

بررسی خواص کیفی، عملکردی و زیست‌فعالی در گندم سن‌زده

مریم کیومرثی^{۱*}، مهدی کدیور^۲، سیدرضا زارعی^۳، مجید طالبی^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی، اصفهان
* نویسنده مسئول (maryam_kiumarsi@yahoo.com)

۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی، اصفهان

۳- استادیار، گروه شیمی و بیوشیمی، دانشگاه استرالیای غربی، پرت، استرالیا

۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی، اصفهان

چکیده

باوجود تمام پیشرفت‌های حاصله در زمینه کنترل آفت‌ها، سن همچنان در اکثر مناطق کشت گندم ایران یک آفت خطرناک محسوب می‌شود. این حشره با هیدرولیز پروتئین‌ها توسط پروتئیناز بزاق خود باعث ایجاد خصوصیات ضعیف رئولوژیکی و تولید نان با حجم کم و بافت نامناسب می‌گردد. ازطرفی هیدرولیز پروتئین‌ها می‌تواند در بهبود خواص عملکردی، تولید پپتیدهای زیست‌فعال و بهبود سیستم فیزیولوژیک بدن نقش مؤثری داشته باشد. در این تحقیق، ابتدا نمونه‌های گندم با درصد‌های مختلف سن‌زدگی (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) تهیه گردید و آزمون‌های مختلف جهت بررسی اثر سن‌زدگی بر ویژگی‌های کیفی، عملکردی و زیست‌فعالی گندم انجام گرفت. نتایج آزمون‌های کیفی آرد نشان داد که با افزایش درصد سن‌زدگی، عدد زلنی کاهش یافت که نشان‌دهنده کیفیت پایین گلوتن و در نتیجه نامناسب بودن آرد به‌منظور تولید نان می‌باشد. ازطرف دیگر با افزایش درصد سن‌زدگی، درجه هیدرولیز در نمونه‌ها افزایش یافت که به تبع آن، تغییراتی در روند خواص عملکردی نظیر حلالیت و امولسیون‌کنندگی دیده شد. با افزایش درصد سن‌زدگی، حلالیت نمونه‌ها افزایش یافت و خاصیت امولسیون‌کنندگی در گندم تا سن‌زدگی ۲۵ درصد بیشترین مقدار بوده اما با افزایش درصد سن‌زدگی، این ویژگی کاهش یافت. نتایج بررسی ویژگی‌های زیست‌فعالی نمونه‌ها نشان داد که در نتیجه افزایش درصد سن‌زدگی، پپتیدهای کوتاه‌زنجیر با خاصیت بازدارندگی آنزیم ACE و آنتی‌اکسیدانی تولید شد، به‌طوری‌که این دو خاصیت در گندم کاملاً سن‌زده بیشترین و در گندم سالم کمترین مقدار بود.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۷/۱۷

واژه‌های کلیدی

پپتیدهای زیست‌فعال

خواص عملکردی

درجه هیدرولیز

گندم سن‌زده

مقدمه

سطح مناطق آلوده به سن در خاورمیانه حدود ۵/۴ میلیون هکتار است که حدود ۳ میلیون هکتار آن مربوط به ایران می‌باشد (خانجانی، ۱۳۸۱). این آفت‌ها مجموعه‌ای از گونه‌های متعلق به دو خانواده بسیار نزدیک به نام‌های *Pentatomidae* و *Scutelleridae* هستند که دو جنس مهم در این خانواده‌ها *Aelia* (متعلق به *Pentatomidae*) و *Eurygaster* (متعلق به *Scutelleridae*) می‌باشند. در رابطه با مطالعه‌هایی که

سن گندم مهمترین آفت موجود در ایران و کشورهای منطقه است و باوجود تمام پیشرفت‌های حاصله در زمینه کنترل آفت‌ها، سن در اکثر مناطق کشت گندم هنوز هم یک آفت خطرناک است و بروز خشکسالی در سالهای اخیر باعث گسترش خسارت سن گندم شده است. در منطقه خاورمیانه، سن‌زدگی گندم در ایران به مراتب بیشتر از کشورهای منطقه است. به‌طوری‌که

آمینواسیدها و نیز پروتئین‌ها با دامنه گسترده‌ای از وزن مولکولی هستند. پپتیدهای زیست‌فعال^۵ می‌توانند از محصولات هیدرولیز گندم به‌وسیله آفت سن باشند. این پپتیدها که حاصل از هیدرولیز پروتئین‌های گوناگون هستند، امروزه اهمیت بسیاری پیدا کرده‌اند و شامل تعداد محدودی آمینواسید (بین ۱۶-۳) و وزن مولکولی کمتر از ۶۰۰۰ دالتون می‌باشند که به واسطه کوتاهی قادرند وارد رگ‌های خونی شوند و تأثیر مثبت مستقیم بر ارگان‌های بدن داشته باشند به‌طوری‌که تحقیق‌ها نشان داده است این پپتیدها اثرات ضد میکروبی، ضد فشارخونی، آنتی‌اکسیدانی، ضد چاقی، تنظیم ایمنی بدن، کاهش کلسترول خون، افزایش جذب املاح، ضد انعقاد خون و فعالیت شبه مخدری دارند (Korhonen et al., 2006). شیرگاو، پنیر و محصولات لبنی بزرگ‌ترین منابع پروتئین و پپتیدهای زیست‌فعال هستند. همچنین این پپتیدها را می‌توان از منابع گیاهی و حیوانی دیگر نظیر گوشت، ژلاتین، تخم‌مرغ، انواع ماهی، گندم، ذرت، لوبیا، برنج، قارچ، کدو و سورگوم جدا نمود (Wang et al., 2005). Olance و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیق خود ویژگی‌های عملکردی گلوتن هیدرولیز شده به‌وسیله پروتئاز خالص‌سازی شده آفت سن (گونه Eurygaster) را بررسی کردند و نتایج نشان داد که حلالیت، ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی با افزایش درجه هیدرولیز تا ۵ درصد افزایش یافت.

اهداف اصلی این تحقیق، اندازه‌گیری و ارزیابی ویژگی‌های کیفی آرد گندم سن‌زده و مقایسه با نوع سالم آن، بررسی و ارزیابی خواص عملکردی و همچنین ویژگی‌های زیست‌فعالی در گندم با درصد‌های مختلف سن‌زدگی به‌منظور استفاده اقتصادی از آن به‌عنوان محصولی با ارزش افزوده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از گندم سن‌زده مرجوعی (بیشتر از ۵ درصد) موجود در اداره غله استان اصفهان استفاده شد که گندم‌های سن‌زده از نوع سالم آن جدا شده و برای تهیه نمونه‌ها، به نسبت‌های مشخص با نوع سالم همان

روی *Nyctelia huttoni* انجام شده است، آنزیم تریپسین شده از این آفت در دانه، یک پروتئاز قلیایی محلول در آب با فعالیت بهینه در pH: ۹ و دمای ۴۰- ۳۵ درجه سانتی‌گراد است. فعالیت این آنزیم در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محدوده ۱۱-۴/۵ pH پایدار است این آنزیم از دسته سرین پروتئازها^۱ است و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پایدار است. آثار سن بر ترکیبات شیمیایی و نیز ساختار اندوسپرم نشان می‌دهد ساختمان دانه‌های سالم از استحکام بیشتری در مقایسه با نوع آسیب‌دیده آن برخوردار است (Every et al., 1992). این پدیده به‌طور شدیدی بر خواص رئولوژیکی نیز مؤثر است. خمیر حاصل از گندم سن‌زده بسیار نرم و چسبنده است و نان حاصل حجم کمتری دارد، همچنین سطح پوسته این نان و بافت مغز نیز سفت‌تر می‌باشد (افسریان و همکاران، ۱۳۸۵). مطالعه‌های متعددی درباره گندم سن‌زده انجام شده است. Bonet و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که در طی انکوباسیون گلوتن گندم سالم، افزایش اندکی در میزان ترکیبات پروتئینی محلول ایجاد می‌شود اما برخلاف آن، افزایش قابل توجهی در مقدار پروتئین‌های محلول در آب پس از اینکوباسیون گلوتن گندم آسیب‌دیده توسط سن دیده شد. نتایج Kong و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که هیدرولیز گلوتن گندم توسط آنزیم آلکالاز در مقایسه با آنزیم‌های تجاری دیگر نظیر تریپسین^۲، پپسین^۳ و پانکراسین^۴ تأثیر بیشتری بر افزایش درجه هیدرولیز داشت و ویژگی و نحوه اثر این آنزیم تجاری تا حدود زیادی مشابه پروتئاز مترشحه از بزاق سن می‌باشد. Aja و همکاران (۲۰۰۴) آسیب گندم به‌وسیله گونه‌های *Erygaster* و *Aelia* و تأثیر آن روی گلوتن و در نهایت ویژگی‌های ترکیبات محلول در آب آزاد شده حین هیدرولیز را بررسی کردند. طبق گزارش آنها میزان آسیب به مرحله‌ای از رسیدگی و بلوغ که دانه‌ها در آن قرار دارند بستگی دارد که نتیجه آن کاهش شدید و یا خفیف در کیفیت خواص نانواپی است. ترکیبات محلول پس از هیدرولیز شامل پپتون، پپتید،

¹ Serine Protease

² Trypsin

³ Pepsin

⁴ Pancreatic

⁵ Bioactive peptides

گندم مخلوط و در مراحل مختلف مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای در نظر گرفته شده در این پژوهش، گندم کاملاً سالم و گندم با میزان سن‌زدگی ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بود که توسط آسیاب قهوه (Kenwood مدل CG 100 ساخت چین)، آردگندم تهیه و در آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت. مواد شیمیایی با درجه خلوص مناسب برای آزمون‌های شیمیایی از شرکت‌های زیگما امریکا و مرک آلمان تهیه شد.

رابطه (۱)

$$\text{درجه هیدرولیز} = h/h_{\text{tot}} \times 100$$

رابطه (۲)

$$h = (\text{Serine-NH}_2 - \beta) / \alpha$$

لازم به ذکر است که میزان α ، β و h_{tot} برای گلوتن به ترتیب، ۱، ۰/۴ و ۸/۳ می‌باشد.

اندازه‌گیری خواص عملکردی

حلالیت

حلالیت در دامنه ۲-۱۰ pH: برای نمونه‌های گندم با درصد سن‌زدگی ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ و گندم سالم اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که میزان ۱ گرم از هر نمونه در ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و سپس pH به وسیله ۰/۱ NaOH مولار و HCl با استفاده از pH متر تنظیم گردید و مخلوط حاصل به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق با هم‌زن مغناطیسی هم‌زده شد و سپس توسط سانتی‌فیوژ به مدت ۲۰ دقیقه و دور $2000 \times g$ سانتی‌فیوژ شد. پس از جمع‌آوری سوپرناتانت، میزان ۲۵ میلی‌لیتر از آن برای اندازه‌گیری پروتئین محلول به دستگاه هضم کدال منتقل و پس از آن مراحل تقطیر و تیتراسیون انجام گردید و درصد نیتروژن محلول از رابطه (۳) محاسبه شد (AACC, 2003).

رابطه (۳)

= درصد نیتروژن محلول

$$100 \times \frac{0.14 \times \text{نرمالیت اسید مصرفی} \times \text{حجم اسید مصرفی برای نمونه}}{\text{راندمان} \times \text{وزن نمونه}}$$

اندازه‌گیری فعالیت امولسیون‌کنندگی

خصوصیت یادشده با اندکی تغییر مطابق روش Barber و همکاران، (۱۹۸۲) اندازه‌گیری شد و در نهایت ظرفیت امولسیون‌کنندگی آرد گندم به صورت میلی‌لیتر روغن مصرفی به‌ازای ۰/۵ گرم پروتئین آرد گزارش شد.

آزمون‌های شیمیایی اندازه‌گیری عدد زلنی آزمون عدد زلنی، با استفاده از روش مصوب AACC به شماره ۶۱A-۶۵ انجام گردید (AACC, 2003).

آزمون‌های شیمیایی اندازه‌گیری عدد زلنی

درجه هیدرولیز گلوتن^۱

درجه هیدرولیز گلوتن^۱

اندازه‌گیری درجه هیدرولیز گلوتن براساس روش واکنش گر اورتوفتال‌دی‌آلدئید^۲ براساس گزارش Nielsen و همکاران (۲۰۰۱) با اندکی تغییرات انجام گرفت. ابتدا ۳/۸۱ گرم دی‌سدیم‌تترا‌بورات دکاهیدرات^۳ (Borax) و ۱۰۰ میلی‌گرم سدیم‌دودسیل‌سولفات^۴ (SDS) در آب دیونیزه کاملاً حل شد، سپس ۸۰ میلی‌گرم اورتوفتال‌دی‌آلدئید ۹۷ درصد در ۲ میلی‌لیتر اتانول حل شد و به آب دیونیزه انتقال یافت. ۰/۲۵ میلی‌لیتر بتامرکاپتواتانول^۵ به این محلول اضافه شد و حجم محلول با آب دیونیزه به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. این محلول در روز آزمایش تهیه شد. ۱ گرم از هر نمونه آرد در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و سپس روی هم‌زن مغناطیسی به مدت ۳۰ دقیقه هم‌زده شد و پس از آن به مدت ۲۰ دقیقه در سانتی‌فیوژ یخچال‌دار (Z36 HK، آلمان) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دور $12000 \times g$ سانتی‌فیوژ گردید. ۰/۴ میلی‌لیتر از سوپرناتانت حاصل از سانتی‌فیوژ به ۳ میلی‌لیتر از محلول فوق اضافه و میزان جذب ۲ دقیقه بعد در طول موج ۳۴۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر

¹ Degree of Hydrolysis

² OrthoPhthal di Aldehyde

³ di-Sodium tetraborate decahydrate

⁴ Sodium dodecyl sulfate

⁵ β -Mercaptoethanol

⁶ Supernatant

۲ و ۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل^۳ (DPPH) ۰/۱ میلی مولار در متانول ۹۵ درصد حل گردید و سپس ۲ میلی لیتر از نمونه که حاوی ۰/۲ درصد وزنی-حجمی پروتئین است به آن اضافه شد. مخلوط به خوبی هم زده شد و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد و پس از آن جذب در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

خاصیت آنتی اکسیدانی از طریق کلاته کردن رادیکال OH در این آزمایش ابتدا ۴ میلی لیتر از محلول ۱/۵ میلی مولار و ۲/۸ میلی لیتر محلول ۶ میلی مولار و ۱/۲ میلی لیتر از محلول سدیم سالیسیلات ۲۰ میلی مولار با هم مخلوط شدند. سپس ۰/۴ میلی لیتر از نمونه که حاوی ۰/۲ درصد وزنی-حجمی پروتئین بود، به آن اضافه و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد و جذب نمونه ها در ۵۶۲ نانومتر خوانده شد (Mahady et al., 2008).

لازم به ذکر است که درصد خاصیت آنتی اکسیدانی در دو روش با رابطه (۵) محاسبه شد.
رابطه (۵)

= درصد آنتی اکسیدانی
 $100 \times (\text{جذب کنترل} / \text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل})$

طرح آماری مورد استفاده و روش آنالیز نتایج
تجزیه و تحلیل آماری داده ها در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با سه تکرار (به جز آزمون حلالیت) انجام شد. تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار SAS بررسی شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید. رسم شکل ها با استفاده از نرم افزار EXCEL انجام گرفت.

نتایج و بحث

عدد زلنی

آزمون زلنی یا سدیمان تاسیون^۴ تابعی از کیفیت گلوتن آرد است. این آزمون بر این اساس استوار است که گلوتن موجود در آرد آب جذب می کند و چنانچه مقداری محلول اسید لاکتیک و ایزوپروپانول با غلظت

اندازه گیری ویژگی های پپتیدهای زیست فعال

اندازه گیری فعالیت بازدارندگی آنزیم ACE^۱

این آزمایش با استفاده از روش Nejadi و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد. در ابتدا ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه با غلظت ۰/۲ درصد وزنی-حجمی پروتئین و ۲۰ میکرو لیتر آنزیم ۱۵ میلی یونیت مولار را در یک لوله اپندورف ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد. ۱۰۰ میکرو لیتر از سوبسترای FAPGG^۲ ۰/۵ میلی مولار را به عنوان سوبسترا در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری کرده و سپس به مخلوط نمونه و آنزیم اضافه شد و پس از ۵ دقیقه با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب آن در ۳۴۰ نانومتر قرائت شد. مجدداً سل ها در انکوباتور گذاشته شد و پس از ۲۵ دقیقه جذب خوانده شد. لازم به ذکر است که پس از تهیه نمونه ها و جمع آوری سوپرناتانت حاوی پروتئین، به منظور حذف تمامی ذرات و کاهش خطای آزمایش، از فیلتر سرسرنگی استفاده گردید. هیدرولیز سوبسترای FAPGG توسط آنزیم ACE، کاهش جذب را به دنبال خواهد داشت. محاسبه درصد بازدارندگی ACE نیز از رابطه (۴) به دست آمد.

رابطه (۴)

= درصد بازدارندگی ACE
 $100 \times (Abs_{\text{Nonsample}} - Abs_{\text{Sample}}) / Abs_{\text{Nonsample}}$

$Abs_{\text{Nonsample}}$ جذب مخلوط آنزیم و سوبسترا بدون نمونه های هیدرولیز شده (نانومتر) و Abs_{Sample} جذب مخلوط آنزیم و سوبسترا با حضور نمونه های هیدرولیز شده (نانومتر) می باشد.

خاصیت آنتی اکسیدانی

این خاصیت با دو مدل سیستم کلاته کردن رادیکال آزاد DPPH و رادیکال OH اندازه گیری شد:

خاصیت آنتی اکسیدانی از طریق تأثیر بر رادیکال DPPH

این آزمایش بر اساس روش Zhu و همکاران (۲۰۰۶) با اندکی تغییرات انجام شد. ابتدا ۲ میلی لیتر

^۳ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

^۴ Sedimentation

^۱ Angiotensin- Converting Enzyme

^۲ N-[3-(2-furyl)acryloyl]L-phenylalanyl glycyglycine

است و زمان کوتاه‌تری مورد نیاز است. نتایج نشان می‌دهد که تجزیه واریانس درجه هیدرولیز در همه نمونه‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. باتوجه به نتایج (جدول ۱)، سن‌زدگی اثر معنی‌داری بر درجه هیدرولیز پروتئین‌های گندم داشته است به طوری که میزان درجه هیدرولیز در گندم کاملاً سن‌زده در مقایسه با گندم سالم افزایش یافته و از ۰/۳۸ به ۱۴/۶۷ درصد رسیده است که دلیل آن را می‌توان به هم‌ریختن ساختار پروتئینی در اثر هیدرولیز توسط پروتئاز موجود در بزاق سن دانست که باعث ایجاد پپتیدهای کوتاه زنجیر می‌گردد. Bonet و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که گندم سن‌زده دارای درجه هیدرولیز بیشتری نسبت به نوع سالم آن است. همچنین Olance و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیق‌های خود، آنزیم پروتئاز را از گندم آسیب‌دیده توسط سن، استخراج و خالص کردند و از آن برای افزایش درجه هیدرولیز در گلوتن استفاده نمودند.

جدول ۱- تأثیر سطوح مختلف سن‌زدگی گندم بر درجه هیدرولیز گلوتن

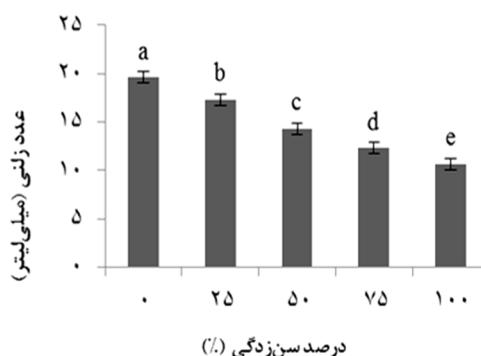
تیمار	درجه هیدرولیز (درصد)
گندم سالم	۰/۳۸±۰/۰۰۸ ^c
گندم با سن‌زدگی ۲۵ درصد	۴/۷۸±۰/۰۰۴ ^d
گندم با سن‌زدگی ۵۰ درصد	۸/۲۷±۰/۰۰۳ ^c
گندم با سن‌زدگی ۷۵ درصد	۱۰/۷۷±۰/۰۱۷ ^b
گندم با سن‌زدگی ۱۰۰ درصد	۱۴/۶۷±۰/۰۰۶ ^a

اندازه‌گیری خواص عملکردی

حلالیت

حلالیت از مهمترین ویژگی‌های پروتئین است که با ایجاد پراکندگی همگن مولکول‌ها در سیستم کلوئیدی بر خواص عملکردی دیگر هم اثرگذار است (فاطمی، ۱۳۸۱). چنانچه در شکل (۲) مشاهده می‌شود با افزایش میزان سن‌زدگی، حلالیت پروتئین‌ها نیز افزایش یافت که این تغییر در pH ایزوالکتریک بیشتر مشهود بود. پروتئاز سن یک آنزیم پروتئولیتیکی است که با هیدرولیز پروتئین‌های گندم باعث افزایش حلالیت می‌شود که از دلایل آن می‌توان به باز شدن ساختار پیچیده پروتئین و کاهش اندازه مولکولی زنجیره‌ها در اثر هیدرولیز اشاره کرد. همچنین انتظار

معینی به آن اضافه شود، متورم می‌گردد. این میزان تورم به کیفیت گلوتن بستگی دارد. گلوتن مرغوب مقدار بیشتری آب جذب می‌کند و بنابراین بیشتر از گلوتن نامرغوب متورم می‌گردد و در نتیجه حجم رسوب زیاده‌تر است. در ارزیابی عدد زلنی، رسوب بیشتر از ۴۰ میلی‌لیتر خیلی خوب، رسوب ۳۰ تا ۴۰ میلی‌لیتر خوب، رسوب ۲۰ تا ۲۹ میلی‌لیتر متوسط و رسوب کمتر از ۲۰ میلی‌لیتر ضعیف می‌باشد (پایان، ۱۳۸۰). نتایج (شکل ۱) نشان می‌دهد که آرد گندم سالم بیشترین مقدار عدد زلنی و آرد گندم کاملاً سن‌زده کمترین مقدار را داراست. Aja و همکاران، (۲۰۰۴) بیان کردند خمیر حاصل از گندم سن‌زده بسیار نرم و چسبنده است که نتیجه تزریق آنزیم پروتئولیتیکی^۱ به وسیله آفت سن می‌باشد که منجر به هیدرولیز پروتئین‌های گندم و در نتیجه آن، افزایش مقدار پروتئین‌های محلول شده و از انسجام گلوتن کاسته می‌شود. Torbica و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که با افزایش ۳/۱ درصد در سن‌زدگی، عدد زلنی تا ۱۵ درصد کاهش می‌یابد. نتایج Matsoukas و همکاران (۱۹۹۰) هم نشان‌گر رابطه عکس بین میزان سن‌زدگی و عدد زلنی بود.



شکل ۱ - تأثیر سطوح مختلف سن‌زدگی گندم بر میزان عدد زلنی

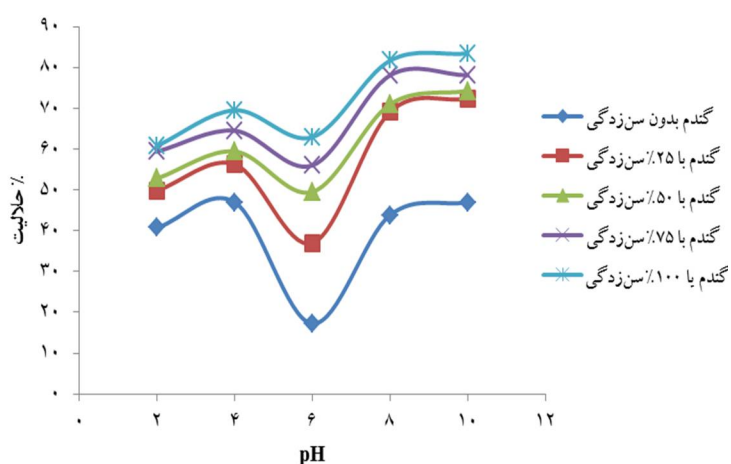
درجه هیدرولیز

از مهمترین ویژگی‌های یک پروتئین هیدرولیز‌شده، درجه هیدرولیز آن است. روش‌های متعددی برای اندازه‌گیری درجه هیدرولیز بیان شده است اما استفاده از واکنش گر OPA در مقایسه با سایر روش‌ها، دقیق‌تر

^۱ Proteolytic Enzyme

Guan و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیق خود بیان کردند که حلالیت hydrolysate پروتئین جو دوسر که توسط آنزیم تریپسین هیدرولیز شده دارای الگوی U شکل است و کمترین میزان حلالیت در $\text{pH}=5$ که مربوط به pH ایزوالکتریک این پروتئین است، دیده می‌شود و حلالیت در محدوده اسیدی و بازی افزایش می‌یابد.

می‌رود با تأثیر این آنزیم، گروه‌های آب‌دوست از درون مولکول خارج شده و در معرض محیط آبی قرار گیرند که نتیجه آن افزایش حلالیت است. نتایج Olançe و همکاران (۲۰۱۰) نیز حاکی بر آن است که حلالیت گلوتن هیدرولیز شده توسط آنزیم پروتئاز آفت سن افزایش می‌یابد و در $\text{pH}=6$ که نقطه ایزوالکتریک این پروتئین است، حلالیت کمترین و در $\text{pH}=10$ بیشترین مقدار است.

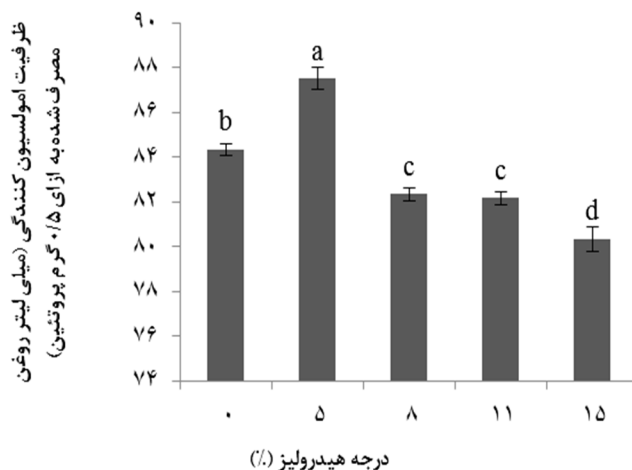


شکل ۲ - تأثیر سطوح مختلف سن‌زدگی گندم بر حلالیت

و درهم‌پیچیده ندارند و گروه‌های آب‌دوست و آب‌گریز در وضعیت متعادل‌تری قرار گرفته و باعث سهولت در قرار گرفتن این گروه‌ها در سطح میان آب و چربی می‌گردد که افزایش ظرفیت امولسیون‌کنندگی را به دنبال دارد و این خاصیت در نتیجه باز شدن جزئی ساختمان فضایی زنجیره پروتئینی و از میان رفتن پاره‌ای از اتصالات ایجاد می‌شود. اما چنانچه میزان هیدرولیز از این مقدار بیشتر شود، مقدار پپتیدهای کوتاه‌زنجیر حاصل شده از هیدرولیز آنزیمی افزایش می‌یابد که این پپتیدها به دلیل کوتاه بودن، کمتر می‌توانند لایه‌های پایدار پروتئینی در اطراف قطره‌های روغن تشکیل دهند و در نتیجه خاصیت امولسیون‌کنندگی آنها کمتر خواهد شد (Kong et al., 2007). Olançe و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیق‌های خود بیان کردند که ظرفیت امولسیون‌کنندگی در گلوتن هیدرولیز شده توسط پروتئاز سن افزایش می‌یابد.

ظرفیت امولسیون‌کنندگی

امولسیون به یک سیستم ناهمگن شامل دو مایع غیرقابل اختلاط گفته می‌شود. این قبیل سیستم‌ها دارای حداقل پایداری هستند که علت آن وجود نیروی کشش بین سطحی میان اجزای تشکیل‌دهنده دو مایع است. امولسیون‌کننده‌ها مهمترین عاملی هستند که می‌توانند ثبات و عدم گسیختگی در امولسیون‌ها را تأمین کنند (فاطمی، ۱۳۸۱). شکل (۳) نشان می‌دهد که نمونه گندم با ۲۵ و ۱۰۰ درصد سن‌زدگی، به ترتیب بیشترین و کمترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی را دارا بودند. پروتئاز سن یک آنزیم پروتئولیتیک می‌باشد که منجر به تجزیه پروتئین‌های گندم می‌گردد. در گندم با میزان سن‌زدگی ۲۵ درصد و درجه هیدرولیز ۴/۷۸ درصد، ظرفیت امولسیون‌کنندگی بیشترین مقدار بود که دلیل آن می‌تواند باز شدن محدود زنجیره‌های پروتئینی باشد که نسبت به حالت اولیه خود، زنجیره‌ها حالت تجمعی



شکل ۳ - تغییرات ظرفیت امولسیون‌کنندگی نمونه‌های گندم با درصد‌های مختلف سن‌زدگی نسبت به درجه هیدرولیز آنها

استروئید آلدسترون از غدد فوق کلیه می‌شود که سنتز این ماده، بازجذب سدیم و در نتیجه افزایش فشارخون را به همراه دارد (Li et al., 2004).

نتایج حاصل‌شده مربوط به مقایسه میانگین بازدارندگی آنزیم ACE (شکل ۴) نشان می‌دهد که با افزایش درصد سن‌زدگی، افزایش درجه هیدرولیز و در نتیجه آن کاهش طول زنجیره پپتیدی، خاصیت بازدارندگی آنزیم ACE نیز افزایش می‌یابد به طوری که گندم ۱۰۰ درصد سن‌زده با ۴۵/۱ درصد بازدارندگی دارای بیشترین تأثیر و گندم سالم با ۲۳/۱۶ درصد بازدارندگی دارای کمترین میزان تأثیر بر آنزیم ACE است. از محصولات هیدرولیز توسط آنزیم پروتئاز موجود در بزاق سن می‌تواند پپتیدهایی با طول ۱۳-۵ آمینواسید باشد که اکثر آنها در انتهای کربوکسیلی خود دارای توالی Ala-Pro و Pro-Pro هستند. همچنین تری‌پپتیدهای Val-Pro-Pro، Ile-Pro-Pro و Ile-Phe-Leu، دی‌پپتیدهای Val-Tyr و Trp-Leu و همچنین دودکاپپتید Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Lys نیز می‌توانند دارای این خاصیت باشند (Wang et al., 2005).

Thewissen و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه‌های خود از آنزیم‌های مختلف جهت هیدرولیز گلیادین استفاده کردند. نتایج آنها حاکی بر این است که hydrolysate حاصل از هیدرولیز، دارای خاصیت بازدارندگی بر آنزیم ACE می‌باشند که دلیل آن وجود آمینواسیدهای هیدروفوبیک آروماتیک نظیر Tyr،

بررسی ویژگی‌های زیست‌فعالی

در سالهای اخیر، نقش پروتئین‌ها در رژیم غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بسیاری از پروتئین‌ها خاصیت زیست‌فعالی دارند که این ویژگی به واسطه وجود پپتیدهای زیست‌فعال در ساختار آنها حاصل می‌شود. با توجه به تأثیر این پپتیدها بر سیستم فیزیولوژیک بدن، تحقیق در زمینه شناسایی این پپتیدها امروزه به یک موضوع مهم تبدیل شده است (Guan et al., 2007). هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها رایج‌ترین راه تولید این پپتیدها می‌باشد که بسته به شرایط فرایند هیدرولیز، پپتیدهای متنوعی با تأثیرهای مختلف ایجاد می‌شود که در این پژوهش دو خاصیت بازدارندگی آنزیم ACE و آنتی‌اکسیدانی این پپتیدها بررسی شد.

بازدارندگی آنزیم ACE

در فرایند تنظیم فشارخون، آنزیم‌ها و مواد شیمیایی خاصی مؤثر هستند که از آن جمله آنزیم مبدل آنژیوتنسین I (ACE^۱) است. این آنزیم با تأثیر روی سیستم آنژیوتنسین-رنین^۲ نقش مهمی را در افزایش فشارخون ایفا می‌کند و با تبدیل دکاپپتید آنژیوتنسین^۳ I به اکتاپپتید آنژیوتنسین^۴ II سبب انسداد رگ‌ها می‌شود. همچنین این اکتاپپتید، باعث آزاد شدن

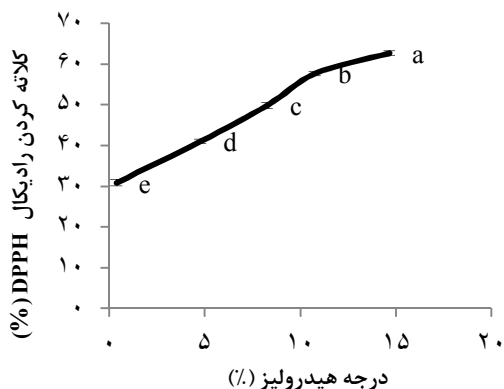
^۱ Angiotensin I- Converting Enzyme

^۲ Renin- Angiotensin system

^۳ Decapeptide angiotensin I

^۴ Octapeptide angiotensin II

آنتی‌اکسیدانی پپتیدها به ساختار، ترکیب و آب‌گریزی آنها بستگی دارد. آمینواسیدهای تیروزین، تریپسین، متیونین، لیزین، سیستئین و هیستیدین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Wang *et al.*, 2005). آمینواسیدهای آروماتیک نیز با اهدا کردن پروتون به الکترون‌های رادیکال‌های آزاد، خاصیت کلاته کردن رادیکال‌ها را در آمینواسیدها ارتقاء می‌دهند. همچنین گروه‌های SH در سیستئین نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی به شرط برقراری تماس مستقیم با رادیکال‌ها از خود نشان می‌دهند (Sarmadi *et al.*, 2010). علاوه بر حضور آمینواسیدهای خاص در توالی پپتیدی، موقعیت و وزن مولکولی آنها نیز نقش مهمی در بروز این خاصیت ایفا می‌کند. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر عواملی از جمله درجه هیدرولیز و نوع پروتئاز استفاده‌شده نیز می‌باشد (Theodore *et al.*, 2007).

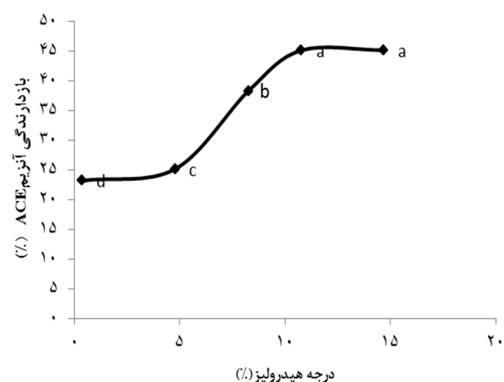


شکل ۵- تغییرات درصد کلاته کردن رادیکال آزاد DPPH نسبت به درجه هیدرولیز

ویژگی آنتی‌اکسیدانی (توانایی به دام انداختن رادیکال آزاد OH)

توانایی خنثی‌سازی رادیکال آزاد OH، یکی از ویژگی‌های آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. به‌طور کلی آنتی‌اکسیدان‌ها با به تأخیر انداختن یا ممانعت از انجام اکسیداسیون می‌توانند نقش خود را ایفا کنند. استفاده از این ترکیبات در مواد غذایی رایج‌ترین روش نگهداری بشمار می‌آید. تاکنون فعالیت آنتی‌اکسیدانی در چندین نوع از پروتئین‌های هیدرولیز شده شناسایی شده است (Zhu *et al.*, 2006). از نتایج (شکل ۶) می‌توان دریافت که افزایش درصد سن‌زدگی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای ارتباط معنی‌دار با یکدیگر

Trp, Phe و یا آمینواسیدهای هیدروفوبیک مانند Val, Leu و Ile در پایانه C زنجیره پپتیدی است. Kuba و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که توالی‌های Val-Tyr, Val-Phe, Val-Trp و Ile-Tyr دارای خاصیت بازدارندگی بر این آنزیم است. تحقیق‌های Jia و همکاران (۲۰۰۹) نشان می‌دهد که چنانچه پروتئین چربی‌زدایی‌شده جوانه گندم (DWGP)^۱ تحت تأثیر فرایند اولتراسونیک قرار گیرد، افزایش زیادی در خاصیت بازدارندگی آنزیم ACE نشان می‌دهد.



شکل ۶- تغییرات درصد بازدارندگی فعالیت آنزیم ACE نسبت به درجه هیدرولیز

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

یکی از مهمترین خواص پپتیدهای زیست‌فعال، خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که تأثیر آن بر سلامتی بدن در مطالعه‌های بسیار به اثبات رسیده است.

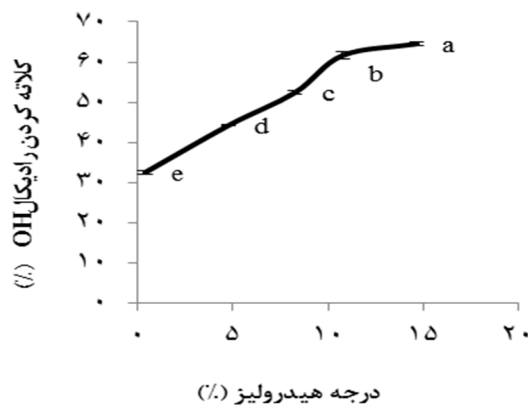
ویژگی آنتی‌اکسیدانی (توانایی به دام انداختن رادیکال آزاد DPPH)

نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها (شکل ۵) نشان می‌دهد که سن‌زدگی دارای اثر معنی‌داری بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. گندم ۱۰۰ درصد سن‌زده دارای بیشترین تأثیر بر کلاته کردن رادیکال آزاد DPPH است و گندم سالم، کمترین اثر را داراست. آنزیم پروتئاز موجود در بزاق سن، باعث هیدرولیز پروتئین‌های گندم می‌شود که نتیجه این هیدرولیز می‌تواند پپتیدهایی با زنجیره کوتاه و خاصیت آنتی‌اکسیدانی باشد. ویژگی‌های

¹ Defatted wheat germ protein

مولکولی ۳-۵ کیلودالتون و درجه هیدرولیز حداکثر ۱۵/۸ درصد می‌باشد. Li و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که درجه هیدرولیز اثر زیادی بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی پپتیدها می‌گذارد، بدین‌صورت که پپتیدهای کوچک‌تر نسبت به پپتیدهای بزرگ‌تر، فعالیت خنثی‌سازی و کلاته کردن فلزی بیشتری را نشان می‌دهند.

می‌باشند و هرچه شدت هیدرولیز بیشتر باشد خاصیت کلاته‌کنندگی رادیکال OH نیز بیشتر است. Olance و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که هیدرولیز گلوتن به‌وسیله پروتئاز آفت سن باعث افزایش در خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. همچنین نتایج Kong و همکاران (۲۰۰۷) حاکی از آن است که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به hydrolysate حاصل از هیدرولیز توسط پروتئازهای تجاری با وزن



شکل ۶- تغییرات درصد کلاته کردن رادیکال آزاد OH نسبت به درجه هیدرولیز

اقتصادی از آن در محصولاتی مانند شیرینی، بیسکویت و کراکر باتوجه به ویژگی‌های عملکردی و تغذیه‌ای آن اقدام کرد که این امر اهمیت ضرورت بررسی استفاده از گندم سن‌زده در شرایط کنترل‌شده هیدرولیز به‌عنوان جزء مؤثر در تولید غذاهای فراسودمند باتوجه به نقش پپتیدهای زیست‌فعال در بهبود سلامتی را آشکار می‌سازد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق این‌چنین خلاصه می‌شود که باوجود اینکه گندم سن‌زده ضایعات محسوب می‌شود اما به‌دلیل هیدرولیز محدود گلوتن آن، دارای ویژگی‌های متفاوت با گندم سالم است و خواص عملکردی و تغذیه‌ای آن طی هیدرولیز بهبود می‌یابد. باتوجه به اینکه گندم سن‌زده در کشور ما سالانه خسارت زیادی به کشاورزی وارد می‌سازد می‌توان در استفاده

منابع

- ۱- افسریان، م. ۱۳۸۵. تأثیر تنش رطوبتی و رقم بر جمعیت برخی آفات مهم گندم پائیزه در اصفهان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، فصل اول.
- ۲- بهداد، ا. ۱۳۶۱. آفات گیاهان زراعی ایران. انتشارات نشاط، اصفهان، صفحه ۵۸۹.
- ۳- پاپان، ر. ۱۳۸۰. مقدمه‌ای به تکنولوژی فرآورده‌های غلات. انتشارات نو پردازان، تهران، فصل سوم.
- ۴- خانجانی، م. ۱۳۸۳. آفات گیاهان زراعی ایران. انتشارات گیتی، همدان، صفحه ۷۱۹.
- ۵- فاطمی، ح. ۱۳۸۱. شیمی مواد غذایی. شرکت سهامی انتشار، تهران، فصل سوم.

- 6- Aja, S., Perez, G., & Rosell, C.M. 2004. Wheat damage by *Aelia* spp. and *Eurygaster* spp.: Effects on gluten and water-soluble compounds released by gluten hydrolysis. *Journal of Cereal Science*, 39(2):187-193.
- 7- American Association of Cereal Chemists. 2003. *Approved Methods of the AACC*. St. Paul, Minnesota, USA.
- 8- Barber, K.J., & Wartesen, J.J. 1982. Some functional properties of acylated wheat gluten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(5):930-934.
- 9- Bonet, A., Caballero, P.A., Gomez, M., & Rosell, C.M. 2005. Microbial transglutaminase as a tool to restore the functionality of gluten from insect-damaged wheat. *Cereal Chemistry*, 82(4):425-430.
- 10-Every, D. 1993. Purification and characterization of a glutenin hydrolyzing proteins from wheat damage by the New Zealand wheat bug, *Nysius huttoni*. *Journal of Cereal Science*, 18(3):239-250.
- 11-Guan, X., Yao, H., Chen, Z., Shan, L., & Zhang, M. 2007. Some functional properties of oat bran protein concentrate modified by trypsin. *Food Chemistry*, 101(1):163-170.
- 12-Jia, J., Ma, H., Zhao, W., Wang, Z., Tian, W., Luo, L., & He, R. 2010. The use of ultrasound for enzymatic preparation of ACE-inhibitory peptides from wheat germ protein. *Food Chemistry*, 119(1):336-342.
- 13-Kong, X., Zhou, H., & Qian, H. 2007. Enzymatic preparation and functional properties of wheat gluten hydrolysates. *Food Chemistry*, 101(2):615-620.
- 14-Korhonen, H., & Pihlanto, A. 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16(9):945-960.
- 15-Kuba, M., Tanaka, K., Sesoko, M., Inoue, F., & Yasuda, M. 2009. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in red-mold rice made by *Monascus purpureus*. *Process Biochemistry*, 44(10):1139-1143.
- 16-Li, B., Chen, F., Wang, X., Ji, B. & Wu, Y. 2007. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 102(4):1135-1143.
- 17-Li, G.H., Le, G.W., Shi, Y.H., & Shrestha, S. 2004. Angiotensin I- converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutrition Research*, 24(7):469-486.
- 18-Mahady, G.B., Huang, Y., Doyle, B.J., & Locklear, T. 2008. Natural products as antibacterial agents. *Studies in Natural Products Chemistry*, 35:124-148.
- 19-Matsoukas, N. P. and W. R. Morrison. 1990. Breadmaking quality of ten Greek breadwheats baking and storage tests on bread made by long fermentation and activated dough development processes, and the effects of bug-damage wheat. *J. Sci. Food Agric.* 53: 363-377.
- 20-Nejati, F., Rizzello, C.G., Di Cagno, R., Sheikh-Zeinoddin, M., Diviccaro, A., Minervini, F., & Gobetti, M. 2013. Manufacture of a functional fermented milk enriched of Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE)-inhibitory peptides and γ -amino butyric acid (GABA). *LWT-Food Science and Technology*, 51(1):183-189.
- 21-Nielsen, P.M., Petersen, D., & Dambmann, C. 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, 66(5):642-646.
- 22-Olance, B., & Ozay, D. 2010. Preparation and functional properties of gluten hydrolysates with wheat-bug (*Eurygaster* spp.) protease. *Cereal Chemistry*, 87(6):518-523.
- 23-Sarmadi, B.H., & Ismail, A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Journal of Peptide Science*, 31(10):1949-1956.

-
- 24-Theodore, A.E., & Kristinsson, H.G. 2007. Angiotensin converting enzyme inhibition of fish protein hydrolysates prepared from alkaline-aided channel catfish protein isolate. *The Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(1):2353-2357.
- 25-Thewissen, B.G., Pauly, A., Celus, I., Brijs, K., & Delcour. J.A. 2011. Inhibition of angiotensin I-converting enzyme by wheat gliadin hydrolysates. *Food Chemistr*, 127(4):1653-1658.
- 26-Torbica, A., Antov, M., Mastilovic, J., & Knezevic, D. 2007. The influence of changes in gluten complex structure on technological quality of wheat (*Triticumaestivum* L.). *Food Research International*, 40(8):1038-1045.
- 27-Wang, W.Y., & De Mejia, E.G. 2005. A new frontier in soy bioactive peptides that may prevent age-related chronic diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4(4):63-78.
- 28-Zhu, K., Zhou, H., & Qian, H. 2006. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. *Process Biochemistry*, 41(6):1296-1302.

Evaluation of Qualitative, Functional and Bioactive Properties of Bugged Wheat

Maryam Kiumarsi^{1*}, Mahdi Kadivar², Reza Zareie³, Majid Talebi⁴

1- Graduated of master of science, food science department, Agriculture college, Isfahan university of Technology, Isfahan, Iran

* Corresponding author (maryam_kiumarsi@yahoo.com)

2- Professor, Food science department, Agriculture college, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Chemistry and Biochemistry department, University of Western Australia, Perth, Australia

4- Associated Professor, Biotechnology department, Agriculture college, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Abstract

Despite all the progresses made in the field of pest control, bug is yet the hazardous pest in Iran. This insect injects a salivary proteinase into immature wheat kernels resulting in poor rheological properties, which leads to having bread with low volume and unacceptable texture. On the other hand, protein hydrolysis of gluten can improve the functional properties and also body physiological mechanisms according to producing bioactive peptides. In this study wheat samples with variable proportion of bug-infested grains (25, 50, 75 and 100%) were initially prepared and then qualitative, functional and bioactive tests were performed to evaluate the effect of suni-bug damage. Results showed that Zeleny sedimentation value decreased by increasing bug damage in samples indicating low quality in gluten for bread making. On the other hand, by increasing proportion of bug damage, degree of hydrolysis increased and functional properties of wheat samples such as solubility and emulsifying capacity were improved. By increasing the degree of hydrolysis, protein solubility also increased and the highest emulsifying capacity was observed in 25% suni-bug wheat sample. The results of evaluating bioactive properties in wheat samples indicated that by increasing the degree of bug attack, producing short peptides with ACE inhibitory and antioxidant activity increased, therefore the highest percentage of ACE inhibition and antioxidant ability is observed in 100% suni-bug damaged sample whereas the lowest was evidenced in the sound wheat sample.

Keywords: Bioactive Peptides, Bugged Wheat, Degree of Hydrolysis, Functional Properties