الإستخلاص إلى:

✓ مركبات البروتين:

هي جميع البروتينات المستخرجة في ظل ظروف تكون فيها أقل قابلية للذوبان أو حتى غير قابلة للذوبان، بمعنى آخر، يتم إستخلاصها بإستخدام مذيب تكون فيه غير قابلة للذوبان عن طريق رفع درجة حموضة الوسط من أجل القضاء على الماء مركبات غير بروتينية قابلة للذوبان يقدر محتوى البروتين بـ 60%.

✓ عزلات البروتين:

هي جميع البروتينات المعزولة من المركبات غير البروتينية الأخرى بالمرور عبر مرحلتين: الأولى تتكون من إذابة البروتينات في مذيب حيث تكون شديدة الذوبان (المذيبات القلوية التي يستخدم فيها NaOH) من أجل القضاء على المركبات غير القابلة للذوبان والثاني هو إسترداد الإنتقائي للبروتينات المذابة عن طريق الترسيب عن طريق رفع الرقم الهيدروجيني للوسط إلى الرقم الهيدروجيني للبروتينات والقضاء على المركبات القابلة للذوبان تتركز العزلات في البروتين أكثر من المركبات وتقدر درجة نقائها بـ 90%.

✓ تحلل البروتين:

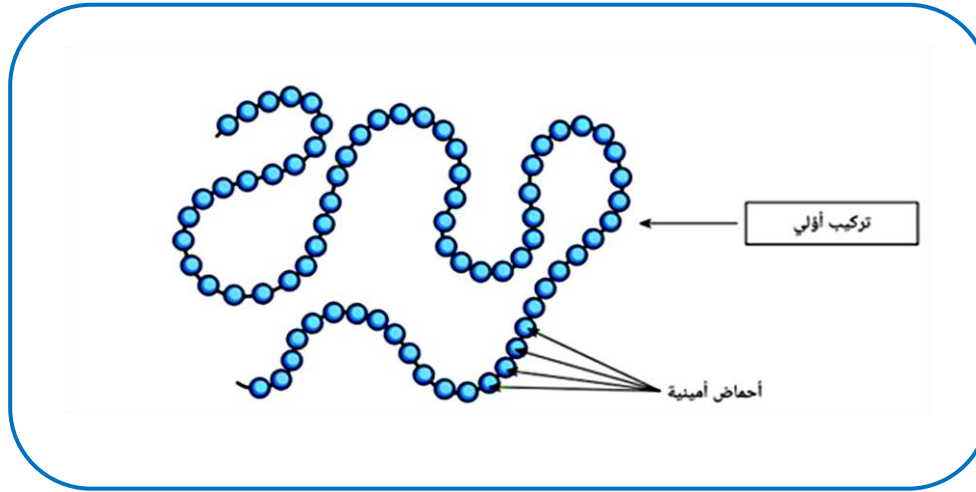
إنها مجموعة الببتيدات الناتجة عن التحلل المائي للبروتين وتظهر خصائص وظيفية وبيولوجية أكثر أماناً، يمكن إجراء التحلل المائي بطريقتين: التحلل المائي الكيميائي باستخدام حمض أو قاعدة والتحلل المائي الأنزيمي باستخدام البروتياز مثل التربسين والبيبسين؛ يتمثل الاختلاف بين التحلل المائي الأنزيمي والتحلل المائي الكيميائي في أنه لا يمكن استخدام الأخير في إنتاج البروتينات الغذائية والصيدلانية بسبب فقدان بعض الأحماض الأمينية إنتاج جزيئات سامة أثناء التفاعل، على عكس التحلل المائي الأنزيمي الذي لا يحتوي على هذه العيوب والذي يعطي بروتينات هيدروليكية مشابهة لتسلسل البروتين من وجهة نظر التكوين في الأحماض الأمينية وبالتالي، فإن التحلل المائي الأنزيمي ليس خطيراً ولا ملوثاً^[10].

3.3.I. هيكل الكيمياء البروتين ووظيفته:

البروتينات عبارة عن جزيئات ضخمة تشتمل على بوليمرات خطية من بقايا الأحماض الأمينية المرتبطة بروابط ببتيدية لها خصائص هيكلية ووظيفية وغذائية مختلفة مفيدة لصناعة الأغذية^[11]، نظراً للإهتمام المتزايد بإنتاج الأطعمة النباتية، من المهم إختيار بروتين نباتي مناسب له وظائف جيدة لتقليد البروتينات الحيوانية، توفر معرفة التركيب والخصائص الوظيفية للبروتينات الحيوانية فرصاً لمصادر البروتين النباتي، مع التركيز على تطوير مكونات البروتين المشتق من النبات وإستخدامها في الأطعمة المصنعة، ونظام الغذاء^[12]، تعد البروتينات أهم مكون وظيفي بسبب هيكلها وتركيبها وإستحلابها، يعد تعديل البروتينات النباتية أو تصنيعها في تركيبها هيكلية التي تعطي الخصائص الفيزيائية والكيميائية والوظيفية مثل تلك التي توفرها البروتينات الحيوانية ، بشكل عام بناءً على الهيكل، وبناءً على تركيب كيميائي تختلف البروتينات بالنسبة لهذا البناء ولها أربعة مستويات بنائية^[13].

1.3.3.I. التركيب الأولي:

يشير هذا التركيب (الشكل I-3) إلى نوعية وتسلسل الأحماض الأمينية في سلسلة متعدد الببتيد.



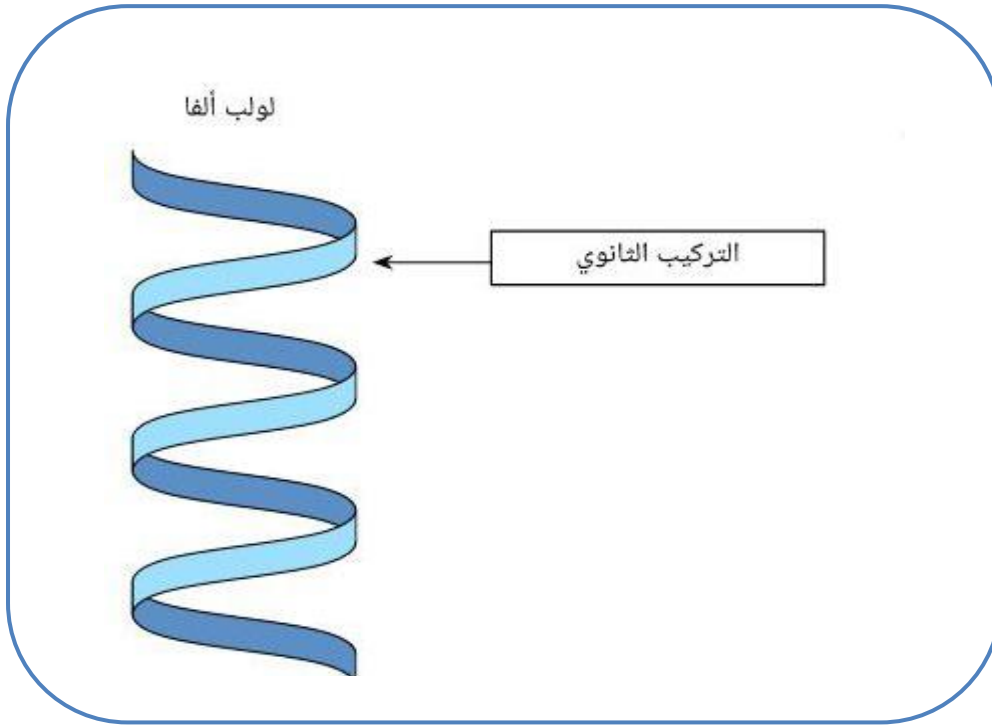
الشكل (I-3): التركيب الأولي للبروتين.

I. 2.3.3. التركيب الثانوي:

يتضمن التركيب الثانوي للبروتين كيفية إلتواء سلسلة متعدد الببتيد لتعطي أشكالاً نوعية ثابتة عن طريق الرابطة الهيدروجينية إذ بالإعتماد على نوعية الأحماض الأمينية وصفاتها الكيميائية يمكن أن تشكل خمسة نماذج من حالة الإلتواء التي تشمل التركيب الثانوي وهي:

I. 3.3. 1. 2. 3. الهيكل اللولبي ألفا:

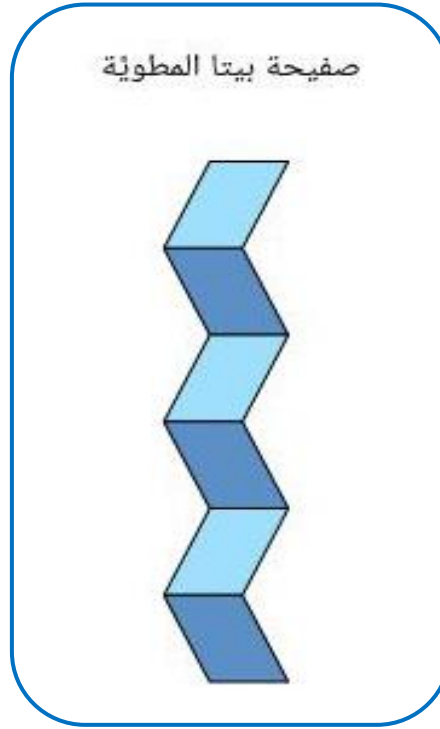
يتميز الهيكل اللولبي بوجود 3 إلى 6 وحدة حامض أميني، إن التركيب اللولبي (الشكل I-4) المتعدد الببتيد ناجم عن وجود رابطة الهيدروجينية التي تربط أوكسجين الكاربونيل ونيترودجين الأميد.



الشكل (I-4): التركيب اللولبي للبروتين.

1.2.3.3.I. الصفيحة المطوية:

تترتب سلاسل الببتيد على إمتداد بعضها البعض لتكون أشكالاً يطلق عليها الصفائح المطوية (الشكل I-5) إذا تمتد سلاسل متعدد الببتيد بأبعاد متعرجة وتكون مستقرة بواسطة رابطة الهيدروجين التي تربط مجموعة كربونيل CO مع مجموعة أميد NH.



الشكل (I-5): تركيب الصفحة المطوية للبروتين.

3.2.3.3.I. هيكل اللولبي ثلاثي:

ويسمى أيضا هيكل الكولاجين Coollagen helix ويتمثل هذا التركيب في بناء البروتين الليفي

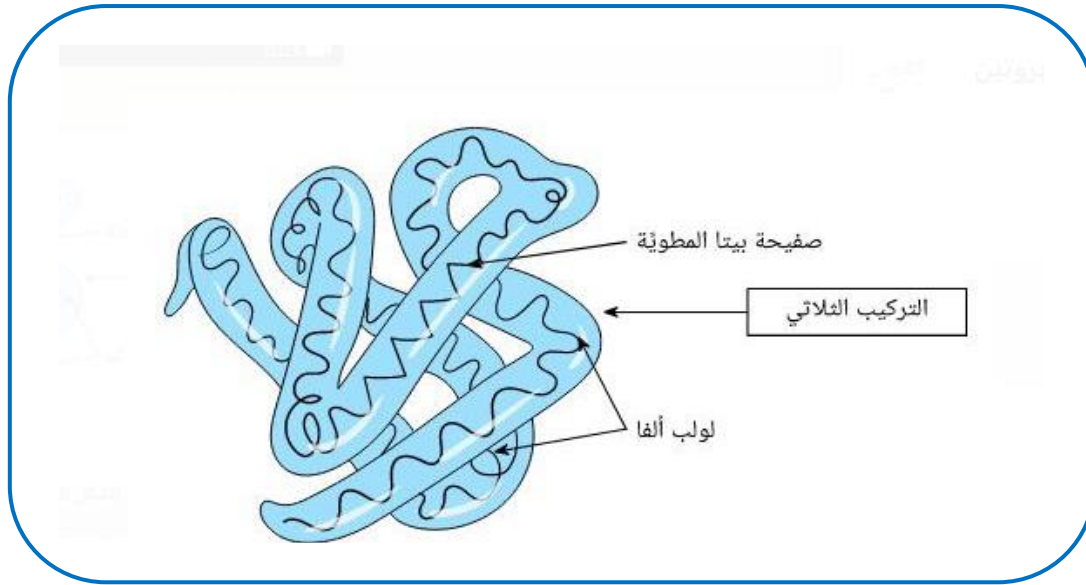
كولاجين إذ تلتوي ثلاث سلاسل من متعدد الببتيد حول بعضها لتكون هيكل لولبيا ثلاثيا (الشكل I-6).



الشكل (I-6): الهيكل اللولبي الثلاثي.

I. 3.3.3. التركيب الثلاثي:

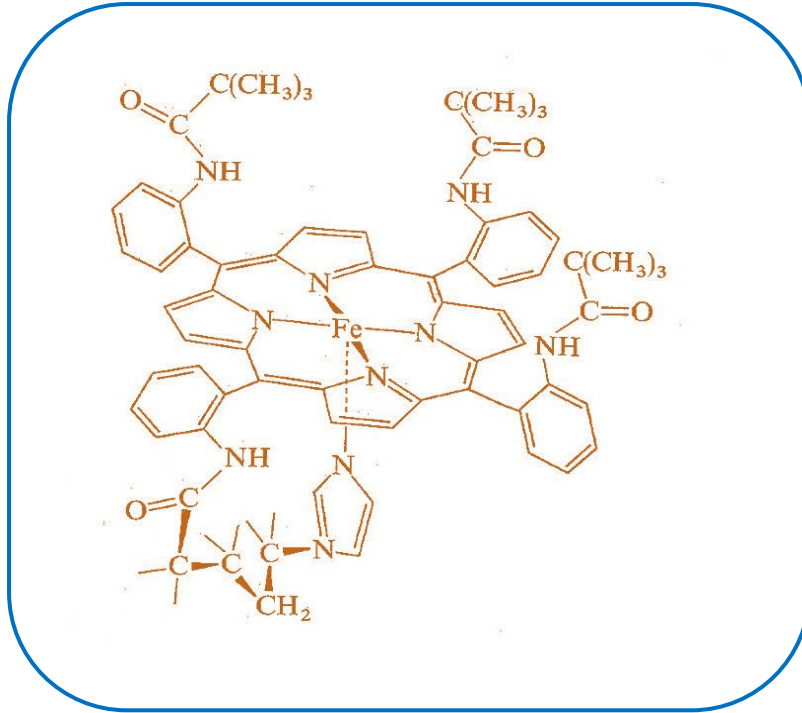
يتضمن التركيب الثلاثي للبروتين (الشكل I-7) البعد الثلاثي للبروتين الكروي الناجم عن تداخلات المجاميع الجانبية R- مع بعضها فهي تجعل سلسلة متعدد الببتيد مطوية بشدة ومكثفة بصورة مرصوفة، إن إستقرار التركيب الثلاثي يعزى إلى الروابط والقوى الموجودة في البروتين.



الشكل (I-7) : تركيب ثلاثي للبروتين.

I. 4.3.3. التركيب الرابعي:

إذ إحتوى متعدد الببتيد على أكثر من سلسلة ببتيدية، فإن البروتين ينتمي إلى التركيب الرابعي (الشكل I-8) وهو يعني ترابط مجموعة الوحدات الثانوية للبروتين سواء كانت متشابهة أم غير متشابهة لتكون ما يسمى الأوليكر (أي بوليمير صغير)^[1].



الشكل (8-I): التركيب الرابعي.

I. 4.3. الخصائص الفيزيائية والكيميائية للبروتينات:

I. 1.4.3. الكتلة المولية:

يمكن تحديد الكتلة المولية للبروتينات باستخدام تقنية البولي أكريلاميد الكهربائي للهلام باستخدام

SDS، وتقنية الكروماتوغرافيا.

I. 2.4.3. الذوبانية:

تمثل قابلية ذوبان البروتينات ميلها للذوبان في الماء، هذه القابلية تعود إلى الرقم الهيدروجيني والقوة

الأيونية ودرجة الحرارة الوسط في الواقع بعض البروتينات قابلة للذوبان في ماء النقي مثل الألبومين والبعض

الأخر مثل الجلوبيولين يذوب فقط في وجود أملاح محايدة أو حتى عندما يكون الوسط حمضيا قليلا أو

قلويا ضعيفا والبعض الآخر غير قابل للذوبان مثل البروتينات الصلبة.

3.4.3.I. الزوجة:

لزوجة محلول البروتين هي خاصية التي تهدف إلى منع تدفقه عند تطبيقه على القوة في الواقع المحاليل عالية اللزوجة مقاومة للتدفق ولكن المحاليل منخفضة اللزوجة تتدفق بسهولة، مع ذلك يمكن تحويل لزوجة محاليل البروتين عن طريق التغييرات في درجة الحموضة ودرجة الحرارة والقوة الأيونية^[14].

5.3. I. تطبيقات البروتينات:

أصبحت اللدائن الحيوية المصنوعة من البروتينات النباتية كمصدرًا بديلاً للمنتجات البلاستيكية لأنها ليست قابلة للتحلل البيولوجي فحسب، بل إن اللدائن مصنوعة أيضًا من موارد متجددة مثل السكريات والدهون والبروتينات حاليًا، لا يزال العديد من اللدائن الحيوية في مرحلة التطوير، ولكن بدأت تظهر تطبيقات مهمة في مجالات التعبئة والتغليف وإنتاج الأغذية والأدوية، يمكن لبعض اللدائن الحيوية أن تحل محل المواد المشتقة صناعياً في التطبيقات التقليدية بشكل مباشر، بينما يمتلك البعض الآخر خصائص فريدة يمكن أن تفتح مجموعة من الفرص التجارية الجديدة^[15].

تمتاز الأغشية اللدائية أنها القابلة للإكل والتحلل البيولوجي بالإضافة إلى إمكانية أكلها مع المنتج المغلف بها ومساهمتها الهامة في تقليل التلوث البيئي، بمزايا عديدة أخرى أهمها قدرتها على إعاقة إنتقالاً أو عزل الرطوبة والغازات ومركبات النكهة الطيارة من الغذاء فتحافظ على نوعية الغذاء وتطيل من عمر التخزين، وتوفر الحماية ضد الأضرار الميكانيكية فتقلل من التفتت والتكسر وتحسن خصائص التداول الميكانيكي للأغذية، كما تعمل كحامل للعديد من المضافات الغذائية الفعالة كالعوامل المضادة للميكروبات لتحسين سلامة وثباتية الأغذية ومضادات الأكسدة لمنع أكسدة الدهون ومواد النكهة والصبغات لتحسين نوعية الغذاء^[16,17].

خلاصة الفصل:

لقد تم التطرق في هذا الفصل إلى عموميات حول البروتينات النباتية من حيث التصنيف والتركيبة والخصائص كونها مصدرا مهم، وقد استخدمت في عديد من تطبيقات نذكر منها مجالات التعبئة والتغليف وإنتاج الأغذية والأدوية، كما تمتلك خصائص يمكن أن تفتح مجموعة من الفرص التجارية الجديدة.

المراجع العربية:

- [1] د. ط. ي. احمد و د. ل. ع. ع. الهلالي, الكيمياء الحياتية الجزء الأول. جامعة الموصل: دار ابن الأثير, 2010-1431.
- [2] لعور, ب. دهان, قاعود, و بسام, "تقدير كمية البروتين في المجموع الخضري لنبات الحمص المعامل بهرمون الكينتين", 2016, p. 27.
- [3] د. ر. ص. ف. محمد, الطرق الحديثة لتحليل الأحماض الأمينية وتقييم نوعية البروتين. جامعة القاهرة: المكتبة الأكاديمية 2004.
- [4] د. ح. ب. م. الحازمي و د. م. ب. ا. الحسن, الكيمياء العضوية. المملكة العربية السعودية: دار الخرجي للنشر والتوزيع, 1421.
- [5] بنين, "دراسة تأثير وسط التفاعل على تفاعلات إرجاع الأحماض الأمينية بإستخدام العامل المرجع", 2018.
- [6] د. س. المظفر, أساسيات الكيمياء الحياتية: دار المسيرة.
- [7] "تقنية البيئة الكيمياء الحيوية", المؤسسة العامة للتعليم الفني والتدريب المهني.
- [8] أ. د. ن. م. ع. المجيد, أ. د. ع. ع. ا. بودي, أ. د. ه. ح. محمد و د. ع. م. الشمري, الثقافة الغذائية. الكويت الإمارات مصر الاردن: مكتبة الفلاح, 2015-1436.
- [9] م. س. م. العمري, "التغذية الرياضية", قسم التربية البدنية والرياضية كلية التربية, جامعة الملك سعود-الرياض.

المراجع الأجنبية:

- [10] A N elhouda " ,evaluatio de l' activité anti-inflammatoire de l'extrait proteique des graines de pinus pinea L. sur l' inflammation intestinal-in vivo-, " Akli Mohandoulhadj-Bouira, 2019-2020.
- [11] M. Arif and K. P. Pauls, "Properties of plant proteins," in *Plant Bioproducts*, ed: Springer, 2018, pp. 121-142.
- [12] P. Wilding, P. J. Lillford, and J. M. Regenstein, "Functional properties of proteins in foods," *Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Biotechnology*, vol. 34, pp. 182-189, 1984.
- [13] S. Y. J. Sim, A. Srv, J. H. Chiang, and C. J. Henry, "Plant proteins for future foods: A roadmap," *Foods*, vol. 10, p. 1967, 2021.
- [14] D. D. P. UE, "LE DIPLOME DE MAGISTER".
- [15] D. Gómez-Heincke, I. Martínez, M. Stading, C. Gallegos, and P. Partal, "Improvement of mechanical and water absorption properties of plant protein based bioplastics," *Food Hydrocolloids*, vol. 73, pp. 21-29, 2017.

- [16] J. M. Krochta, "Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities," *Protein-based films and coatings*, vol. 1, pp. 1-40, 2002.
- [17] B. Ghanbarzadeh, M. MOUSAVI, K. E. REZAEI, E. Razmi, J. Milani, and A. A. OUROUMIEHEI, "Investigation of water vapour permeability, hydrophobicity and morphology of zein films plasticized by polyols," 2006.

الفصل الثاني:

طرق إستخلاص البروتين

مقدمة:

تتواجد البروتينات في الخلايا النباتية مرتبطة مع مركبات أخرى^[1]، سنوضح في هذا الفصل بعض الطرق التي يمكن إستخدامها لإستخراج البروتينات النباتية لإنتاج مخاليط غير متجانسة و متجانسة للإستخدامها في عدة مجالات؛ سيتم أيضًا وصف الطرق التي يمكن إستخدامها لإستخلاص وتنقية البروتينات من أجل دراسة التركيبة والوظيفة التفصيلية للبروتين المستخلص، كذلك بعض العوامل التي تؤثر على إستخلاص وجودة البروتين، و من أهم عوامل إستخلاص البروتين المختلفة المذيبات مثل: الماء والمذيبات المائية ومحاليل الملح التي تستخدم لترسيب البروتين كما نصف طرق التنقية مثل كروماتوغرافيا العمود و فصل كهربائي هلامي (Ectrophoresis) التي يمكن إستخدامها لفصل بروتين^[2].

1.II. إستخلاص البروتين وتنقيته:

تعد عملية إستخلاص البروتين و تنقيته من أهم خطوات الحصول و إستعادة البروتينات من المكونات الأخرى، أي فصله عن المكونات البروتينية وغير البروتينية الأخرى الموجودة في خليط ما، تتمثل الخطوة الأولى في تنقية البروتين في إستخلاص المادة الخام بمذيب مناسب (مائي عادةً) بهدف إنتاج منتج بروتيني^[2]، ليتم بعدها عملية التنقية، سنلخص الطرق الأكثر إستخدامًا وهي: كروماتوغرافيا، الذوبان، الأغشية، الترسيب^[3].

2.II. العوامل المؤثرة في إستخلاص البروتين:

قبل النظر بالتفصيل في خطوة إستخلاص البروتين، من الضروري معرفة العوامل المؤثرة على البروتين^[4, 5] وهي: مصدر المادة الخام، طبيعة مادة الخام، نوع البروتين (خصائص الذوبان).

1.2.II. مصدر المادة الخام:

بشكل عام يجب إزالة الدهن من المواد الخام التي تحتوي على مستويات عالية من الزيت قبل إجراء عزل البروتين ستمنع إزالة الزيت تكوين المستحلب أثناء إستخلاص البروتين وتنتج مواد بروتينية خالية من الزيت، يتم الحصول على عينات خالية من الدهون عن طريق نزع الدهن عن المواد الخام بمذيبات مثل الهكسان^[6,7] وإيثر البترول^[8] أو عن طريق الضغط الميكانيكي، يجب أولاً طحن المواد الخام التي تحتوي على مستويات عالية من الرطوبة والدهون وتجفيفها بالتجميد (للحفاظ على بنية البروتين الأصلية) قبل إستخلاص الدهون بواسطة الهكسان أو الأثير البترولي^[9].

2.2.II. طبيعة المادة الخام:

تحتوي بعض بروتينات البذور على مستويات عالية من المركبات الفينولية وغيرها من الملوثات التي قد تكون سامة، أو تتداخل مع عزل البروتين (تقليل المحصول)، أو تساهم في تغير اللون، أو فقدان النكهة، أو تقليل وظائف البروتين المعزول^[10,11] لذلك تخضع هذه المواد لمعالجات أولية لإزالة الملوثات غير المرغوب فيها قبل إجراء عزل البروتين^[12].

3.2.II. نوع البروتين (خصائص الذوبان):

تختلف خصائص قابلية الذوبان للبروتينات في المحاليل المختلفة، اعتمادًا على درجة الحموضة والقوة الأيونية لذلك، يمكن الحصول على كسور البروتين عن طريق إستخراج العينة بمحاليل محددة مصممة لإزالة البروتين محل الإهتمام بينما تُترك البروتينات الأخرى في البقايا،^[13] عموماً يتم إستخلاص البروتين النباتي بوضع العينة مع الماء المقطر، و5% كلوريد الصوديوم، و $60 \pm 90\%$ إيثانول، و0.4% هيدروكسيد الصوديوم، تليها عملية الطرد المركزي لكل مستخلص، وتصفيته من خلال ورق ترشيح مناسب، و في الأخير غسل العينة بالماء المقطر، ثم إعادة عملية الطرد المركزي وتجفيف المادة الطافية بالتجميد للحصول على أجزاء البروتين المختلفة^[2].

3.II. طرق الإستخلاص البروتين:

1.3.II. الكروماتوغرافيا:

1.1.3.II. كروماتوغرافيا التبادل الأيوني (IEC):

يعتمد الفصل اللوني بالتبادل الأيوني على الإختلاف في الشحنة الكهربائية للبروتينات، في الواقع أثناء التبادل الأيوني فإن الأنواع ذات شحنة معينة يتم فصله في المحلول عن طريق التثبيت على مادة صلبة (المبادل الأيوني)، حيث يتم إستبدال كمية مكافئة من الأيونات من نفس الشحنة الأيونات المشحونة عكسياً^[14]، والتي لا تتأثر في حالة فصل البروتين، تقوم كروماتوغرافيا التبادل الأيوني بضبط الرقم الهيدروجيني للمحلول أولاً على قيمة محددة جيداً بحيث يتم شحن البروتينات المهمة كهربائياً بما يتناسب مع طبيعة المبادل بمجرد الإحتفاظ بها، يتم التخلص من البروتينات من المبادل عن طريق زيادة القوة الأيونية (في أغلب الأحيان)، تعمل البروتينات مثل أيونات تكافؤ متعددة الشحنة الفعالة للبروتين موجودة على سطحه و تبقى شحنته الكلية تقع في مركز البروتين في البداية، ليتم إمتصاص أيونات الملح ويكون البروتين بعيداً بشكل لا نهائي عن سطح المبادل ثم تنتقل الأيونات المضادة المرتبطة بالبروتين إلى أيونات الملح من المبادل الأيوني مما يسمح للبروتين بالإرتباط بالمبادل الأيوني لذلك هناك قياس كيميائي لتبادل الأيونات يجب إستبدال الشحنة الخارجة من المبادل بشحنة مماثلة قادمة من المحلول من أجل الحفاظ على الحياد الإلكتروني في المبادل وفي المحلول تُحدث الطبيعة المتكافئة لعملية كروماتوغرافيا التبادل الأيوني فرقاً مع عملية الإمتزاز نفسها^[15].

- تتمثل المزايا الرئيسية لكروماتوغرافيا التبادل الأيوني في:

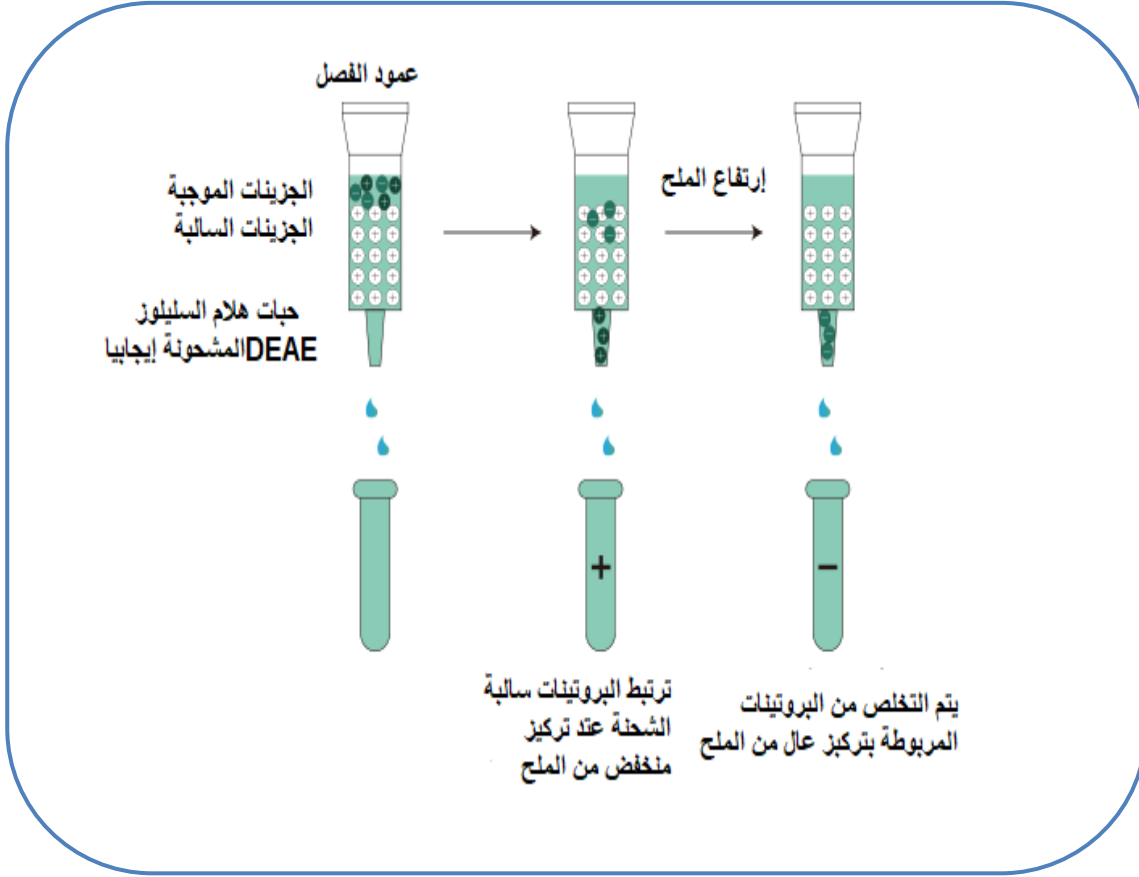
✓ مبدأ فصل بسيط للغاية وسهل التنفيذ.

✓ سعة إمتصاص كبيرة.

✓ دقة فصل يمكن أن تكون عالية.

- عيبه الرئيسي يكمن في:

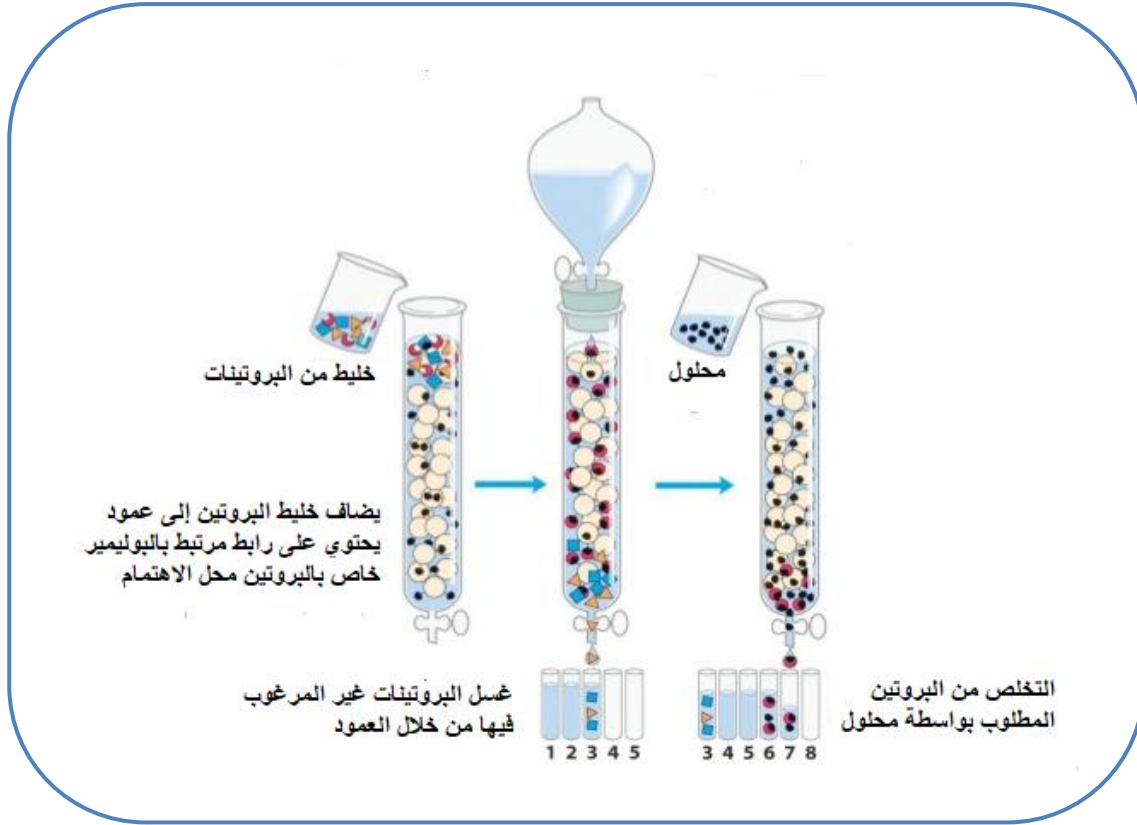
✓ صعوبة فصل البروتينات بنفس عدد الشحنات الفعالة [16].



الشكل (II-1): كروماتوغرافيا التبادل الأيوني.

2.1.3.II. كروماتوغرافيا التقارب:

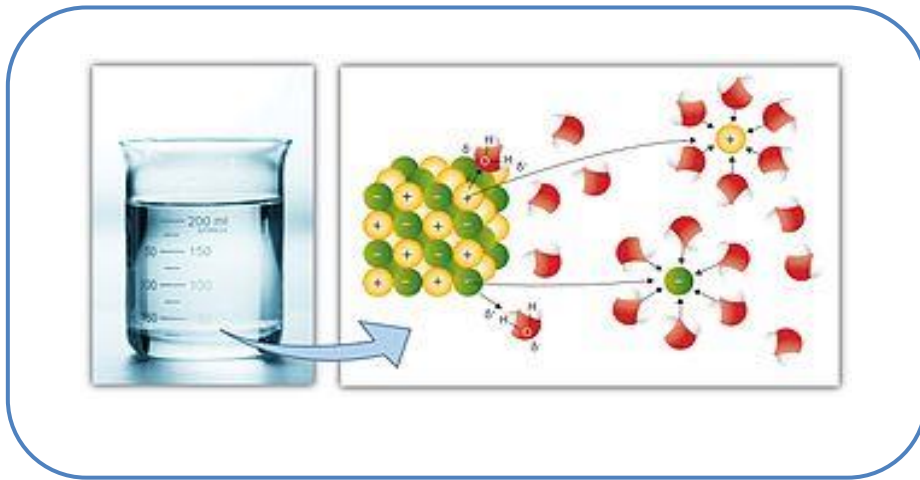
تستند كروماتوغرافيا التقارب على تفاعل محدد للغاية بين بروتين ورابطة مثبتة على سطح الراتنج (المركب يبدأ بدرجة عالية من اللزوجة ويتحول إلى شكل صلب)، يتم تحرير البروتين من المرحلة الثابتة عن طريق زيادة القوة الأيونية للشايط، مما يقلل من قوة الارتباط هذه التقنية مفيدة للغاية كخطوة تركيز أولى، لأنها تسمح بطريقة إنتقائية للغاية بتنقية البروتين من وسط بيوكيميائي أو بيولوجي معقد تتمثل عيوبه في شطف البروتينات غير المرتبطة محددة والشطف المحتمل للروابط التي يمكن أن تحدث في جزء من البروتين [17].



الشكل (II-2): كروماتوغرافيا التقارب.

2.3.II. الذوبانية:

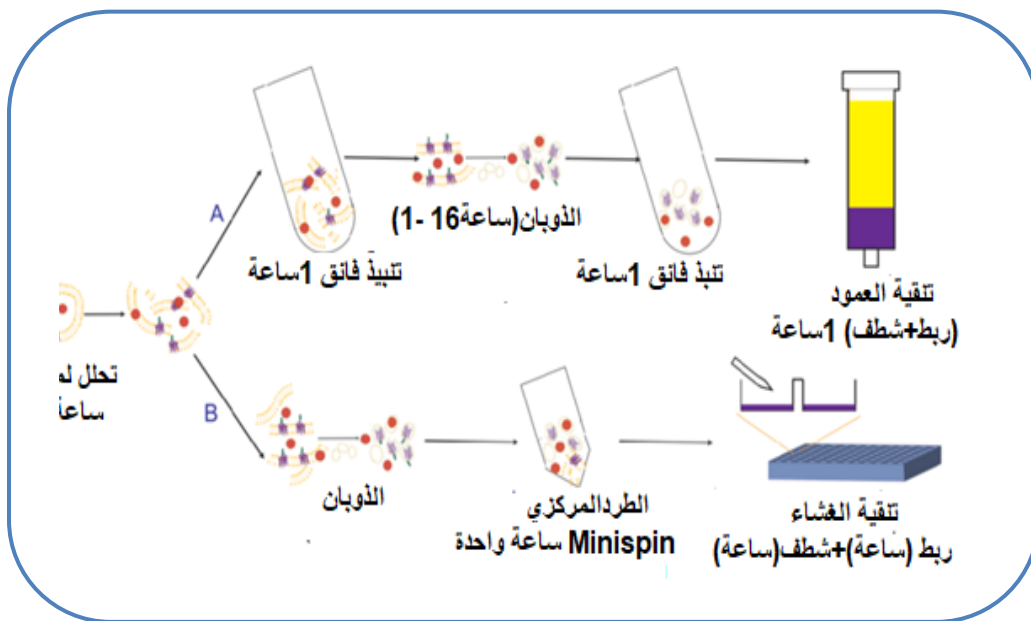
تعد خاصية الذوبان مهمة لإن بقية الخصائص الوظيفية للبروتين في النظام الغذائي مثل إمتصاص الماء وتكوين الرغوة واللزوجة وغيرها تعتمد عليها النسبة المئوية لذوبان المنتج البروتينات الليفية مثل الكيراتينات غير قابلة للذوبان بينما البروتينات الكروية تمثل القسم الأعظم وقابلة للذوبان في المذيبات القطبية والأحماض والقلويات بدرجات مختلفة^[18].



الشكل (3-II): ذوبانية البروتين.

3.3.II. كروماتوغرافيا الأغشية:

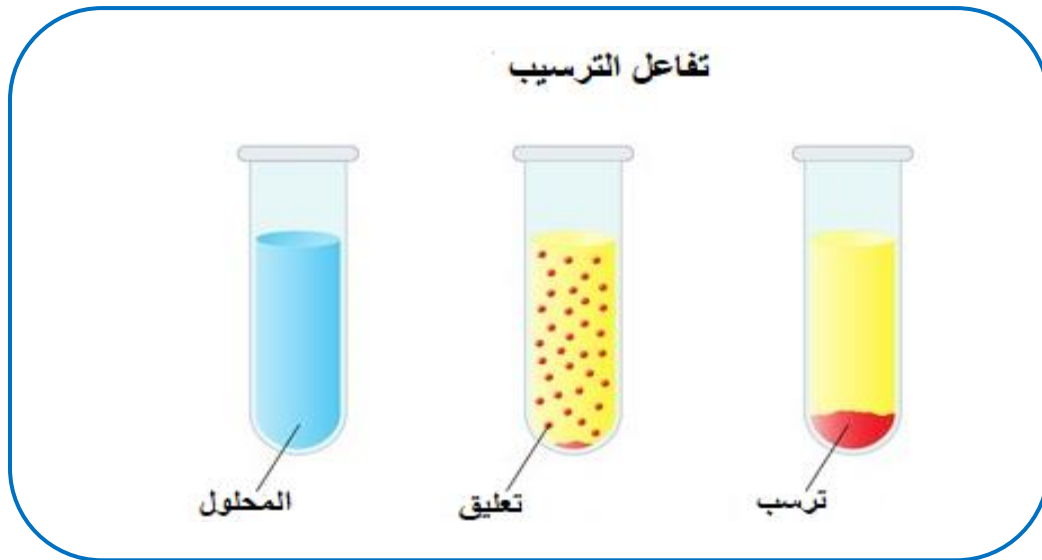
تُستخدم تقنية الغشاء (الترشيح الدقيق أو الترشيح الفائق) لفصل المكونات في سائل وفقاً لحجم الجسيمات أو الوزن الجزيئي على سبيل المثال، يمكن إزالة المواد غير القابلة للذوبان مثل المواد الصلبة العالقة من سائل باستخدام الترشيح الدقيق (MF)، ويمكن فصل الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات باستخدام الترشيح الفائق (UF)، ويتم إستخلاص البروتينات باستخدام الماء ثم باستخدام (MF) و (UF) [19].



الشكل (4-II): كروماتوغرافيا الأغشية.

4.3.II. كروماتوغرافيا الترسيب:

عرف الترسيب كطريقة فصل لتتقية محاليل البروتين المعقدة عن طريق إضافة عوامل الترسيب، مثل الأملاح غير العضوية أو المذيبات العضوية أو البوليمرات غير الأيونية إلى محلول البروتين، يعتبر التملح بكبريتات الأمونيوم الأكثر شيوعاً إلى حد بعيد (85% من جميع ترسبات البروتين النباتي)^[20]، يمكن ترسيب بروتين أكبر في وجود تركيز مذيب عضوي أقل من بروتين أصغر له و خصائص مماثلة، لهذا لا تترسب البروتينات الكارهة للماء بواسطة المذيب العضوي الذي يزيح جزيئات الماء من حول البقع الكارهة للماء للبروتين^[21, 22].



الشكل (II-5): كروماتوغرافيا الترسيب

4.II. خصائص هيكل البروتين ووظيفته:

من أجل دراسة الخصائص الهيكلية والوظيفية لبروتين معين، من الضروري تتقيته، أي فصل المكونات البروتينية وغير البروتينية الأخرى^[21] وتعرف بأنها مجموعة الخصائص الفيزيائية والكيميائية التي تؤثر على سلوك البروتينات في التركيبة أثناء إنتاج وتخزين وإستهلاك المنتجات الغذائية، يمكن تحسين وظيفة البروتين، من خلال معالجة المواد الخام و بعض المعاملات الفيزيائية مثل الوقت ودرجة الحرارة والرطوبة، ونوع المعالجة الحرارية (رطبة مقابل جافة)، ودرجة الحموضة، والقوة الأيونية^[22] التي تجعل من

الممكن التنبؤ بآثاره الرئيسية في التركيبة؛ كما يسمح بمقارنة المكونات المختلفة المتنافسة بشكل عام، ويتم تصنيفها إلى ثلاثة :

1- تعتمد على خصائص الترطيب مثل: قابلية الذوبان في الماء أو الإحتفاظ به على تفاعلات البروتين والمياه.

2- تتحكم خواص السطح في تفاعلات البروتين والدهون والبروتين مع الهواء، ولا سيما خصائص الرغوة والإستحلاب.

3- تعتمد خصائص التركيب، مثل التبلور أو التخثر، على تفاعلات البروتين [3].

خلاصة الفصل:

لقد تم التطرق في هذا الفصل إلى كيفية إستخلاص البروتين والطرق التي يمكن إستخدامها لإستخراج البروتينات النباتية كالكروماتوغرافيا والأغشية والذوبانية والترسيب وكذلك دراسة التركيبة الوظيفية للبروتين المستخلص التي تؤثر على سلوك البروتينات في التركيبة أثناء إنتاج وتخزين وإستهلاكه وأهم العوامل المؤثرة عليه.

المراجع العربية:

- [1] ت. الحوراني و أ. مالو. (2011-2012) تأثير بعض منظمات النمو النباتية في استقلاب البروتينات في خلايا ساق نبات الذرة الصفراء.

المراجع الأجنبية:

- [2] R. Aluko, "The extraction and purification of proteins: an introduction," *Proteins in food processing*, pp. 323-351, 2004.
- [3] D. Selmane, "Etude de l'extraction des protéines de coproduits d'abattage et de leur valorisation comme ingrédients fonctionnels," Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 2010.
- [4] J. Nath and M. N. Rao, "Functional properties of guar proteins ", *Journal of Food Science*, vol. 46, pp. 1255-1259, 1981.
- [5] D. M. Ragab, E. E. Babiker, and A. H. Eltinay, "Fractionation, solubility and functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration," *Food chemistry*, vol. 84, pp. 207-212, 2004.
- [6] T. P. Abbott, L. K. Nakamura, G. Buchholz, W. J. Wolf, D. M. Palmer, H. J. Gasdorf, *et al.*, "Processes for making animal feed and protein isolates from jojoba meal," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 39 ,pp. 1488-1493, 1991.
- [7] H. Kumagai, S. Ishida, A. Koizumi, H. Sakurai, and H. Kumagai, "Preparation of phytate-removed deamidated soybean globulins by ion exchangers and characterization of their calcium-binding ability," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, pp. 172-176, 2002.
- [8] A. A. Shukla, J. Peterson, L. Sorge, P. Lewis, S. Thomas, and S. Waugh, "Preparative purification of a recombinant protein by hydrophobic interaction chromatography: modulation of selectivity by the use of chaotropic additives," *Biotechnology progress*, vol. 18, pp. 556-564, 2002.
- [9] M. K. Shrestha, I. Peri, P. Smirnoff, Y. Birk, and A. Golan-Goldhirsh, "Jojoba seed meal proteins associated with proteolytic and protease inhibitory activities," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 50, pp. 5670-5675, 2002.

- [10] M. Rubino, S. Arntfield, C. Nadon, and A. Bernatsky, "Phenolic protein interactions in relation to the gelation properties of canola protein," *Food research international*, vol. 29, pp. 653-659, 1996 ,
- [11] S. D. Arntfield, "Effects of divalent cations, phytic acid, and phenolic compounds on the gelation of ovalbumin and canola proteins," ed: ACS Publications, 1996.
- [12] S. González-Pérez, K. B. Merck, J. M. Vereijken, G. A. van Koningsveld, H. Gruppen, and A. G. Voragen, "Isolation and characterization of undenatured chlorogenic acid free sunflower (*Helianthus annuus*) proteins," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, pp. 1713-1719, 2002.
- [13] A. Betschart, R. Fong, and R. Saunders" ,Rice by-products: Comparative extraction and precipitation of nitrogen from US and Spanish bran and germ," *Journal of Food Science*, vol. 42, pp. 1088-1093, 1977.
- [14] K. Rathore and G. Pinky, "An overview on ion exchange chromatography," *IJARPB*, vol. 1 ,pp. 55-64, 2012.
- [15] J. Bosma and J. Wesselingh, "pH dependence of ion-exchange equilibrium of proteins," *AIChE journal*, vol. 44, pp. 2399-2409, 1998.
- [16] L. I. Tsonev and A. G. Hirsh, "Theory and applications of a novel ion exchange chromatographic technology using controlled pH gradients for separating proteins on anionic and cationic stationary phases," *Journal of Chromatography A*, vol. 1200, pp. 166-182, 2008.
- [17] M. Wakkel, "Contribution à l'étude de la séparation des protéines par chromatographie d'échange d'ions en milieu complexe. Effet du poids moléculaire sur l'équilibre et la cinétique de rétention," Toulouse, INSA, 2015.
- [18] A. A. Sahi and L. J. Al-Anber, "Functional properties of protein concentrate produced from date seed of some local date varieties," *Basrah Journal For Date Palm Research*, vol. 5, 2006.
- [19] H. Nabetani, T. P. Abbott, and R. Kleiman, "Optimal separation of jojoba protein using membrane processes," *Industrial & engineering chemistry research*, vol. 34, pp. 1779-1788, 1995.
- [20] L. Jarvis and W. Pierpoint, "Purification technologies for plant proteins," *Journal of Biotechnology*, vol. 11, pp. 161-198, 1989.

- [21] C. W. Morris, "Protein Precipitation for the Purification of Therapeutic Protein," UCL (University College London), 2019.
- [22] A. Kilara, "Standardization of methodology for evaluating whey proteins," *Journal of Dairy Science*, vol. 67, pp. 2734-2744, 1984.

الجزء العشري

الفصل الثالث:

المواد والطرق

مقدمة:

سننظر في الفصل الثالث إلى كيفية إستخلاص هلام البروتين (بروتين الزين)، وكيفية تحضير البلاستيك الحيوي إنطلاقاً من هلام المستخلص وطرق الكشف وكذلك خصائص البلاستيك الحيوي. تم هذا العمل بوحدة بحث تطوير الطاقات المتجددة في المناطق القاحلة بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي.

III. المواد والأجهزة المستعملة :

1.III. المواد :

الجدول (III-1) يوضح المواد المستعملة في التجارب.

النقاوة %	الكتلة المولية g/mol	الصيغة الكيميائية	المواد
%99.9	86,18	C ₆ H ₁₄	الهكسان
%97	40	NaOH	هيدروكسيد الصوديوم
%99	92,09	C ₃ H ₈ O ₃	جليسرين
%99.8	192,13	C ₆ H ₈ O ₇	حمض أستيك
–	–	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	النشاء
%96	46.07	C ₂ H ₅ OH	إيثانول
–	180.16	C ₆ H ₁₂ O ₆	الغلوكوز
%99	249.68	CuSO ₄	كبريتات النحاس

2.I. الأجهزة المستعملة :

- مخلاط ،
- جهاز pH متر،
- ميزان حساس ،
- صفيحة الألومنيوم ،
- مسخن كهربائي ،
- جهاز الأشعة تحت الحمراء ATR-FTIR،

- جهاز الأشعة السينية Rayon-X،
- جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV-VIS،

3.III. خطوات العمل:

III. 1.3. تجميع الذرة الصفراء :

تم الحصول على الذرة الصفراء من السوق المحلي لولاية الوادي، كما هو موضح في الشكل (2-III) النجيليات^[1]، كما يعتبر هذا النبات واسع الزراعة وهي من أهم المحاصيل الحبوب الغذائية والصناعية الهامة في كثير من مناطق العالم ويصنف هذا المحصول في المرتبة الثالثة عالميا بعد القمح والأرز^[2].

- الإسم العلمي للذرة الصفراء: "*Zea mays sub sp. mays*"،
- الفصيلة: النجيلية،
- الطائفة: أحاديات الفلقة،
- الشعبة: مستورات البذور،
- الرتبة: القبئيات،



الشكل (III-2): حبات الذرة .



الشكل (III-1): الذرة الصفراء.

2.3.III. طحن الذرة :

بعد تجميع الكمية المطلوبة من الذرة والتي تم طحنها بواسطة آلة الطحن كما هو موضح في الشكل

(3-III) .



الشكل (3-III): الذرة بعد الطحن.

III 3.3. تحضير المحاليل الكيميائية :

تحضير محلول هيدروكسيد الصوديوم (1mol/l)، حيث تم حساب حجم NaOH ذو كتلة 40g

عن طريق العلاقة التالية (المعادلة 1 و2):

$$V_{NaOH} = \frac{m}{M \times C} \dots \dots \dots (01)$$

$$V_{NaOH} = \frac{40}{40 \times 1} \dots \dots \dots (02)$$

$$V_{NaOH} = 1000ml$$

III 4.3. إستخلاص البروتين الزين:

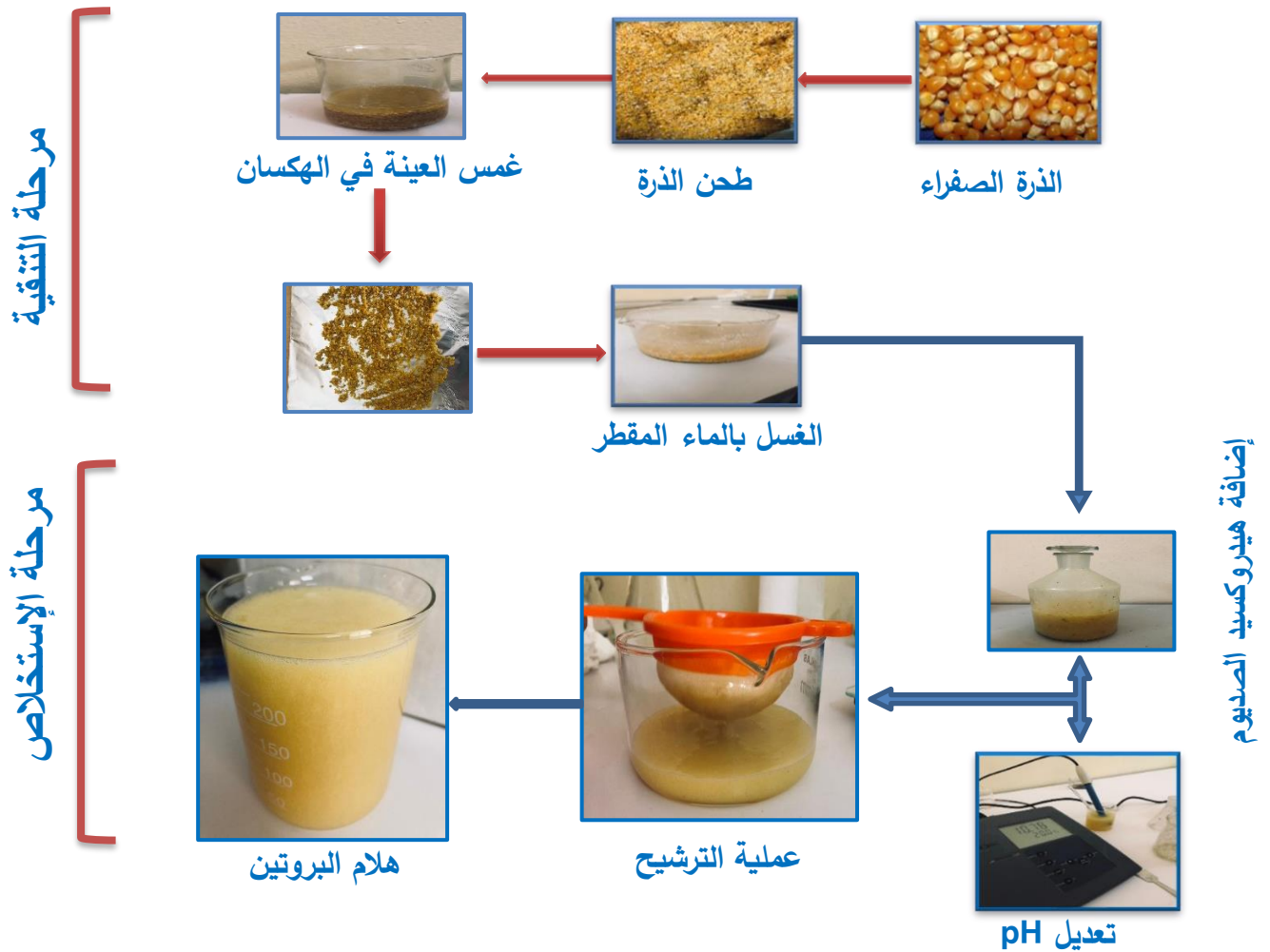
بعد عملية الطحن، تم أخذ 100g من الذرة، ثم غمسها في كمية من محلول الهكسان C_6H_{14} مع

التحريك؛ بعد تجفيف العينة منزوعة الدهن عن طريق نشرها في صفيحة الألومنيوم عند درجة حرارة الغرفة

للتخلص من المذيب، ومن ثم غسل العينة بالماء المقطر وبعدها نقوم بوضع هيدروكسيد الصوديوم NaOH

بتركيز 1M مع الرج المستمر وكان الرقم الهيدروجيني pH=9,5 نقوم بالترشيح للحصول على بروتين

هلامي [3] ، كما هو موضح الشكل (4-III).



الشكل (III-4): مخطط يوضح طريقة إستخلاص هلام البروتين.

5.3.III. تحضير البلاستيك الحيوي:

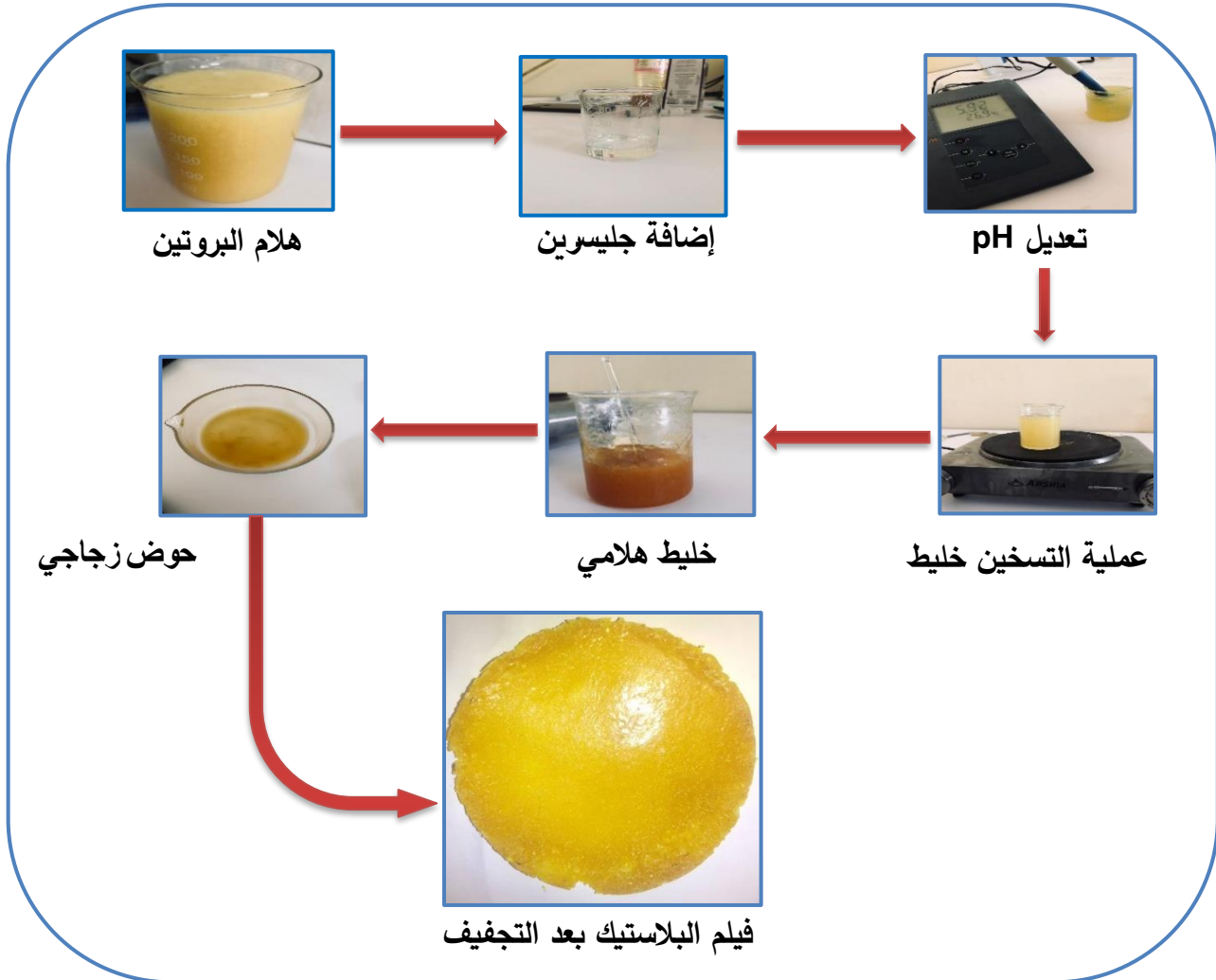
تم تحضير عدة عينات من البلاستيك الحيوي إنطلاقاً من البروتين المستخلص من الذرة بعدة طرق

وتجارب كما هو مبين :

تجربة 1:

تم أخذ (100 ml) من هلام بروتين ووضع في بيشر (250 ml) بعد ذلك إضافة (50 ml) من جليسرين مع التحريك، ثم تعديل الرقم الهيدروجيني بواسطة حمض الأستيك إلى $pH=5.9$ ، وتم وضعه فوق المسخن عند درجة حرارة $60C^{\circ}$ لمدة ساعة مع التحريك المستمر حتى يصبح الخليط أكثر هلامية؛

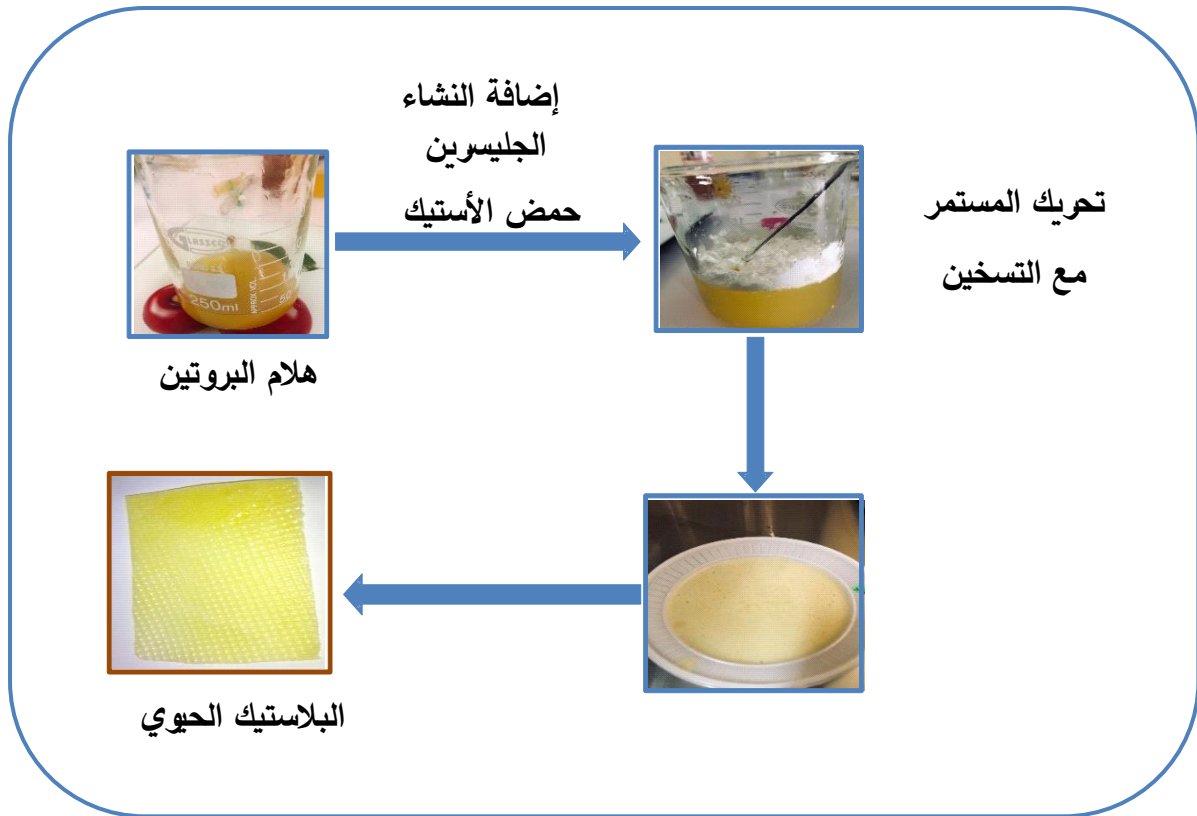
وأخيرا نقوم بوضعه في حوض زجاجي ونتركه يجف لمدة ثلاث أيام، وهذا وفق ما قام به Akram Arabestani و آخرون^[4] ، كما هو موضح في الشكل (5-III).



الشكل (5-III): مخطط يوضح تحضير البلاستيك الحيوي.

تجربة 2:

تم أخذ 5g من هلام البروتين، وإضافة (ml) 100 من ماء المقطر في بيشر مع التحريك جيدا بعد ذلك نقوم بإضافة 5g من النشاء و3g من الجليسرين وإضافة حمض الأستيك لتعديل pH=5 عند درجة حرارة 60°C لمدة ساعة ونصف حتى يصبح عبارة عن هلام ثم يوضع في حوض زجاجي حتى يجف حسب ما قام به M. K. Marichelvam وآخرون^[5].

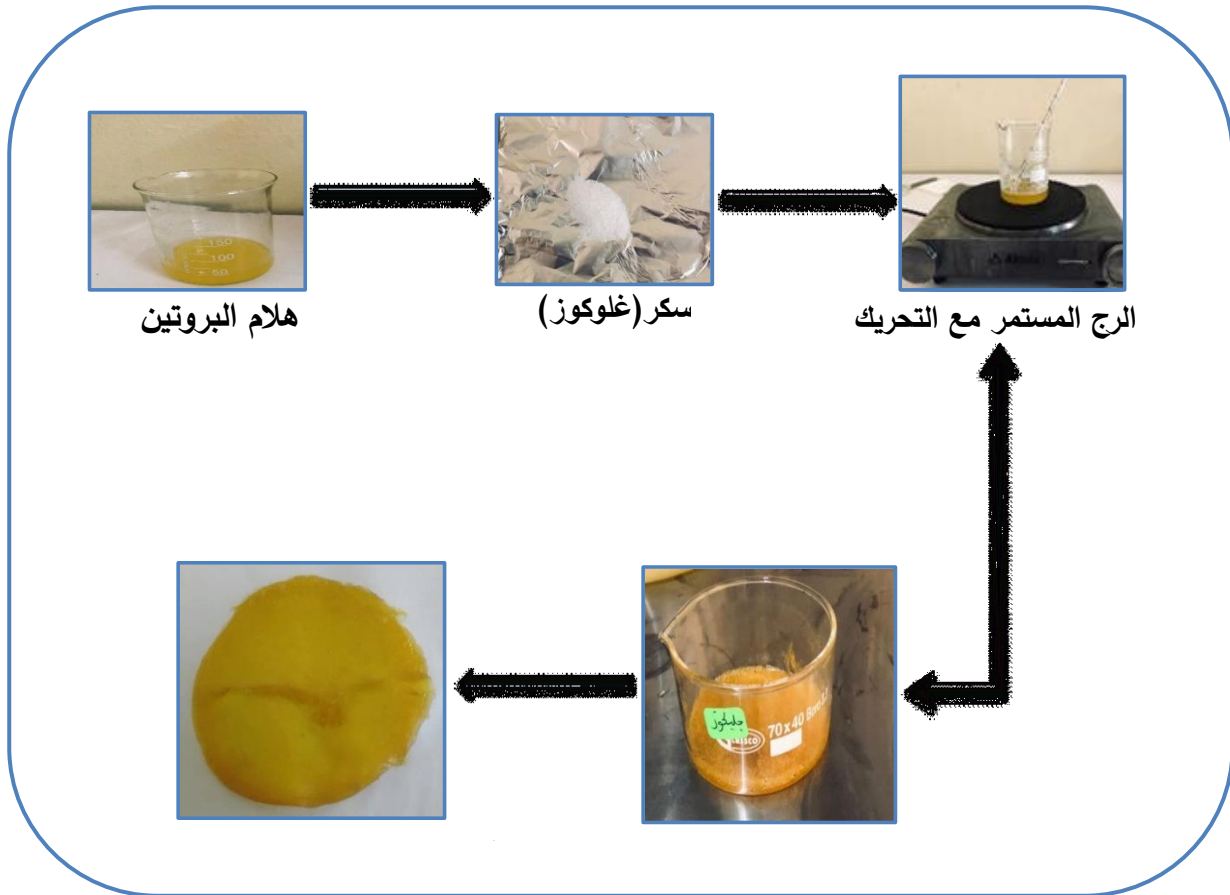


الشكل (III-6): مراحل تحضير البيلاستيك الحيوي بإضافة النشاء.

تجربة 3:

تم أخذ (50 ml) من هلام البروتين مع إضافة 4g من سكر إلى (100 ml) من الماء المقطر، نقوم بتحريك هذا الخليط عند درجة حرارة عند 60°C لمدة ساعة مع إضافة حمض الأستيك لتعديل $\text{pH}=5$ ، وبعدها ونتركه يجف من 3-4 أيام حسب ماتم العمل به Sampy Duggal و آخرون^[6] كما هو مبين في

الشكل (III-7).

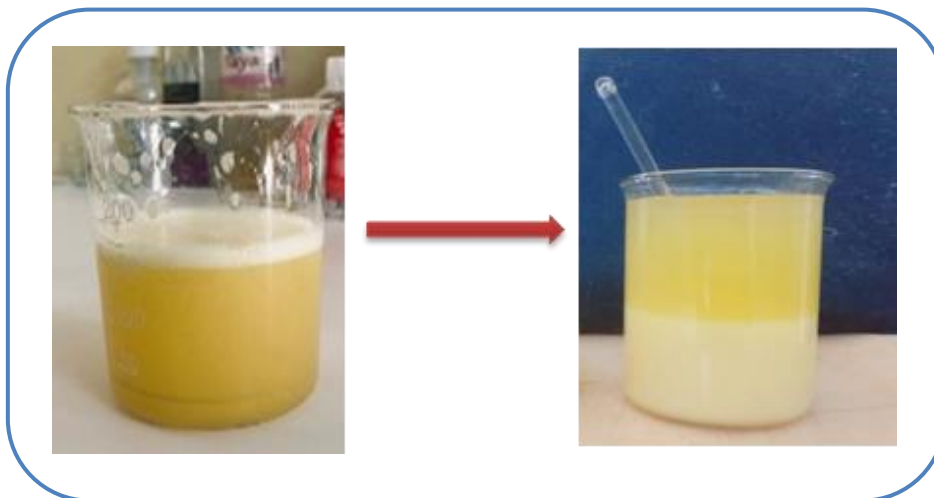


الشكل (III-7): مراحل تحضير فيلم البلاستيك الحيوي بإضافة سكر (غلوكوز).

6.3.III. ترسيب البروتين وتنقيته:

تم أخذ 100 (ml) من هلام البروتين الزين وترسيبه بواسطة الإيثانول 96% كما هو مبين في الشكل

(III-8):



الشكل (III-8): ترسيب البروتين وتنقيته.

4.III. تقنيات التوصيف:

1.4.III. مطيافية الأشعة تحت الحمراء ATR-FTIR:

1.1.4.III. تعريف:

تعتبر المطيافية تحت الحمراء من أهم الوسائل المعتمدة في توضيح ماهية المركبات العضوية^[7]، تقع الأشعة تحت الحمراء في المنطقة المحصورة بين طيف الأشعة المرئية والموجات القصيرة microwave، والتي توافق الطول الموجي الواقع بين 0.75-500 ميكرومتر، وعادة ما يقاس طيف الأشعة تحت الحمراء بمعرفة الطول الموجي λ أو العدد الموجي (ν) فيكون مجال طيف الأشعة تحت الحمراء من 20 cm^{-1} إلى 14000 cm^{-1} ^[8]، وتقسّم منطقة الأشعة تحت الحمراء إلى ثلاث مناطق وهي:

❖ منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة $14000-4000 \text{ cm}^{-1}$.

❖ منطقة الأشعة تحت الحمراء الوسطى $4000-650 \text{ cm}^{-1}$.

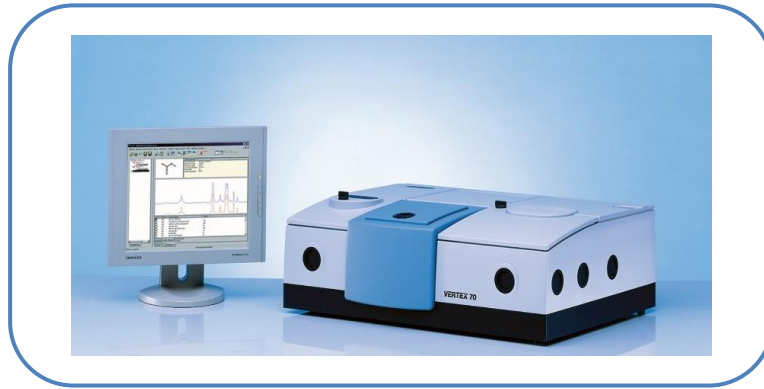
❖ منطقة الأشعة تحت الحمراء البعيدة $650-20 \text{ cm}^{-1}$.

معظم أجهزة التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء تعتمد على منطقة الأشعة تحت الحمراء الوسطى $4000-650 \text{ cm}^{-1}$ في التحليل الطيفي لأن أغلب المركبات العضوية يتم التعرف عليها من خلال المعلومات الطيفية لهذه المنطقة، وخاصة المنطقة ما بين $1500-700 \text{ cm}^{-1}$ وهي منطقة حساسة جداً يطلق عليها منطقة البصمة حيث يتأثر عدد ومواضع الإمتصاصات في طيف الأشعة تحت الحمراء بمجرد تغير بسيط في التركيبة الجزيئية للمركب الكيميائي.

2.1.4.III. مبدأ العمل:

يعتمد مطياف الأشعة تحت الحمراء على طاقة الاهتزاز للجزيئات والتي تتمثل في الطاقة حركية و طاقة الجهد التي تمتلكها الجزيئات، يمكن تمثيل الجزيء بمجموعة من الذرات المرتبطة ببعضها البعض بواسطة روابط كيميائية تحت تأثير التحريض الحراري سيتم تحريك الجزيئات عن طريق حركات الترجمة

والدوران والإهتزاز فيما يتعلق بروابطها الكيميائية تحدث هذه الإهتزازات بترددات مختلفة تعتمد على طبيعة التوصيلات وكذلك بيئتها وتجدر الإشارة إلى أن معظم ترددات الإهتزازات الجزيئية تتوافق مع مجال الأشعة تحت الحمراء للإشعاع الكهرومغناطيسي بواسطة الموجة الكهرومغناطيسية في هذا المجال سيكون هناك إمتصاص للموجة الواردة في كل مرة يكون تردد الموجة الساقطة فيها مساوياً لأحد ترددات إهتزازات الجزيء هذه الحالة المثارة لا تدوم سوى جزء من الثانية والعودة إلى الحالة الأرضية تطلق الطاقة الممتصة على شكل حرارة ضعيفة جداً تتيح هذه التقنية من خلال الكشف عن الإهتزازات المميزة للروابط الكيميائية بين ذرتين [9].



الشكل (III-9): جهاز التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء.

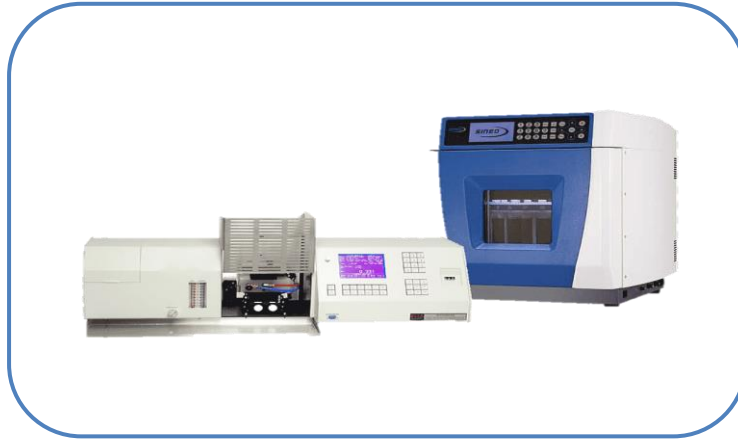
III.2.4. جهاز مطيافية الأشعة المرئية فوق البنفسجية (UV-Vis):

III.1.2.4. تعريف:

تحليل الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية هو تقنية تحليل النوعي والكمي بشكل خاص لعدد كبير من الأنواع العضوية وغير العضوية [9]، يعتمد على إنتقال إلكترونات التكافؤ التي تمر من الحالة الأساسية إلى الحالة المثارة بفضل الموجة الكهرومغناطيسية هذا الإنتقال مصحوب الخصائص الدورانية والاهتزازية للجزيئات التي تتطلب طاقة قوية إلى حد الذي يتوافق مع الطول الموجي المرئي للأشعة فوق البنفسجية [10].

III.2.2.4. مبدأ العمل:

تتم إجراء قياسات الطيف الضوئي باستخدام مقياس طيفي مزدوج الشعاع مرئي للأشعة فوق البنفسجية (Thermo) للمستخلصين المحضرين باستخدام كوارتز بمسار بصري 10 مم يتم ترموستات حاوية مقياس الطيف الضوئي عند 25 درجة مئوية تم إجراء التحليل بين 190 و700 نانومتر الجهاز متصل بحاسوب دقيق يسمح برنامج UV-Probe بتسجيل وتصوير أطياف العينات التي تم تحليلها^[11].



الشكل (III-10): جهاز التحليل الطيفي للأشعة المرئية فوق البنفسجية.

III.3.4. إنحراف الأشعة السينية (DRX)(Rayon X) :

III.1.3.4. تعريف:

الأشعة السينية هي موجات كهرومغناطيسية^[12] ، وهي طريقة تجعل من الممكن تحديد المراحل المتبلورة للعينة وتحديد ترتيب هذه الذرات ومسافتها^[11] كما أنه يجعل من الممكن تحديد العديد من المعلمات الهيكلية مثل المعلمات الشبكية والمواقع البلورية للذرات وحجم واتجاه البلورات المكونة للمادة^[13].

III.2.3.4. مبدأ العمل:

حيود الأشعة السينية هو ظاهرة تشتت متماسك يحدث عندما تتفاعل مع مادة منظمة تنتج الموجة المنعرجة عن تداخل الموجات المنتشرة في كل ذرة لذلك يعتمد على التركيب البلور عندما تركز شعاع عارض من الأشعة السينية أحادية اللون على العينة المراد توصيفها فإنها تتفاعل مع السحابة الإلكترونية للذرات إذا كانت العينة تحتوي على بنية بلورية فقد تكون هناك ظاهرة حيود اعتمادًا على معادلة براج

Bragg:

$$2 d_{hkl} \sin\theta = n\lambda$$

حيث يمثل:

d_{hkl} : المسافة بين شبكية الشبكة البلورية.

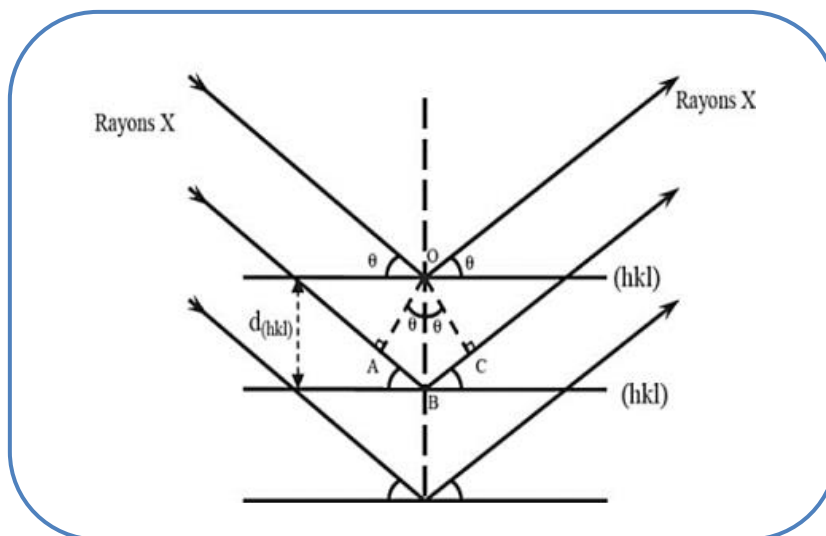
λ : هو الطول الموجي للحزمة الساقطة.

n : عدد صحيح يمثل ترتيب الحيود.

θ : يمثل زاوية حدوث الأشعة السينية بالنسبة لسطح العينة.

تعتمد هذه الحالة على المسافة بين المستويات الشبكية للشبكة البلورية، وبالتالي فإن كل عائلة من

مستويات المسافة بين الشبكية^[9].



الشكل (III-11): يمثل مبدأ حيود الأشعة السينية بواسطة المستويات الشبكية للمؤشرات.

5.III. تحديد خصائص البلاستيك الحيوي:

III. 1.5. قابلية الذوبان:

تم تعريف الذوبان في الماء على أنه النسبة المئوية للمادة الجافة للفيلم التي تذوب بعد 24 ساعة من الغمر في الماء عند 25 درجة مئوية لمدة ساعة، مع التحريك اليدوي اللطيف، تمت إزالة الأفلام من الماء ووضعت في المجففات حتى وصلوا إلى ثابت الوزن للحصول على الوزن الجاف النهائي للفيلم نسبة المواد الذائبة الكلية (%TSM) من الفيلم تم حسابه باستخدام الصيغة التالي^[6]:

$$\text{النسبة الكلية للمواد الذائبة (\%TSM)} = \frac{\text{الأولي الجاف للوزن - النهائي الوزن}}{\text{الوزن جاف الأولي}} * 100$$

III. 2.5. محتوى رطوبة:

تم تحديد محتوى الرطوبة لعينات الفيلم من خلال وزن كل عينة مبدئيًا باستخدام كانت كل عينة فيلم تقريبًا $1 \times 1 \text{ cm}^2$ تم تجفيف العينات في فرن عند 70 درجة مئوية لمدة 3 ساعات ثم يعاد وزنها تم حساب محتوى الرطوبة لكل عينة فيلم عن طريق الطرح الوزن الأولي على الوزن النهائي ثم قسمة النتيجة على الوزن الأولي في الأخير ضرب النتيجة بمقدار 100 للحصول على نسبة مئوية من محتوى الرطوبة^[14] وفقًا للمعادلة التالية:

$$\text{محتوى الرطوبة (\%)} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100$$

W_f : الوزن النهائي.

W_i : الوزن في البداية.

III. 3.5. معدل الانتفاخ:

تم فحص إمتصاص الماء لعينات الفيلم عن طريق وزن عينات الفيلم بمساحة $1 \times 1 \text{ cm}^2$ تم تجفيف العينات عند 70 درجة مئوية لمدة 3 ساعات وتبريدها، ثم وزنها على الفور غمر العينات بعد ذلك في ماء

مقطر لمدة 3 ساعات بدون تقليب بعد فترة الغم ثم تم إزالة العينات من الماء ووزنها كانت النسبة المئوية لامتصاص الماء محسوبًا بطرح الوزن الأولي على الوزن النهائي وقسمة النتيجة على الوزن الأولي و ثم ضرب النتيجة في 100 للحصول على نسبة مئوية كما تمت مناقشته في العديد من التقارير [15, 16].

$$\frac{M_{final} - M_{initial}}{M_{initial}} (\%) = \text{إمتصاص الماء}$$

M_{final} : الوزن النهائي.

$M_{initial}$: الوزن في البداية .

المراجع العربية:

- [1] د. ت. منصور و م. م. م. ز. عرفة, دليل زراعة محصول الذرة الصفراء . الجمهورية العربية السورية: وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي, 1998.
- [2] م. ا. الزراعي و م. ا. عويل, دليل زراعة محصول الذرة الصفراء . الجمهورية العربية السورية: وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي, 2011.
- [8] بيكي, ب. عمر, و السويسي, "المساهمة في تحسين إستخلاص الكيراتين من صوف الغنم بمساعدة البرنامج الإحصائي Design-Expert", 2020.

المراجع الأجنبية:

- [3] E. Z Naji, "Extraction of two local types of cowpea (*Vigna unguiculata* L) proteins and study of its functional properties," *Journal of Kerbala for Agricultural Sciences*, vol. 4, pp. 180-190, 2019.
- [4] A. Arabestani, M. Kadivar, A. Amoresano, A. Illiano, P. Di Pierro, and R. Porta, "Bitter vetch (*Vicia ervilia*) seed protein concentrate as possible source for production of bilayered films and biodegradable containers," *Food Hydrocolloids*, vol. 60, pp. 232-242, 2016.
- [5] M. Marichelvam, M. Jawaid ,and M. Asim, "Corn and rice starch-based bio-plastics as alternative packaging materials," *Fibers*, vol. 7, p. 32, 2019.
- [6] S. Duggal, S. Sharma, R. Verma, and D. Kumar, "preparation of different zein films from corn gluten meal and their use in coating of different model foods".
- [7] A. Naumann, S. Peddireddi, U. Kües, and A. Polle, "10. Fourier Transform Infrared Microscopy in Wood Analysis," *Wood production, wood technology, and biotechnological impacts*, p. 179, 2007.
- [9] E.-H. Benyahia, "Caractérisation structurale et optique de couches minces formées par des agrégats des nanocristaux de ZnO," 2012.
- [10] H. Huang and X. Yang" ,Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method," *Carbohydrate research*, vol. 339, pp. 2627-2631, 2004.
- [11] c. amel and c. fatima, "Biosynthèse de nanoparticules a base d'extrait de plantes et la caractérisation de leurs activités biologiques," *Sciences Alimentaires*, A. MIRA - Béjaia, 2018.

- [12] V. Thirion-Merle, "Spectrométrie de fluorescence X," ed: Editions des archives contemporaines, 2014.
- [13] Y. Shin, I.-T. Bae, B. W. Arey, and G. J. Exarhos, "Facile stabilization of gold-silver alloy nanoparticles on cellulose nanocrystal," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 112, pp. 4844-4848, 2008.
- [14] M. L. Sanyang, S. M. Sapuan, M. Jawaid, M. R. Ishak, and J. Sahari, "Effect of plasticizer type and concentration on physical properties of biodegradable films based on sugar palm (*Arenga pinnata*) starch for food packaging," *Journal of food science and technology*, vol. 53, pp. 326-336, 2016.
- [15] M. S. Maulida and P. Tarigan, "Production of starch based bioplastic from cassava peel reinforced with microcrystalline cellulose avicel PH101 using sorbitol as plasticizer," in *J. Phys. Conf. Ser.*, 2016.
- [16] A. Edhirej, S. Sapuan, M. Jawaid, and N. Ismarrubie Zahari, "Preparation and Characterization of Cassava Starch/Peel Cellulose Composite Film," *Polymer Composites*, vol. 39, pp. 1704-1715, 2018.

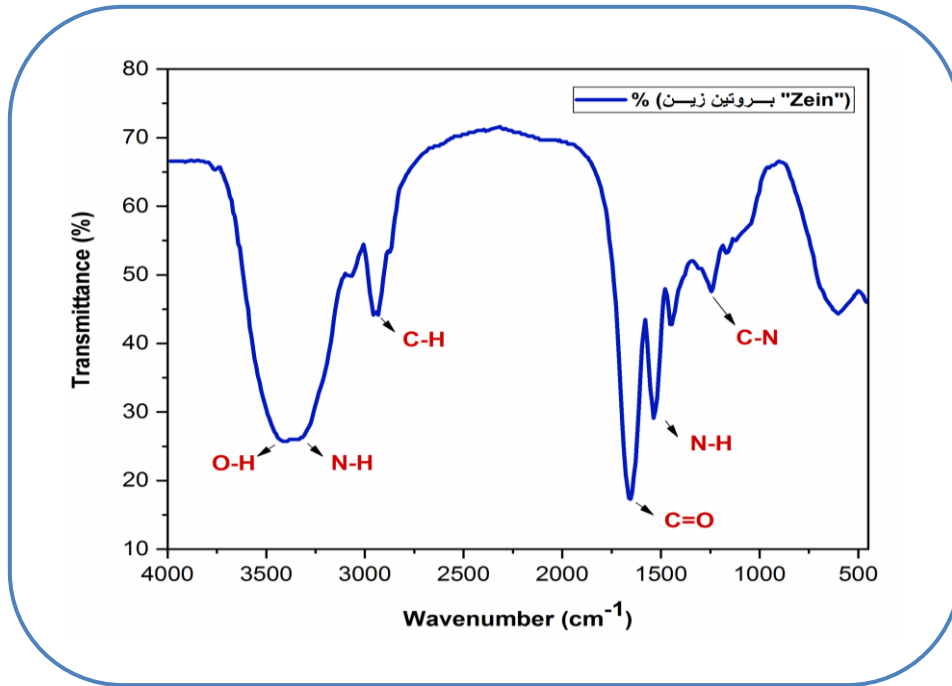
الفصل الرابع: النتائج و المناقشة

IV. دراسة خصائص العينات :

1. IV. تحليل بواسطة الأشعة تحت الحمراء ATR-FTIR:

لتحديد المجموعات الكيميائية الرئيسية وكذا ترابط عناصرها داخل عينة بروتين الزين تم إستخدام

جهاز FTIR-ATR في درجة حرارة الغرفة كما يوضح الشكل (III-1).



الشكل (III-1): طيف الأشعة تحت الحمراء لبروتين الزين.

يظهر طيف الأشعة تحت الحمراء بقمة واسعة لتمدد روابط O-H و N-H للأحماض الأمينية

للبروتين بين 3498.98cm^{-1} و 3306.34cm^{-1} ويمثل رابطة أميد I، كما سجلت عند cm^{-1}

1667.32 تمدد روابط الكاربونيل $\text{C} = \text{O}$ لمجموعات أميد التي تنتمي إلى مجموعات الببتيد، أما بالنسبة

لمجموعة أميد II ظهرت في حدود 1537.2581cm^{-1} - 1523.2581cm^{-1} بإهتزازات متغيرة

وتمدد الإهتزازات C-H بالمقابل تميزت الوظيفة N-H عند 3306.34cm^{-1} بقمة واسعة وضعيفة مقارنة

بمجموعتي C-H العطرية، في حين سجلت مجموعة النتريل C-N عند 1219.73324cm^{-1} كما تم

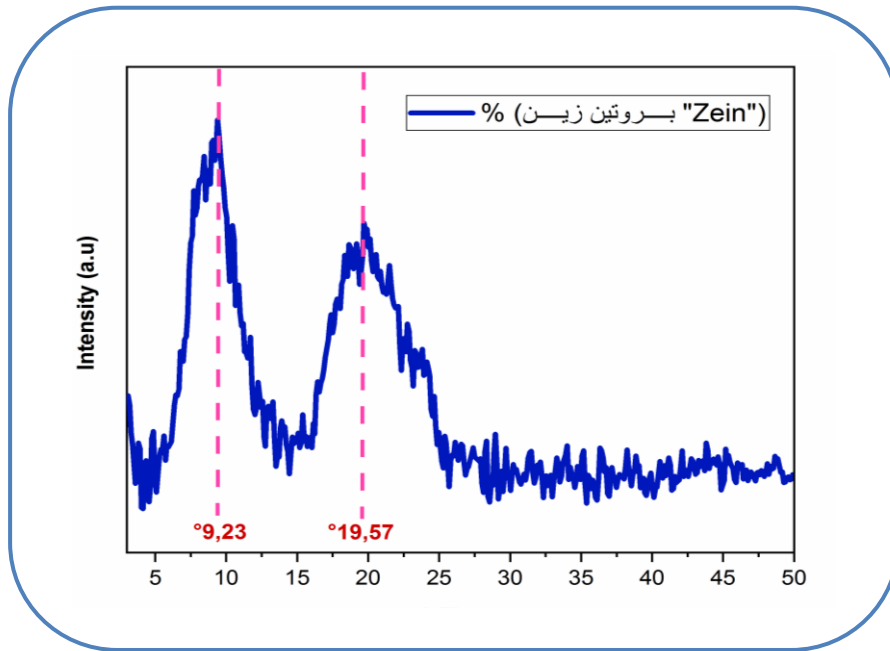
الحصول على نفس النتائج من طرف Elisângela Corradini وأخرون و Yingling Miao وأخرون^[1].

[2]

2.IV. تحليل بواسطة الأشعة السينية Rayon-X :

لتحليل المستخلص من العينة إستخدمت حيود الأشعة السينية XRD لتحديد الخصائص الهيكلية

(البلورية أو غير البلورية) كما يوضح الشكل (2-III).



الشكل (2-III): طيف الأشعة السينية (XRD) للهلام المستخلص

تم فحص العينة بالتحليل الطيفي للأشعة السينية XRD باستخدام جهاز (Benchtop Powder

Diffraction System) مع إشعاع (Cu-Kα)، بطول الموجة (λ = 1.5418 Å) لتحديد الخصائص

الهيكلية^[3] الموضحة في الشكل (2-III)، هناك قمتان مميزتان الحلزونية (Beta sheet) من البروتين،

ورقة بيتا أو (Beta sheet) هي بنية الثانوية للبروتين العادي تتكون ورقة بيتا من خيوط متصلة بشكل جانبي

بواسطة ما لا يقل عن إثنين أو ثلاثة روابط هيدروجينية أساسية، وتشكل ورقة مطوية ملتوية، كما هو عبارة

عن إمتداد لسلسلة بولي بيتيد (β-Strand) عادة ما يتراوح من 3 إلى 10 أحماض أمينية طويلة مع العمود

في شكل ممتد كما هو موضح في الشكل (5-I) في الفصل الأول كما قام به Yingling Miao وأخرون [2].

من النتائج السابقة وباستخدام معادلة Bragg تحصلنا على بروتين الزين (ملحق 3) بمتوسط قطر 94.749nm كما هو موضح في الجدول (1-IV):

الجدول (1-IV): يوضح قطر بروتين الزين المستخرج من الذرة الصفراء باستخدام معادلة Bragg.

العينة	2th	hkl	Intensite	FWHM	d(hkl)	a(nm)	c(nm)	D(nm)	Dmoy(nm)
بروتين زين	9.104	:100:	51.083	3.8172	0.970	1.120	-	2.087	94.749
	20.033	:202:	57.779	6.299	0.442	-	0.885	1.280	
	29.685	:101:	0.111	0.029	0.300	-	-	280.879	

قمنا بحساب نسبة التبلور للعينة بواسطة العلاقة التالية [3]:

$$\%Cr = \frac{I_{200} - I_{am}}{I_{200}} \times 100$$

I_{200} شدة الحيود $2\theta(19.57)$

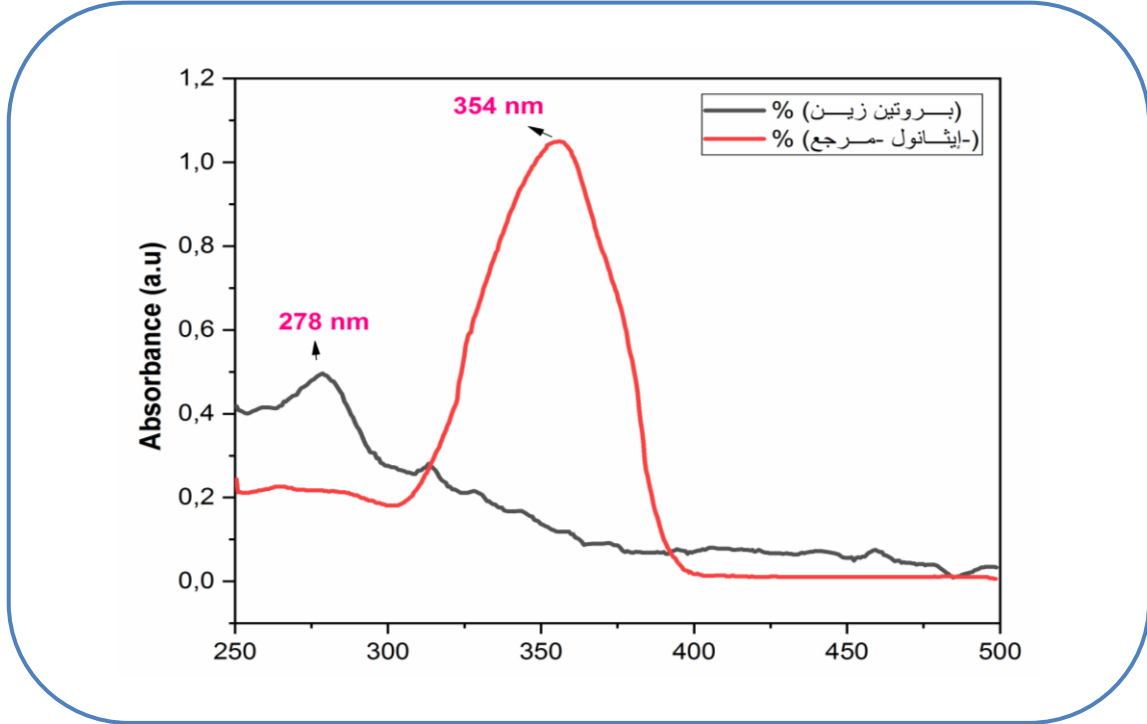
I_{am} شدة الحيود $2\theta(9.23)$

من خلال النتيجة التي تحصلنا %11.588 عليها نلاحظ أن بروتين الزين غير متبلور.

3.IV. تحليل الأشعة فوق البنفسجية UV-Vis :

تمت تحليل عينة الهلام المستخلص وإستخدامت الأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis) للتحليل النوعي

والكمي للإيثانول المرتبط تساهمياً مع الزين (ZN-ETH) كما هو مبين في الشكل (3-III).



الشكل (3-III): طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis) للهلام المستخلص.

يتمتع طيف بروتين الزين بذروة واحدة عند 278 nm تحت الأشعة فوق البنفسجية، بينما أظهر

الإيثانول أيضا ذروة واحدة قوية للغاية عند 354nm يشير التحول الطيفي إلى إرتباط الإيثانول بنجاح مع

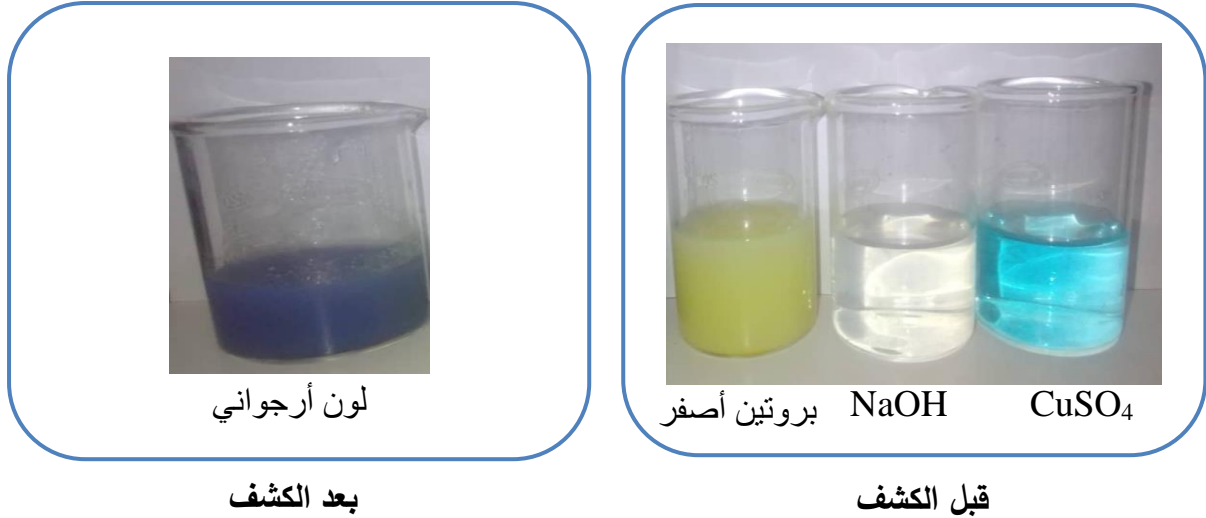
الزين [4, 5].

4.IV. كشف عن هلام البروتين:

تم تحديد وجود هلام البروتين عن طريق إختبار البيوريت (CuSO_4 و NaOH بتركيز مخفف)

لوحظت تغيرات في اللون الى لون أرجوني في بيشر الأخر دلالة عن وجود رابطة الببتيد كما هو مبين في

الشكل (4-III)، كذلك قد تم الحصول على هذه النتائج من طرف Arun Gupta وآخرون [6].



الشكل (4-III): يوضح طريقة الكشف عن هلام البروتين.

5.IV. حساب نسبة الرطوبة ومعدل الإنتفاخ:

نلاحظ من نتائج الجدول أن هناك تباين في نسبة الرطوبة ومؤشر الإنتفاخ وهذا راجع إلى الاختلاف في تركيبة كل بلاستيك، العينة التي تحتوي على جلسرين وبروتين نسبة الرطوبة ومؤشر الإنتفاخ عالية بالنسبة للعينات الأخرى بينما تجد مؤشر الإنتفاخ عالي في كل في العينات كما هو موضح في **الجدول (2-IV)**.

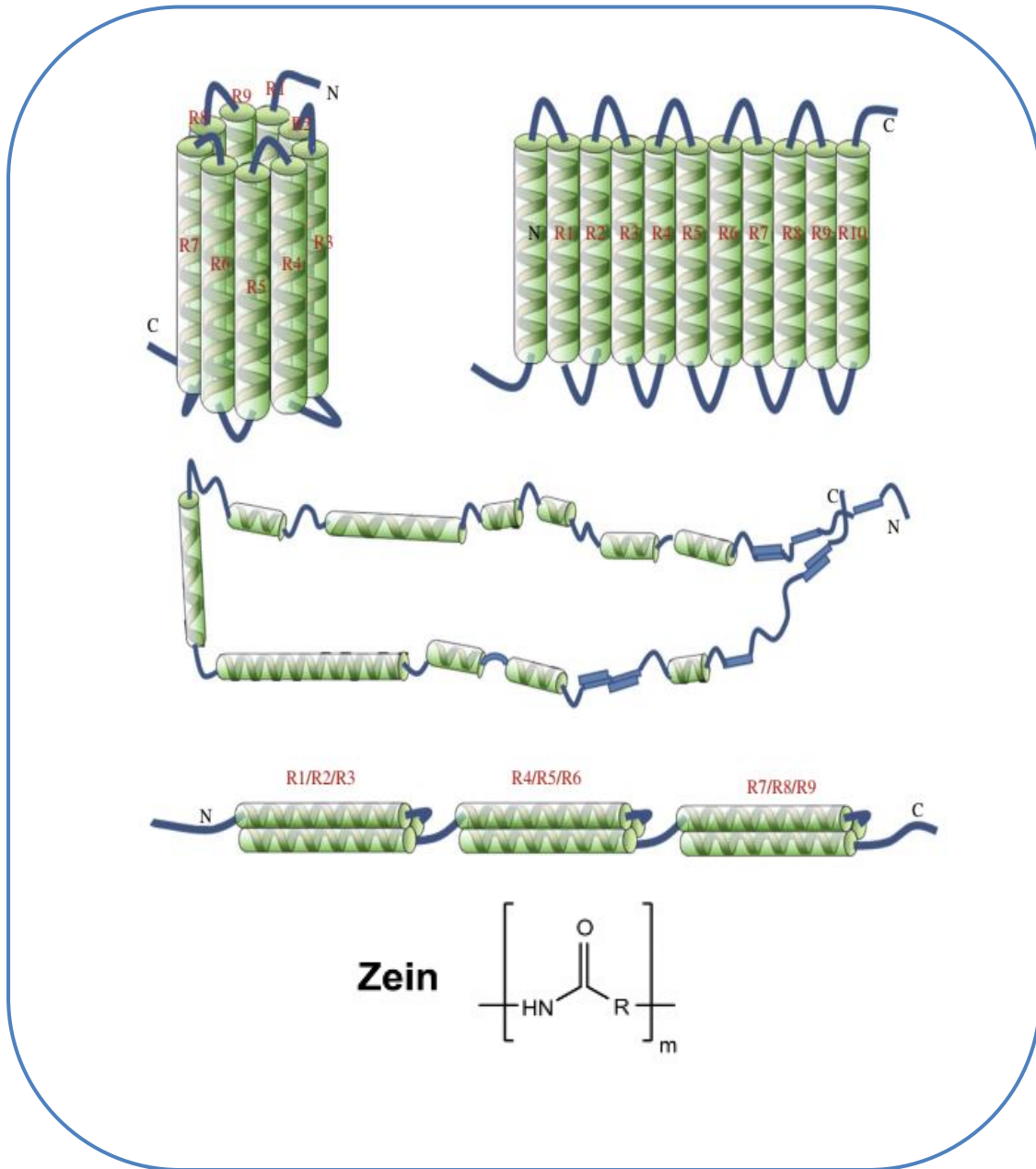
يتم الحكم عن جودة البلاستيك المحضر حسب عاملي مؤشر الإنتفاخ والرطوبة يجب معرفة تطبيقاته حيث أن لكل تطبيق شروط ومميزات يجب توفرها في البلاستيك.

الجدول (2-IV): يمثل نسبة الرطوبة ومؤشر الإنتفاخ للعينات.

مؤشر الإنتفاخ %	نسبة الرطوبة %	العينات
75.5	5.4	جلسرين+بروتين
55.32	0.7	جلسرين+النشاء+بروتين
45.15	1.2	جلكوز+بروتين

6.IV. تركيبة بروتين الزين:

يتكون α - زين من وحدات تكرر متجانسة للغاية ويحتوي على نسبة عالية من هياكل الحلزوني، β - زين يتكون من عدد قليل من هياكل الحلزوني مع كون معظم التسلسل عبارة عن ورقة وهيكلي على شكل لفات عشوائية، كشفت النتائج أن β - زين يحتوي على 33% هياكل حلزونية و31% هياكل ورقية بواسطة التحليل الطيفي FTIR ، كما هو موضح في الشكل (5-III) [7].



الشكل (5-III) : هيكل البروتين الزين.

7.IV. حساب مردود البروتين المستخلص:

مردود البروتين المستخلص هو النسبة بين وزن الجاف للبروتين المستخلص ووزن العينة قبل الإستخلاص، يحسب مردود البروتين المستخلص حسب العلاقة التالية:

$$\text{المردود (\%)} = \frac{\text{الوزن الجاف (غ)}}{\text{وزن العينة (غ)}} \times 100$$

من خلال هذه النتائج، كانت نسبة المردود جيدة مقارنة بالدراسات السابقة حيث تحصلنا على مردود بروتين زين بنسبة تقدر %31.56 كقيمة تجريبية؛ حيث كان المردود حوالي %27.25، وهذا ما نلخصه مقارنة بنتائج الدراسة السابقة مع دراستنا أن الذرة الصفراء موردا جيدا لمادة البلاستيك الحيوي^[8].

المراجع الأجنبية

- [1] E. Corradini, P. S. Curti, A. B. Meniqueti, A. F. Martins, A. F. Rubira, and E. C. Muniz, "Recent advances in food-packing, pharmaceutical and biomedical applications of zein and zein-based materials," *International journal of molecular sciences*, vol. 15, pp. 22438-22470, 2014.
- [2] Y. Miao, R. Yang, D. Y. Deng, and L.-M. Zhang, "Poly (L-lysine) modified zein nanofibrous membranes as efficient scaffold for adhesion, proliferation, and differentiation of neural stem cells," *Rsc Advances*, vol. 7, pp. 17719-11, 2017.
- [3] R. M. Brown Jr, "The biosynthesis of cellulose," *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, vol. 33, pp. 1345-1373, 1996.
- [4] T. Chuachroen and C. M. Sabliov, "Zein nanoparticles as delivery systems for covalently linked and physically entrapped folic acid," *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 19, pp. 1-12, 2017.
- [5] F. De Boer, R. Kok, A. Imhof, and K. Velikov, "White zein colloidal particles: synthesis and characterization of their optical properties on the single particle level and in concentrated suspensions," *Soft Matter*, vol. 14, pp. 2870-2878, 2018.
- [6] Q. H. Tran and A.-T. Le, "Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives," *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, vol. 4, p. 033001, 2013.
- [7] X. Zhang, C. Dong, Y. Hu, M. Gao, and G. Luan, "Zein as a structural protein in gluten-free systems: an overview," *Food Science and Human Wellness*, vol. 10, pp. 270-277, 2021.
- [8] A. A. H. Al-Bayati, M. T. Al-Kaisey, and M. J. Hindi, "Corn Zein Extraction and Utilization in Preparation of Edible and Biodegradable Films," vol. 5, 2009.

الخطمة

الختامة

تحتوي جميع النباتات على بروتينات يختلف محتواها حسب نوع النبات ومرحلة النضج، و يعد البروتين الزين (بروتين نباتي) من بروتينات النباتية المستخرجة بشكل نقي.

أشرنا في هذا البحث لإستخلاص البروتين النباتي الزين من بذور الذرة الصفراء كمادة مستدامة لإستخدامه في تحضير الأغشية بلاستيكية الحيوية؛ تمت دراسة خصائص العينات البروتين الزين باستخدام جهاز FTIR-ATR حيث سجلت عند طول موجي 1667.32 cm^{-1} تمدد روابط الكربونيل $C = O$ لمجموعات أميد التي تنتمي إلى مجموعات الببتيد، وبواسطة تقنية الأشعة السينية XRD أشارت النتائج متوسط قطر البروتين الزين 94.749 nm و نسبة تبلور 11.588% أن بروتين الزين غير متبلور ، و إمكانية وجود هيكل للبروتين على شكل ورقة بيتا (Beta sheet)، وتشكله على شكل ورقة مطوية ملتوية بإعتباره امتداد لسلسلة بولي ببتيد، واستخدامات الأشعة فوق البنفسجية UV-VIS للتحليل النوعي والكمي للإيثانول المرتبط تساهمياً مع الزين.


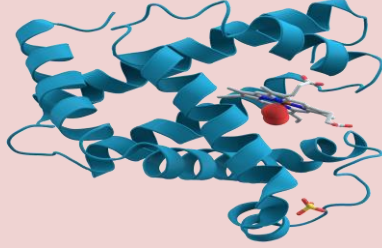
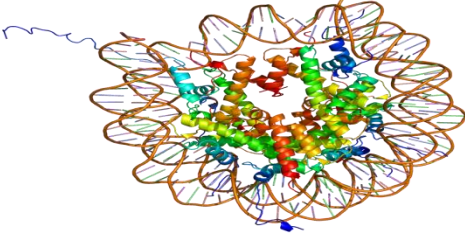
و في الأخير نظرا للأثار السلبية للبلاستيك الاصطناعي فإن تطوير البلاستيك القابل للتحلل الحيوي أصبح أمر ضروري، يمكن للبلاستيك والأغشية المصنعة الدخول في عدة تطبيقات كالتغليف الآمن والصديق للبيئة و تغليف الأدوية، نقترح دراسة أنواع أخرى من الحبوب تخدم صحة الإنسان وتحافظ على البيئة.

الملاحق

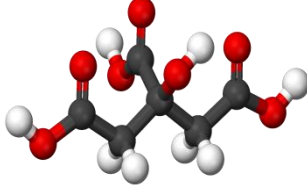
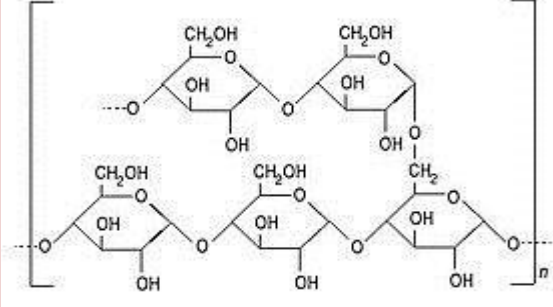
الملحق الأول

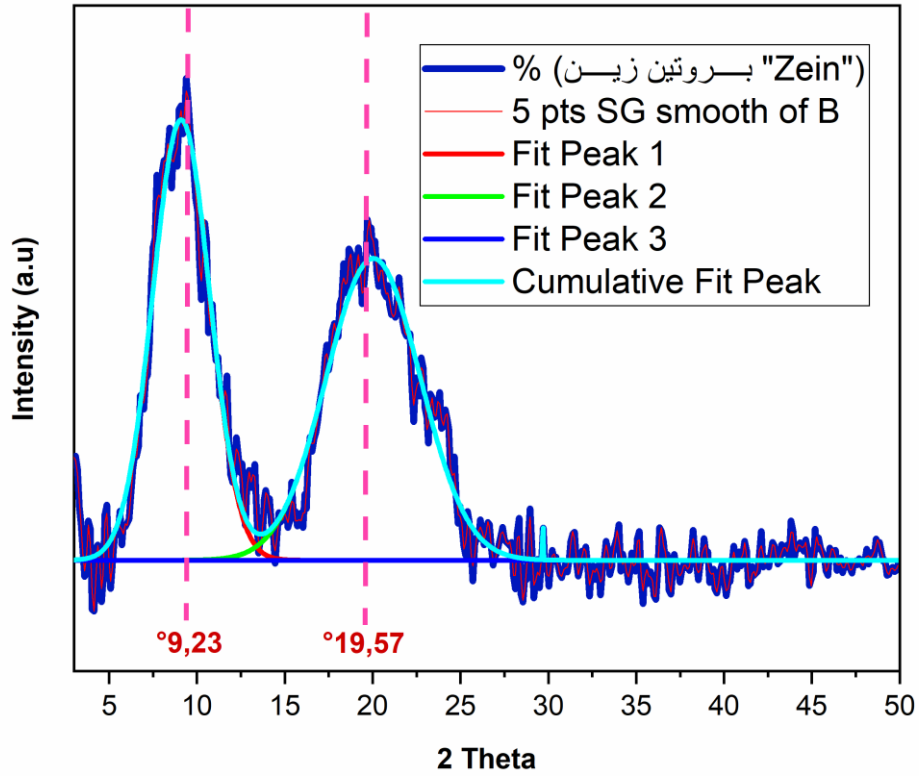
التسمية اللاتينية	وصفه	الصيغة الكيميائية	الإسم بالعربية
Carboxyl Group	مركبات عضوية	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$	مجموعة الكربوكسيل
Peptide	مركب عضوي		الببتيد
Amide Group	مركبات عضوية	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{N} \\ \quad \\ \text{R}' \quad \text{R}'' \end{array}$	مجموعة الأميد

الملحق الأول

<p>Lingua Latīna</p>	<p>قابل للذوبان في الماء وفي المحاليل الملحية الضعيفة</p>		<p>الألبومينات</p>
<p>Protein</p>	<p>مركب عضوي معقد التركيب</p>		<p>البروتين</p>
<p>Histone</p>	<p>بروتينات قلوية</p>		<p>الهستونات</p>
<p>Carbohydrate</p>	<p>مركبات معقدة</p>	$ \begin{array}{c} \text{O}=\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	<p>الكربوهيدرات</p>

الملحق الثاني

التسمية اللاتينية	وصفه	الصيغة الكيميائية	الإسم بالعربية
Glucose	سكر معقد	$C_6H_{12}O_6$	الغلوكوز
Ethanol	مادة قابلة للإشتعال عديمة اللون	C_2H_5OH	الإيثانول
Copper sulfate	بلورات زرقاء	$CuSO_4$	كبريتات النحاس
Acide citrique	حمض عضوي ضعيف		حمض الستريك
Glycerine	سائل شفاف	$C_3H_8O_3$	جلسرين
Hexane	تستخدم كمذيب حامل في التفاعلات العضوية	C_6H_{14}	الهكسان
Amidon	مسحوق ناعم جدا عديم اللون	 $(C_6H_{10}O_5)_n$	النشاء



$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta}$$

D: Crystallites Size (nm)

K:0.9(Scherrer constant)

β : FWHM(radians)

λ :0.15406nm (wavelength of the x-ray sources)

θ :peak position radians

$$d(hkl) = \frac{\lambda}{2\sin(\text{Radians}(\frac{2\theta}{2}))}$$

$$\mathbf{a(nm)} = \sqrt{\frac{4 \times d(hkl)}{3}}$$

$$\mathbf{C(nm)} = 2 \times d(hkl)$$

$$= \frac{D}{3} \mathbf{Moy(nm)}$$

Nonlinear Curve Fit (Gaussian) (25-04-2022 10:42:

Parameters

		Value	Standard Error	t-Value	Prob> t	Dependency
Peak1(B)	y0	0.16699	0.04699	3.55409	4.20627E-4	0.46658
	xc	9.10481	0.02537	358.87622	0	0.00415
	A	51.08322	0.79126	64.55908	0	0.49166
	w	3.81723	0.06246	61.1191	0	0.39252
Peak2(B)	y0	0.16699	0.04699	3.55409	4.20627E-4	0.46658
	xc	20.0338	0.04751	421.71508	0	0.00215
	A	57.7795	1.09989	52.5319	0	0.56583
	w	6.29962	0.12086	52.12307	0	0.43009
Peak3(B)	y0	0.16699	0.04699	3.55409	4.20627E-4	0.46658
	xc	29.68569	--	--	--	1
	A	0.11137	--	--	--	1
	w	0.02926	11459.73623	2.5537E-6	1	1

Reduced Chi-sqr = 0.526403376024

COD(R^2) = 0.95824906176679

Iterations Performed = 21

Total Iterations in Session = 21

Fit did not converge - mutual dependency exists between parameters.

You may have overparameterized the fitting function. Fixing one of them may eliminate this problem.

Standard Error was scaled with square root of reduced Chi-Sqr.

Statistics

	B
Number of Points	447
Degrees of Freedom	437
Reduced Chi-Sqr	0.5264
Residual Sum of Squares	230.03828
R-Square (COD)	0.95825
Adj. R-Square	0.95739
Fit Status	Failed(-203)

Fit Status Code :

-203 : Fit did not converge - mutual dependency exists between parameters.

You may have overparameterized the fitting function. Fixing one of them may eliminate this problem.

Summary

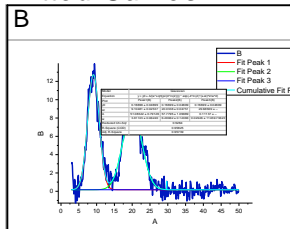
	y0		xc		A		w		Statistics	
	Value	Standard Error	Value	Standard Error	Value	Standard Error	Value	Standard Error	Reduced Chi-Sqr	Adj. R-Square
Peak1(B)	0.16699	0.04699	9.10481	0.02537	51.08322	0.79126	3.81723	0.06246	0.5264	0.95739
Peak2(B)	0.16699	0.04699	20.0338	0.04751	57.7795	1.09989	6.29962	0.12086		
Peak3(B)	0.16699	0.04699	29.68569	--	0.11137	--	0.02926	11459.73623		

ANOVA

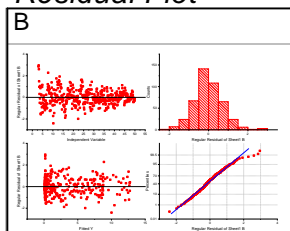
		DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
B	Regression	10	8037.03032	803.70303	1526.78168	0
	Residual	437	230.03828	0.5264		
	Uncorrected Total	447	8267.0686			
	Corrected Total	446	5509.77499			

At the 0.05 level, the fitting function is significantly better than the function y=constant.

Fitted Curves



Residual Plot



ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى إستخلاص بروتين الزين للذرة الصفراء، وإستعماله في تحضير البلاستيك الحيوي، إنطلاقاً من هلام البروتين الزين المستخلص بثلاث تجارب مختلفة الأولى هلام البروتين مع الجليسرين والثانية هلام البروتين مع النشاء مع الجليسرين والثالثة هلام البروتين مع الجلوكوز ومن خلال هذه النتائج التي تم فيها إستخلاص البروتين من الذرة الصفراء، كانت نسبة المردود جيدة بنسبة تقدر % 31.56.

فمن خلال هذه النتائج إستخدماً مطيافية الأشعة تحت الحمراء (ATR-FTIR) لتحديد الجامع ال وظيفية التي أكدت تواجد روابط بولي بيبتيديّة مع تكون أحماض أمينية، بإضافة إلى تحاليل الأشعة السينية (Ray-X) الذي أظهر أن بروتين الزين غير متبلور، بواسطة الأشعة المرئية فوق البنفسجية (UV-ViS) أشارت إلى تحول الطيف إلى إرتباط الإيثانول بنجاح مع الزين. **الكلمات المفتاحية:** بروتين الزين، الذرة، الأحماض الأمينية، إستخلاص، البلاستيك الحيوي.

Abstract

This study aims to extract the zein protein from maize and use it in the preparation of bioplastics. Based on the protein gel extracted in three different experiments, the first is protein gel with glycerin, the second is protein gel with starch, and the third is protein gel with glucose. Through These results, the protein was extracted from maize, the return rate was good, with an estimated rate of 31.56%.

Through these results, we used (ATR-FTIR) infrared spectroscopy to determine the functional groups of the extracted materials, which confirmed the presence of polypeptide bonds with an amino acid component, in addition to the X-ray analyzes (Ray-X), which showed that the zein protein is amorphous, and by UV- ViS) indicated a slight shift to the successful association of ethanol with zein.

Key words: Protein Zein, Corn, Amino Acids, Extraction, Bioplastics.