آنالیز پروتئومیک گلیادین و اثر آن روی ویژگی های تکنولوژیکی نان مسطح

روبا آقاقلی زاده[۱*]، مهدی کدیور[۲]، محمدحسین عزیزی[۳]، مرتضی زاهدی[۴]، محمدرضا رحیمی نژاد[۵]

۱- دانشجوی دکتری گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲- استاد گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۳- دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
٤- استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۵- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹٦/۰٤/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹٦/۰۷/۱۹)

چکیده

کیفیت نهایی گندم نانوایی (*Triticum aestivum*)، به میزان زیادی تحت تاثیر ترکیب گلیادین و گلوتنین آن قرار می گیرد. هدف از این مطالعه، استفاده از روش Q-Exative iTRAQ-MS/MS spectrometry، برای تعیین زیرواحدهای موثر گلیادین و پپتیدهای ویژه آن ها روی کیفیت تکنولوژیکی گندم و نان مسطح ایرانی می باشد. کیفیت پروتئین در نان مسطح، مهم تر از نان حجیم می باشد. بنابراین، هشت رقم گندم ایرانی (چمران، مروارید، سپاهان، پارسی، سیروان، سیوند، پیشگام و پیشتاز) بر اساس شرایط آب و هوایی ایران به صورت گرم و خشک، گرم و مرطوب، معتدل و سرد، انتخاب شدند.

نتایج آزمون ها نشان می دهند که مروارید، چمران و سیروان، بالاترین کیفیت را دارند، در حالی که سپاهان، پایین ترین کیفیت را دارد. آنالیز پروتئومیک جرمی نشانمی دهد که α/β-گلیادین، اثری مثبت روی کیفیت نان دارد. ویژگی منحصر به فرد آن به حضور اسیدهای آمینه سیستئین، هیستی دین، گلوتامین و گلوتامات مرتبط می باشد که در تشکیل پیوندهای دی سولفیدی، هیدروژنی و یونی با زیربخش های دیگر گلوتنی شرکت می کنند و موجب استحکام شبکه گلوتنی می شوند.

کلید واژگان:گندم، کیفیت، گلیادین، اسپکترومتری جرمی

*مسئولمکاتبات:roya3881@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]

۱- مقدمه

چون شبکه گلوتنی، مسئول قابلیت کشش و الاستی سیته خمیر آرد گندم می باشد درک نقش زیربخش های آن روی کیفیت نان، ضروری است. به علت اینکه، مهم ترین ویژگی نان حجیم، حجم آن می باشد، در بررسی ارتباط بین کیفیت آرد و ویژگی نان، توجه ویژه روی حجم نان بوده است، در حالی که تنها، بررسی های محدودی روی نان مسطح انجام شده است. ممکن است اثر پروتئین های گلوتن روی ویژگی های نان مسطح با نان حجیم، متفاوت باشد، بنابراین، بافته ها نشان می دهند که خمیرهای خیلی الاستیک که از گلوتن با کیفیت بالا مشتق می شوند با انبساط سریع گازها و ورقه ای شدن در شرایط دمای بالا – زمان کوتاه که در پخت نان های مسطح به کار گرفته می شوند، سازگار نیستند [۱-۳].مطالعات مختلف نشان می دهند که کیفیت آرد با زیرواحدهای مشخصی از پروتئین گلوتن تعیین می شود [٤, ٥]. دو زیر بخش گلوتن، گلیادین و گلوتنین می باشند. گلیادین ها، پروتئین های منومریک هستند که از نظر اسیدهای آمینه باردار غنی هستند در حالی که گلوتنین ها، پروتئین های پلیمری با وزن مولکولی بالا هستند که با اسیدهای آمینه گوگرددار مشخص می شوند. مکانیسمی که در آن، گلیادین ها و گلوتنین ها در تشکیل خمیر شرکت می کنند و خواص خمیر تشکیل شده را تحت تاثیر قرار می دهند، به طور کامل مشخص نشده است. در حقیقت، ارتباط بین ترکیبات گلوتنی و خواص فیزیکوشیمیایی سیستم، مهم است. در مقالات مختلف، توافقی کلی وجود دارد که خواص خمیر، به میزان زیادی به پروتئین گلوتن هیدراته در طی تشکیل خمیر بستگی دارد، که موجب رفتار ویسکوالاستیک خمیر می شود [٤]. به علاوه، مشخص گردیده است که بخش گلیادینی می تواند نقشی مهم در تعیین الاستی سیته خمیر داشته باشد [٤, ٦]. بخش های مختلف گلیادینی، α/β-، γ و ω- گلیادین، به ترتیب کاهش حرکت الکتروفورتیکی مشخص می شوند. گلیادین، ۵۰٪ – ٤۰ از پروتئین های ذخیره ای دانه گندم را تشکیل می دهد و اثر قابل توجهی روی کیفیت تغذیه ای و فرآوری خمیر و نان دارد. ترکیب اسید آمینه ای گلیادین ها، شامل مقادیر بالای گلوتامین، پرولین، فنیل آلانین و ایزولوسین می باشد [۷].

عامل مهمی که از رسوب گلیادین ها در ساختار پلیمری گلوتنین جلوگیری می کند، کمبود سیستئین آزاد و همچنین عدم توانایی تشکیل پیوند دی سولفیدی بین مولکولی می باشد. اما در مقایسه با گلوتنین، در طی ۱۰ سال اخیر، پیشرفت کمی در درک ساختار و عمل گلیادین ها رخ داده است [۸]. روش های آنالیتیکی مختلفی، مثل SDS-PAGE، الکتروفورز مویین، RP-HPLC و اسپکترومتری جرمی، در مطالعه پروتئین های دانه گندم به کار گرفته شده اند [۹, ۱۰].اسپکترومتری جرمی اخیرا هم به جهات ژنومیک و هم پروتئومیک در آنالیز گلوتن استفاده شده است [۱۱]. روش های بر پایه MS، عمدتا کاربردهایی مثل تعیین کیفیت و ویژگی های پروتئین های گلوتن، از طریق MALDI-TOF-MS[۱۲, ۱۳]و LC-MSرا دارند.Gianibelli و همکاران (۲۰۰۱) و Shewry و همکاران (۲۰۰۳)، ویژگی مولکولی، بیوشیمیایی و ژنتیک گلوتنین و گلیادین را در گندم نانوایی بررسی کرده اند [١٤, ١٥]. در حالی که Bonomi و همکاران (۲۰۱۳) ویژگی های ساختاری گلوتن غیر محلول در آب را مطالعه کرده اند و اصلاحاتی را در ساختار گلوتن در طی مراحل مختلف فرآیند نشان داده اند [١٦].

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

هشت رقم گندم، بر اساس شرایط آب و هوایی ایران، انتخاب شدند، مروارید از منطقه گرم و مرطوب، چمران از منطقه گرم و خشک، سپاهان، سیروان، سیوند و پارسی از منطقه معتدل، پیشتاز و پیشگام از منطقه سرد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]

همه حلال ها و مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک (Merck) المان تهیه شدند.

۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- آزمون ها

آزمون های تعیین رطوبت (AACC, NO. 44-15A)، خاکستر (AACC, NO. 08-01)، پروتئین (AACC, NO. 46-16)، گلوتن مرطوب و ایندکس گلوتن (ACC, NO. 38-11)، عدد فالینگ (AACC, NO. 56-81)، حجم رسوب زلنی (AACC, NO. 56-11) و ویژگی های فارینوگرافی (AACC, NO. 54-21)، انجام شدند. ویژگی های حسی نان، توسط ۱۶ پانلیست آموزش دیده با استفاده از روش هدونیک ارزیابی شدند. ویژگی بافتی نان نیز با استفاده از دستگاه بافت سنج (Rochdale 350, England)، توسط آزمون سوراخ کردن، بر اساس استاندارد AACC, NO. 47-09 تعیین گردیدند.

۲-۲-۲- آسیاب کردن و پخت نان

نمونه های گندم با آسیاب Senior Quadromat (Brabender, Germany) برای تهیه آردی با میزان خاکستر ۹۵٪ آسیاب شدند. سپس نان ایرانی تافتون پخت گردید.

۲-۲-۳- اسپکترومتری جرمی/جرمی زیربخش های گلوتن گندم

براساس نتایج به دست آمده از خواص فیزیکوشیمیایی ارقام گندم، چهار رقم گندم (مروارید، سیروان، چمران و سپاهان) انتخاب شدند که با استفاده از اسپکترومتری جرمی/جرمی ارزیابی گردیدند. آن ها در معرض دو مرحله استخراج متوالی قرار گرفتند تا زربخش پروتئینی گلیادین جداسازی شود [۷, ۱۷]. روش شامل استخراج ۱g نمونه با ۶ml حلال، به مدت ۳۰ دقیقه در ۶۰°C با همزدن به طور متناوب هر ۱۰ دقیقه و بعد سانتریفوژ (۲۵۰۰۰x g)، به مدت ۱۰ دقیقه می باشد. گندم آسیاب شده به طور متوالی با حلال های: سدیم کلراید (۰/۵ M) (برای بخش های آلبومین – گلوبولین)، ۱-پروپانول ۵۰٪ (برای بخش گلیادین) استخراج می شود. گلیادین های استخراج شده در سدیم دودسیل سولفات (SDS) ۱٪ در بی کربنات آمونیم ۵۰ mM (pH =۸/۵) حل می شوند و اسید آمینه سیستئین با استفاده از DTT در ۵۶ °C احیا می شود، گروه های سولفیدریل آزاد با یدواستامید آلکیله می شوند و پروتئین گلیادین با آنزیم تریپسین در طی شب در ۳۷°C هضم می شود. سپس پپتیدها با استفاده از ستون C_{18}(Millipore) نمک زدایی می شوند. پپتیدها در ستون C_{18}با قطر داخلی ۵۰ cm x۷۵ µm بارگذاری می شوند. آن ها در اسپکترومتری جرمی Q-Exactive hybrid (Thermo – Fisher, San Jose) و با استفاده از کروماتوگرافی Easy-Spray nLC 1000 (Thermo – Fisher) با روش گرادیانت از ۰ تا ۳۵ در صد استونیتریل در ۱٪ اسیدفرمیک به مدت ۱ ساعت شسته شدند. به منظور اسکن جرمی/جرمی، از جرم ثابت ۱۰۰ Da و زمان خروج دینامیکی ۲۰ S استفاده می شود. فایل اطلاعات خام با X Calibur 2.2 به دست می آید و با نرم افزار PEAK 7.5 تحلیل می شود.

۲-۲-۴- آنالیز آماری

اختلاف معنی دار بین ارقام گندم با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) توسط نرم افزار SPSS در سطح معناداری ۹۵٪ تعیین شده است.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آزمون های شیمیایی و رئولوژیکی

نتایج آزمون های شیمیایی و فیزیکوشیمیایی خمیرهای تهیه شده از هشت رقم گندم گندم در جدول ۱ نشان داده شده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]

Table 1 chemical and rheological analysis

Corresponding dough characteristics	Chamran	Sivand	Sirvan	Parsi	Pishgam	Pishtaz	Sepahan	Morvarid
Water absorption (%)	71.65b±0.15	67.95g±0.05	71.3c±0	68.3f±0.2	69.85e±0.05	70.05d±0.05	72.65a±0.05	56.55h±0.05
Dough development time (min)	2.75b±0.05	2.25ef±0.05	3.75a±0.07	2.10f±0.10	2.5c±0.02	2.35de±0.05	2.4cd±0	1.75g±0.05
Stability(BU)	1.25e±0.05	1.35de±0.05	2.2b±0.07	1.00f±0.20	1.45cd±0.05	1.55c±0.05	1f±0.05	5.45a±0.05
Degree of softening(BU)	171.53d±4.5	146.00e±0	113.51f±0.7	197.57b±2.5	184.5c±2.50	142.5e±6.50	248a±20	56.5g±1.50
Farinograph quality number	37.00c±0	31.00e±0	48.00b±1.41	29f±0.56	32.50e±0.53	34.50d± 1.50	28.50f±00	66.00a±1.0
Protein (%)	12.66c±0.16	13.63a±0.06	12.65c±0.04	10.88f±0.22	11.87d±0.5	11.88d±0.03	11.59e±0.42	13.21b±0.01
Wet gluten (%)	29.05bc±0.25	28.65cd±0.15	31.35a±0.50	26.95f±0.25	28.05de±0.25	29.25b±0.25	27.66e±0.3	25.0g±0.50
Gluten index (%)	2.925de±0.20	6.73c±0.73	48.67b±3.70	3.18de±0.12	4.63ed±0.32	6.52c±0.08	1.82f±0.03	80.58a±2.28
Sedimentation value (ml)	19.0c±0	20.0bc±00	24.55a±0.70	20.0b ±0	20.5b±0.5	12.5d±0.5	12.0d±0	21b±0.5

Values followed by a different letter in the same row are significantly different ($P < 0.05$)

براساس ارزیابی شیمیایی و رئولوژیکی خمیر، مشخص شده است که مروارید و سیروان، به ترتیب بالاترین کیفیت را دارند در حالی که، سپاهان و پارسی، پایین ترین کیفیت را دارا هستند.

۳-۲- ارزیابی کیفیت نان

ویژگی های حسی و بافتی نان تافتون تهیه شده از هشت رقم گندم، در جدول ۲ نشان داده شده است.

Table 2 sensory evaluation and texture analysis of Taftoon bread

Evaluation of bread	Chamran	Sivand	Sirvan	Parsi	Pishgam	Pishtaz	Sepahan	Morvarid
Forced required to puncture (N)	3.18^{g}±0.01	4.58^{f}±0.01	4.91^{b}±0.007	4.92^{b}±0.01	4.64^{d}±0.007	4.87^{c}±0.01	4.98^{a}±0.01	4.62^{e}±0.01
Panelist score (on the basis of 20)	15.49^{a}±0.02	14.11^{bc}±0.007	13.26^{a}±0.007	10.27^{d}±0.02	14.20^{bc}±0.14	13.80^{c}±0.03	7.65^{e}±0.007	15.10^{ab}±0.07

Values followed by a different letter in the same row are significantly different ($P < 0.05$)

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، نان تافتون تهیه شده از ارقام چمران و مروارید، بالاترین امتیاز حسی را دارند، همچنین، چمران، پایین ترین نیروی مورد نیاز برای آزمون سوراخ کردن در آزمون بافت سنجی را دارد، در حالی که، سپاهان، پایین ترین امتیاز حسی و بیشترین سفتی را دارد. بنابراین بر اساس آزمون های شیمیایی، رئولوژیکی، حسی و بافتی هشت رقم گندم ایرانی، می توان نتیجه گرفت که رقم های مروارید، چمران و سیروان، بالاترین کیفیت تکنولوژیکی و سپاهان، پایین ترین کیفیت تکنولوژیکی را دارند.

۳-۳- شناسایی پروتئین

مشکلات متعددی در ارتباط با آنالیز پروتئومیک پروتئین های ذخیره ای گندم وجود دارد که شامل محدود بودن بانک اطلاعاتی در دسترس، پیچیدگی حاصل از حضور یک سری پروتئین همولوگ و زنجیره های تکراری می باشد. با این وجود، پروتئینهای گندم، به میزان وسیعی با استفاده از HPLC[۱۸و ۱۰] و اسپکترومتری جرمی مطالعه شده اند که امروزه، به طور وسیعی به تنهایی یا در ترکیب با تکنیک های کروماتوگرافی دیگر، در مطالعات پروتئومیک گندم به کار گرفته می شوند [۱۹, ۲۰].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]

هر بخش، در معرض هضم تریپتیک و سپس آنالیز با FT-ICP-Orbitrap قرار می گیرد، سپس قطعات پپتیدی حاصل با بانک اطلاعاتی پروتئین (NCBI یا Swissprot) مقایسه می شوند [۱۷]. چون هربخش دارای چندین پروتئین است، دامنه خطای جرمی ppm ۸/۸ دامنه تغییر زمان تگهداری min ۵ و آستانه تعیین خطای ۱٪ برای شناساییی پپتیدها و کاهش خطا، ضروری می باشد. طیف جرمی بخش گلیادینی ازقام گندم در شکل ۱ نشان داده شده است.

پروتئین های اصلی چهار رقم گندم در جدول ۳ نشان داده شده است.

Table 3 major proteins of wheat cultivars (Morvarid, Chamran, Sirvan and Sepahan)

sub-fractions	Morvarid	Chamran	Sirvan	Sepahan
α/β gliadin	37	16	28	5
γ gliadin	36	36	22	38
Puroindoline A	33	14	0	0
Puroindoline B	19	23	0	0
High molecular weight subunit DY10	35	35	0	0

با توجه به پروتئین های شناسایی شده، ارقام انتخاب شده گندم، مروارید و چمران، دارای زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی Dy10 و پیوروایندولین A و B (PINs) می باشند. اما این بخش ها در ارقام سیروان و سپاهان وجود ندارند. یک نوع از پروتئین، با ورن مولکولی بالا با توالی اسید آمینه مشابه گلیادین، دارای سیستئین به تعداد فرد می باشد و به همدیگر یا به گلوتنین ها متصل می شوند [۲۱]. این پروتئین ها از نظر ساختاری مشابه گلیادین ها هستند در حالی که از نظر عملکرد، به زیرواحد های گلوتنین شباهت دارند.

بخش الیگومری، به گلیادین یا ورن مولکولی بالا HMW-GS) (، گلیادین مجتمع یا گلوتنین محلول در اتانول منسوب می شود. این پروتئین، به عنوان خاتمه دهنده زنجیره پلیمرگلوتنین عمل می کند، بنابراین، اندازه پلیمر گلوتن را محدود می کند و کیفیت آرد را تحت تاثیر قرار می دهد. PINs یکی از پروتئین های مهمی هستند که خواص تشکیل کف را در کف های مایع آسیب دیده اصلاح می کند و ساختار مغز نان را تحت تاثیر قرار می دهد [۲۲]. ممکن است آن ها با بخش مایع خمیر، واکنش دهند، بنابراین، می توانند نقش مهمی در پایدارسازی فیلم های مایع شکننده داشته باشند که این فیلم ها، لایه ای به دور سلول های گازی تشکیل می دهند. آزمایشات مختلف نشان می دهند که بیان PINs در گیاهان مثل برنج، موجب بافت نرم تر دانه می شود [۲۳].

در این مطالعه، همه رقم های گندم انتخاب شده، α/β- و γ-گلیادین دارند، در حالی که γ-گلیادین در ارقام مروارید، چمران و سپاهان بالاست (۳۸٪ -۳۱)، مقدار آن در سیروان، نسبتا پایین است (۲۲٪)، که نشانگر این است که، γ-گلیادین، اثری روی کیفیت گندم ندارد.

میزان α/β-گلیایدن در ارقام گندم با کیفیت بالا، مروارید، چمران و سیروان زیاد است، در حالی که سپاهان، مقدار کنی از این بخش دارد. این نتیجه مطابق یافته های Piston و همکاران (۲۰۱۱) است، در گندم هایی که ژن تولید کننده γ-گلیادین با تکنولوژی RNAi، خاموش شده است، بخش های گلوتنی دیگر افزایش می یابند و همچنین، پارامترهای کیفی به میزان کمی تحت تاثیر قرار می گیرند [۲٤]. همچنین، ممکن است، سنتز پرولامین های دیگر، موجب خمیری قوی تر با مقاومت اصلاح شده در برابر مخلوط کردن، حاصل شود [۲۵-۲۷].

۳-٤- شناسایی پپتیدها

پپتیدهای مختلف در پروتئین ها شناسایی شده اند و با جز به جز سازی با استفاده از برخورد یون با انرژی بالا (collision ion dissociation [CID]) تایید شده اند. اسپکترومتری جرمی با قدرت تفکیک FWHM ۷۰۰۰۰، 1×10^{6}یون و ماکزیمم زمان اسکن ms ۱۲۰ به دست می اید. پپتیدهای ویژه و خواص ان ها در جدول ٤ نشان داده شده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]

Table 4 unique peptides of subfractions gliadin

protein	Unique peptide sequence	-10lgp	M	RT	Start	End
HMW DY10	K.GQQGYYPTSLQQPGQGQQGYYPTSLQHTGQR	100.87	3452.61	34.12	185	215
	K.GGSFYPGETTPLQQLQQGIFWGTSSQTVQGYYPGYTSPR	82.37	4219.03	57.82	97	135
	R.QQPVQGQQPEQGQQPGQWQQGYYPTSPQQLGQGQQPR	79.45	4188.98	36.70	216	252
γ-gliadin	R.SLVLQTLPTMCNVYVPPYCSTIR	77.14	2711.35	52.02	256	278
α/β-gliadin	K.SQVLQQSTYQLLQELCCQHLWQIPEQSQCQAIHNVVHAIILHQQQK	96.44	5589.78	51.86	162	207
PIN A	R.CNIIQGSIQGDLGGIFGFQR	95.53	2179.08	53.94	96	115
	K.DFPVTWR.W	36.44	919.90	40.97	61	67
PIN B	K.DFPVTWPTKWWK.G	63.90	108955	43.66	63	74
	K.QLSQIAPQCR.C	41.29	1199.61	24.48	88	97
	R.LGGFLGIWRGEVFK.Q	39.87	1527.87	46.80	109	122

پپتیدهای ویژه در HMW Dy10، جرم بیش از ۳٤۰۰ Da دارند. اسید آمینه غالب آن ها، گلوتامین (Q)، پرولین (P) و گلیسین (G) با واحدهای تکراری QGQQ می باشند. این نتیجه، نسبتا در راستای یافته های Qian و همکاران (۲۰۰۸) می باشد که گزارش کرده اند گلوتنین با وزن مولکولی بالا، واحدهای تکراری هگزاپپتید (PGQGQQ) و تری پپتید (GQQ) می باشد [۲۸]. اغلب پپتیدهای ویژه در PINs وزن زیر ۲۰۰۰Da دارند. اسیدآمینه غالب آن ها، گلوتامین (Q)، پرولین (P) و گلیسین (G) می باشد. PINs، به علت دارا بودن تریپتوفان، ویژگی اتصال به چربی را دارند. اما پروفایل اسیدآمینه ای نشان می دهد که اسید آمینه غالب در HMW Dy10، PINs A, B قطبی نیستند. همچنین، آن ها هیدروفوب هستند و بنابراین در داخل پروتئین قرار می گیرند و توانایی کمی برای تماس با آب دارند. احتمال دارد آن ها در فرآیند تهیه نان با چربی واکنش دهند.

پپتید ویژه، هم در α/β-گلیادین و هم γ-گلیادین در زنجیره انتهایی C قرار دارد، چون اسیدآمینه سیستئین، آن جا قرار دارد. در این تحقیق، بررسی اسیدآمینه های حاصل از شکستن زیرواحدهای گلیادین با تریپسین، نشان می دهد که پپتید ویزه در α/β-گلیادین، دارای سه سیستئین در مروارید، چمران و سیروان می باشد در حالی که سپاهان، هیچ سیستئینی در زنجیره پپتیدی ویژه خود تدارد (R.SQVLQQSTYQLLR.E). مشخص شده است که پپتید ویژه در γ-گلیادین، تنها یک سیستئین دارد. واضح است که اسید آمینه سیستئین در گلیادین، اتصالات عرضی بین زنجیری را با گلوتنین تسهیل می کند که ویژگی آرد را تحت تاثیر قرار می دهد [۸]. در این مطالعه، γ-گلیادین، در همه ارقام گندم، دارای متیوتین در مجاورت سیستئین می باشد. در پپتید ویژه α/β-گلیادین، در ارقام گندم با کیفیت بالا (مروارید، سیروان و چمران)، دو سیستئین در کنار هم هستند. اما سپاهان، سیستئین ندارد. بنابراین، کیفیت گندم با حضور سیستئین تعیین می شود. میزان اسیدآمینه های هیدروفیل، مثل گلوتامین و هیستی دین در α/β-گلیادین، بیشتر از γ-گلیادین است، بنابراین ممکن است زنجیره جانبی آن با زنجیره جانبی یا زنجیره اصلی اسیدآمینه های دیگر (با گروه های کربونیل قطبی) تشکیل پیوند هیدروژنی دهد. همچنین، α/β-گلیادین، دارای گلوتامات است که اسید امینه ای با بارمنفی می باشد و اساسا اسید امینه های باردار، در تشکیل پیوند یونی شرکت می کنند.

همانطور که در جدول ٤ نشان داده شده است، پپتید ویژه در α/β-گلیادین، بالاترین وزن مولکولی را در بین پپتیدهای ویژه زیربخش های دیگر گلیادین دارد. بنابراین، گلیادین با ورن مولکولی بالاتر، اثری عمده روی کیفیت گندم دارد. این وضعیت،

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]

شبیه گلوتنین می باشد، چون گلوتنین با وزن مولکولی بالا، در مقایسه با گلوتنین با وزن مولکولی پایین، اهمیت بیشتری دارد.

٤- نتیجه گیری

آنالیز پروتئومیک بخش گلیادینی گندم نشان می دهد که α/β-گلیادین، بالاترین نقش را در کیفیت تکنولوژیکی گندم دارد. حضور دو سیستئین در مجاورت هم، پایداری شبکه گلوتنی را افزایش می دهد. اسید آمینه های گوگرددار (سیستئین و متیونین)، قطبی هستند و نقش مهمی در تشکیل پیوند دی سولفیدی و هیدروژنی دارند، چون، این واکنش ها، برای پایدار سازی ساختار سه بعدی پروتئین، ضروری هستند. بنابراین، کیفیت گندم و محصولات آن، تحت تاثیر وزن مولکولی، مشخصات هیدروفیلیک اسیدهای آمینه در ساختار پپتیدی قرار می گیرند و α/β-گلیادین، در مروارید، چمران و سیروان، وزن مولکولی بالایی دارند و مقدار بیشتری اسیدآمینه یونی و هیدروفیل دارند. مشخص شده است که پپتید ویژه در α/β-گلیادین، در موقعیت ۲۰۷-۱٦۲ قرار دارد که اثری عمده روی کیفیت گندم دارد.

٥- سپاسگزاری

نویسندگان، از دکتر تیلور، تشکر می کنند که آنالیز LC-MS/MS را در شرکت (Bioinformatics solution Waterloo, Canada) انجام داده اند. سپاس ویژه از دانشگاه صنعتی اصفهان، برای حمایت مالی و همچنین دانشگاه تربیت مدرس و مرکز پژوهش های غلات در تهران که تعدادی ار آنالیزها در آن جا انجام شده اند.

٦- منابع

[1] Faergestad, E.M., E.L. Molteberg, and E.M. Magnus, Interrelationships of protein composition, protein level, baking process and the characteristics of hearth bread and pan bread. J. Cereal Science, 2000. 31(3): p. 309-320.

[2] Faridi, H.A., Functional) bread making) and compositional characteristics of Iranian flat breads. J. Food Science, 1982. 47(3): p. 926-932.

[3]Salehifar, M., M. Seyedein Ardebili, and M.H. Azizi, Effect of wheat flour protein variations on sensory attributes, texture and stalling of Taftoon bread. Cienc. Tecnol. Aliment.,Campinas, 2010. 30(3): p. 833-837.

[4] Anjum, F.M., et al., Wheat gluten: high molecular weight glutenin subunits-structure, genetics and relation to dough elasticity. J. Food Science, 2007. 72(3): p. 56-63.

[5]Weegels, P.L., et al., Depolymerization and re-polymerization of wheat glutenin during dough processing. I. Relationship between glutenin macropolymer content and quality parameters. J. Cereal Science, 1996. 23: p. 103-111.

[6] Wieser, H. and R. Kieffer, Correlations of the gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a micro-scale. J. Cereal Science, 2001. 34: p. 19-27.

[7] Singh, H. and F. MacRitchie, Application of polymer science to properties of gluten. J. Cereal Science, 2001. 33: p. 231-243.

[8] Awais, R., et al., Wheat seed storage proteins: Advances in molecular genetics, diversity and breeding application. J. Cereal Science ۲۰۱۴ .۶۰,p. 11-24.

[9] Payne, P.I., Genetics of wheat storage proteins and the effect ofallelice variation on bread making quality. Annu, Rev. Plant physiol, 1987. 38: p. 141-153.

[10] MacRitchie, F., physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. Adv. Food Nutr. Res., 1992. 36: p. 1-87.

[11] Ferranti, P., et al ,.Mass spectrometry analysis of gliadin in celiac disease. J. Mass Spectrom, 2007. 42(12): p. 1531-1548.

[12] Dworschak, R., et al., Analysis of wheat gluten proteins by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. J. Mass Spectrum, 1998. 3 :(۵)۳p. 429-435.

[13]Amiour, N., et al., Proteomic analysis of amphiphilic proteins of hexaploid wheat kernels. J. Proteom., 2002. 2(6): p. 632-641.

[14] Gianibelli, M., et al., Biochemical, genetic and molecular characterization of wheat glutenin and itscomponent subunits. J. Cereal Chem., 2001. 78: p. 635-646.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]

[15] Shewry, P.R. and A.S. Tatham, The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evalution. J. Biochemistry 1990. 267: p. 1-12.

[16] Bonomi, F., et al., The performing protein: beyond wheat proteomics? J. Cereal Chemistry, 2013. 90: p. 358-366.

[17] Zhang, W. and B. Chalt, Profound: an expert system for protein identification using mass spectrometric peptide mapping information Anal Chem., 2000. 72: p. 2482-2489.

[18]Marchylo, B.A., et al., Reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of wheat proteins using a new, highly stable column. J. Cereal Chemistry, 1992. 69: p. 371-378.

[19] Cunsolo, V., et al., Structural studies of glutenin subunits 1Dy10 and 1Dy12 by Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry and High Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Rapid Commun. . J. Mass Spectrum, 2003. 17: p. 442-454.

[20] Godovac-Zimmermann, J. and L.R. Brown, perspectivesfor mass spectrometry and functional proteomics. J. Mass Spectrum. Rev, 2001. 20: p. 1-57.

[21] DOvidio, R. and S. Masic, The low-molecular-weight-gluteninsubunits of wheat gluten. J. Cereal Sci., 2004. 39: p. 321-339.

[22] Dubriel, L., et al., Spatial and temporal distribution of the major informs of puroindolines, (puroindoline-a and puroindoline-b) and non specific lipid transfer protein (ns-LTP1e1) of Triticum aestivum seeds. Relationships with their in vitro antifungal properties. Plant Sci., 19 :۱۳۸ .۹۸p. 121-135.

[23] Krishnamurthy, K. and M. Giroux, Expression of wheat puroindoline genes in transgenic rice enhances grain softness. Nat Biotechnol, 2001. 19(2): p. 162-166.

[24] Piston, F., et al., Down-regulating y-gliadins in bread wheat leads to non-specific increase in other gluten proteins and has no major effect on dough gluten strength. J. Pone. 0024754, 2011.

[25] Gil-Humanes, J., et al., Effective shut-down in the expression of celiac disease-related wheat gliadin T-cell epitopes by RNA interference Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, 2010. 107: p. 17023-17029.

[26] Altenbach, S.B., C.K. Tanaka, and P.V. Allen, Quantitative proteomic analysis of wheat grain proteins reveals differential effects of silencing of omega-s gliadin genes in transgenic.Journal of Cereal Science, 2013. 59(2): p. 118-125.

[27] Becker, D., et al., Protein composition and techno-functional properties of transgenic wheat with reduced α-gliadin content obtained by RNA interface. J. APP1, Bot. Food Quality, 2012. 85: p. 23-33.

[28] Qian, Y., et al., Characterization of wheat gluten proteins by HPLC and MALDI TOF Mass Spectrometry. J. American Society for Mass Spectrometry, 2008.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]

Proteomic Analysis of Gliadin and Its effect on Technological Characteristics of Flat Bread

Aghagholizadeh, R.[1*], Kadivar, M. [2], Azizi, M. H. 3, Zahedid, M. [4], Rahiminezhade, M. R. [5]

1. Department of Food Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan
2. Department of Food Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan
3. Department of Food Science, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
4. Department of Cultivation, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan,
5. Department of Biology, College of Basic Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

(Received: 2017/07/12 Accepted:2017/10/10

The end-use quality of common wheat (*Triticum aestivum*) is largely influenced by the its gliadin and glutenin composition. The aim of this study was to use a Q-Exactive iTRAQ method to determine the most effective sub-fractions of gliadin and their unique peptides on the technological quality of Iranian wheat and bread. In flat breads, protein quality is more important than pan bread.Therefore, eight wheat cultivars (Chamran, Morvarid, Sepahan, Parsi, Sirvan, Sivand, Pishgam and Pishtaz) were selected on the basis of weather condition in Iran (dry and warm, wet and warm, mild, cold). The results of analysis showed that Morvarid, Chamran and Sirvan had the highest quality, whereas Sepahan had the lowest quality. MS proteomic analysis indicated that α/β-gliadin had positive impact on the quality of the breads. Its unique characteristics were related to Cycteine, Histidine, Glutamine and Glutamate, which contribute to form disulfide, hydrogen and ionic bonds and caused more stronger gluten network.

Key words: Wheat, Quality, Gliadin, Mass spectrometry.

* Corresponding author email: roya3881@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-07]