تاثیر غلظت پروتئین و تغییرات pH بر برخی ویژگی‌های عملکردی گلیادین

الهه عابدی[۱]، مهسا مجذوبی[۲*]، عسکر فرحناکی[۲]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۲- دانشیار بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۸)

چکیده

گلیادین یکی از اجزاء سازنده گلوتن با ویژگی‌های عملکردی منحصر به فرد می‌باشد. در این تحقیق گلیادین بـه وسـیله انحـلال در اتـانول از گلـوتن جداسازی و استخراج گردید. سپس برخی خواص عملکردی گلیادین که شامل قدرت جذب و نگهداری آب، ظرفیت کف کننـدگی و پایـداری آن و نیز امولسیون کنندگی و پایداری آن بود، در pH های مختلف ۳، ۶ و ۹ در دو غلظت ۱ و ۲٪ پروتئین مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان به کمک نتایج حاصل، کاربرد گلیادین را به عنوان یک پروتئین گیاهی در صنعت غذا و غیر غذا افزایش داد. pH ایزوالکتریک گلیادین برابر با ۶ محاسبه گردیـد کـه در آن کمترین ظرفیت جذب و حفظ آب، امولسیون کنندگی و تولید کف و حلالیت مشاهده شد و بیشترین خواص عملکردی ذکـر شـده مربـوط بـه pH ۳ بود. با افزایش غلظت پروتئین کلیه خواص عملکردی افزایش یافت. نتایج حاصل از الکتروفورز نشان داد که تفاوتی بین باندهای پروتئینی در pHهای مختلف وجود نداشت. در مجموع نتایج نشان داد که گلیادین برای استفاده در محصولات با pH اسیدی مناسب می‌باشد.

کلید واژگان: گلیادین، گلوتن، خواص عملکردی، pH

* مسئول مکاتبات: majzoobi@shirazu.ac.ir

۱-مقدمه

گلوتن یکی از فراورده‌های با ارزش گندم است که در طی فرایند تولید نشاسته بدست می‌آید. به دلیل ویژگی‌های عملکردی مختلفی که در گلوتن وجود دارد این ماده کاربردهای متعددی در صنعت غذا (مانند صنایع نانوایی، ماکارونی و فراوری گوشت) و سایر صنایع یافته است [۱]. یکی دیگر از دلایل کاربردهای فراوان گلوتن مربوط به منشاء گیاهی آن می‌باشد زیرا مصرف کنندگانی که تمایل به استفاده از محصولات کاملا گیاهی دارند رو به افزایش می‌باشد. همچنین قیمت تولید و جایگزینی منابع حیوانی پروتئین بسیار گران تر از منابع گیاهی پروتئین می‌باشد. لذا بسیاری از تولید کنندگان به دنبال رفع محدودیت‌های پروتئین‌های گیاهی و افزایش کاربرد آن‌ها می‌باشند. گلوتن خود از دو پروتئین دیگر با ویژگی‌های عملکردی متفاوت با نام‌های گلیادین و گلوتنین به نسبت ۱:۱ تشکیل شده است [۲ و ۳]. گلیادین و گلوتنین از نظر وزن مولکولی و ساختار تفاوت‌های بسیاری با یکدیگر دارند از جمله اینکه گلیادین به صورت منومر و گلوتنین به صورت پلیمر می‌باشد. گلوتنین با وزن مولکولی تقریبی ۵۰۰×۱۰^{۳} تا $۱۰^{۶}$ گرم بر مول مولکولی بسیار بزرگتر از گلیادین است و در اسید یا باز رقیق محلول است در حالی که گلیادین وزن مولکولی ۳۰×۱۰^{۳} تا ۸۰×۱۰^{۳} گرم بر مول دارد و در اتانل ۷۰٪ محلول است [۳]. به دلیل در دسترس بودن و ویژگی‌های عملکردی مختلف گلیادین و گلوتنین، این دو پروتئین از یکدیگر جداسازی و در صنایع مختلفی از جمله تولید فیلم‌های غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. مطالعاتی در خصوص تاثیر گلیادین بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های تولید شده از گلوتن انجام شده است و نتایج نشان داده است که در طی خشک شدن فیلم‌ها تجمعات صفحه بتا با اتصالات هیدروژنی بین مولکولی گلیادین رخ می‌دهد [۴]. ویژگی‌های فیلم‌های طبیعی تولید شده از گلیادین و تاثیر گلیسرول بر خواص این فیلم‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفته است [۵]. تحقیقات نشان داده است که می‌توان از گلیادین گندم با غلظت ۱۳٪ وزنی در شرایط قلیایی ژل تهیه نمود [۶]. همچنین به منظور بهبود برخی ویژگی‌های عملکردی گلیادین و گلوتنین، این دو پروتئین با استفاده از استیله کردن اصلاح شده‌اند و نتایج نشان داده است که این روش، حلالیت و جذب آب این دو پروتئین را که از محدودیت‌های اصلی آن‌ها به شمار می‌رود برطرف نموده است [۷]. به منظور بهبود خواص امولسیفایری گلیادین از روش دی آمیده کردن توسط اسید سیتریک استفاده شده است و خصوصیات محصول در pH های ۰/۵ و ۲ مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داده است دی آمیده کردن باعث افزایش حلالیت و پایداری امولسیون و کاهش نیروی کشش سطحی آب در روغن گردید [۸]. در تحقیقی تاثیر زمان انجماد بر خصوصیات گلیادین، گلوتنین و گلوتن بررسی شد و نتایج نشان داد گلیادین در طی انجماد نسبت به دو پروتئین دیگر کمتر دچار تغییرات شد [۹]. اگرچه تحقیقات با ارزشی در مورد کاربردهای گلیادین و گلوتنین موجود است اما انجام مطالعات گسترده‌تری برای یافتن کاربردهای بیشتر این پروتئین‌های گیاهی در محصولات غذایی و شرایط مختلف آن‌ها لازم می‌باشد. به عنوان مثال تعیین شرایطی که عملکرد این پروتئین‌ها بیشینه خود باشد یا تاثیر بر هم کنش اجزاء سازنده غذا بر این پروتئین‌ها باید نیاز به مطالعات بیشتری دارد. لذا هدف از این تحقیق بررسی تاثیر تغییرات pH محیط و غلظت‌های مختلف گلیادین بر برخی ویژگی‌های عملکردی گلیادین بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱ -مواد

پودر گلوتن از کارخانه تولید نشاسته گندم فارس گلوکوزین واقع در مرودشت فارس خریداری شد. اتانول با درجه خلوص ۹۶٪ از شرکت پویش طب ایران و محلول استاندارد پروتئین (مارکر) با وزن مولکولی ۱۰ تا ۲۰۰ کیلو دالتون، از شرکت فرمنتاز کانادا و سایر مواد شیمیایی لازم برای انجام این تحقیق از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

۲-۲- تعیین ترکیبات شیمیایی گلیادین

مقدار رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر گلیادین طبق روش‌های استاندارد AACC به ترتیب به شماره‌های 44-15A، 35-2220، 39-11 و 08-01 تعیین شد. مقدار کربوهیدرات کل، پس از محاسبه رطوبت، پروتئین، خاکستر و چربی و کم کردن از ۱۰۰ (بر اساس وزن خشک) محاسبه گردید [۱۰].

۲-۳- جداسازی گلیادین از گلوتن تجاری

۵ گرم گلوتن با ۳۷۵ میلی لیتر اتانول v/v ۶۰٪ مخلوط و به مدت ۲ دقیقه در هموژنایزر (اولترا توراکس دیجیتال مدل T25 شرکت آی -ک-آ آلمان) قرار داده شد و سپس توسط همزن آهنربایی (مدل کا-جی-ام شرکت اسکو لب آلمان) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق مخلوط گردید. سوسپانسیون‌ها با سرعت g ۱۰۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه دستگاه سانتریوفیوژ با سرعت بالا و یخچال دار (مدل RC-5 شرکت سوروال آمریکا) شدند. این عمل تا آن حد تکرار شد که مایع رویی کاملا شفاف شد و در نهایت از جمع آوری مایع فوقانی هر مرحله گلیادین بدست آمد. برای تبخیر اتانول باقی‌مانده از آون معمولی (گالن کمپ مدل 1H-100 انگلستان) با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد استفاده شد و در نهایت گلیادین توسط دستگاه خشک کن انجمادی ساخت ایران، خشک شدند و پس از آسیاب شدن توسط آسیاب آزمایشگاهی (اکساندر ورک، مدل WEL 82، ساخت آلمان)، اندازه ذرات پودرها در محدوده کمتر از ۴۵ میکرون درجه بندی گردید [۱۱].

۲-۴- تعیین نقطه ایزوالکتریک تقریبی

برای دستیابی به نمونه های گلیادین با pH های مختلف، سوسپانسیون ۳٪ از گلیادین در بافر استات (برای pH های اسیدی) و بافر فسفات (برای pH های بازی) تهیه شد. سپس به کمک هیدروکسید سدیم و اسید کلریدریک ۰/۵ مولار، pH پروتئین‌ها در محدوده ۴ تا ۸/۶ با اختلاف ۰/۲ واحد تنظیم گردید و توسط هموژنایزر (دیجیتال اولتراتوراکس مدلT25 شرکت آی-ک-آ آلمان) با دور ۱۰۰۰۰rpm به مدت ۳۰ ثانیه، پروتئین‌ها کاملاً مخلوط شدند. سوسپانسیون‌های پروتئینی حاصل با سرعت ۳۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریوفیوژ شده و محلول رویی جدا گردید. میزان حلالیت، از طریق تعیین تعیین میزان پروتئین به روش میکروکلدال نمونه اولیه از ثانویه نمونه‌های پروتئینی تهیه شده محاسبه شد [۷].

۲-۵- تعیین میزان جذب آب

۰/۲۵ و ۰/۵ گرم از گلیادین با ۱۰ میلی لیتر بافر استات سدیم (۵۵ گرم در ۱۲۰ میلی لیتر آب مقطر) و فسفات سدیم ۰/۱ مولار مخلوط گردید و pH این محلول‌ها به کمک هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار و اسید کلریدریک ۰/۵ مولار در pH های ۳، ۶ و ۹ تنظیم شد. سپس سوسپانسیون‌ها به مدت ۳۰ دقیقه توسط دستگاه همزن آهنربایی مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. در نهایت حجم مایع فوقانی در استوانه مدرج تعیین گردید و میزان جذب آب نمونه‌ها محاسبه شد [۱۲].

۲-۶-اندازه گیری قابلیت نگهداری آب

محلول 1 و 2٪ گلیادین در ۱۰ میلی لیتر بافر استات سدیم (۵۵ گرم در ۱۲۰ میلی لیتر آب مقطر) و فسفات سدیم ۰/۱ مولار تهیه گردید و pH این محلول‌ها به کمک هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار و اسید کلریدریک ۰/۵ مولار در pHهای ۳، ۶ و ۹ تنظیم شد. سوسپانسیون‌ها تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت g۵۰۰ سانتریوفیوژ شدند و مایع فوقانی خارج شد. تفاوت وزن ثانویه از وزن اولیه نمونه‌ها برابر قابلیت نگهداری آب نمونه‌ها می‌باشد که طبق فرمول زیر بدست آمد [۱۳].

$$\text{قابلییت نگهداری آب} = \frac{\text{افزایش وزن رسوب}}{\text{وزن اولیه نمونه}}$$

۲-۷- تعیین قابلیت و پایداری امولسیون

سوسپانسیون گلیادین با غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ در ۲۵ میلی لیتر بافر استات سدیم (۵۵ گرم در ۱۲۰ میلی لیتر آب مقطر) و فسفات سدیم ۰/۱ مولار تهیه گردید و pH آن‌ها به کمک هیدروکسید سدیم و اسید کلریدریک ۰/۵ مولار در pH های ۳، ۶ و ۹ تنظیم شد. ۵ میلی لیتر از سوسپانسیون پروتئین تهیه شده را با ۵ میلی روغن آفتابگردان مایع مخلوط گردیده و سپس توسط هموژنایزر با دور ۲۰۰۰۰rpm به مدت ۱ دقیقه هموژن شد و امولسیون‌ها با سرعت g ۱۱۰۰ برای ۵ دقیقه سانتریوفیوژ گردید. ارتفاع لایه امولسیفایر شده نسبت به کل محتویات در استوانه‌های مدرج ۲۵ میلی لیتری‌اندازه گیری شد و ظرفیت امولسیفایری طبق فرمول زیر محاسبه گردید [۱۴].

$$\text{ظرفیت امولسیفایری} = \frac{\text{ارتفاع لایه امولسیون شده در لوله سانتریوفیوژ}}{\text{ارتفاع کل محتویات در لوله سانتریوفیوژ}} \times 100$$

پایداری امولسیون تشکیل شده در استوانه‌های مدرج به این صورت تعیین شد که امولسیون‌ها در ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شدند و سپس با سرعت g ۱۱۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریوفیوژ گردیدند. پایداری

امولسیون درون استوانه‌های مدرج به کمک فرمول زیر محاسبه گردید [۱۴].

۱۰۰ × ارتفاع لایه امولسیون بعد از حرارت دادن= پایداری امولسیون
ارتفاع لایه امولسیون شده قبل از حرارت دادن

۲-۸- تعیین قابلیت کف کنندگی و پایداری کف

برای‌اندازه گیری قابلیت کف‌کنندگی و پایداری کف، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم از نمونه گلیادین در ۲۵ میلی لیتر بافر استات سدیم و فسفات سدیم مخلوط گردید، pH محلول‌ها توسط سود و اسید کلریدریک ۰/۵ مولار در مقادیر ۳، ۶ و ۹ تنظیم شدند. مخلوط‌های حاصل به مدت ۲ دقیقه توسط هموژنایزر با سرعت ۲۰۰۰۰ rpm کاملاً مخلوط گردیدند. به کمک استوانه‌های مدرج حجم کف بعد از هم زدن بر حسب میلی لیتر تعیین شد. پایداری کف تا زمان به صفر رسیدن حجم کف از طریق خواندن حجم کف‌های باقی‌مانده درون استوانه‌های مدرج هر ده دقیقه یک بار تعیین شد و به صورت درصدی از حجم کف اولیه بیان گردید [۱۵].

۲-۹- الکتروفورز

این آزمایش با استفاده از سدیم دو دسیل سولفات ژل پلی اکریل آمید انجام شد [۱۶]. نمونه‌ها در بافرهای با pHهای ۳، ۶ و ۹ تهیه گردید به طوریکه غلظت کل پروتئین در محلول ۱۵ میلی گرم در ۰/۵ میلی لیتر بافر نمونه بود و درون لوله‌های اپندرف ریخته شدند. سپس به مدت ۲ دقیقه نمونه‌ها با همزن به هم زده شدند تا به طور کامل در بافر حل شوند. سپس نمونه‌ها به مدت ۶-۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند تا واسرشته شوند و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند. قالب‌های ژل به دستگاه الکتروفورز (کوچک عمودی مدل VEV-7709 شرکت پایا پژوهش ایران) وصل گردیدند و بعد از اطمینان از عدم نشت بافر الکترود بین دو مخزن دستگاه ۲۰ میکرو لیتر از هر نمونه با سرنگ همیلتون درون چاهک‌ها تزریق شد. همچنین مارکر به میزان ۱۰ میکرولیتر در یکی از چاهک‌ها تزریق گردید و جریان الکترسیته برای هر ژل آمپر روی ۳۰ میلی آمپر تنظیم گردید. وقتی که ادامه نشانگر رنگی به ارتفاع یک سانتی متری از پایین ژل رسید، دستگاه خاموش و ژل بیرون آورده شد. ژل رویی با جریان آب شسته و دور ریخته شد. ژل زیری به مدت ۲ ساعت در محلول رنگ آمیزی برموفنل آبی قرار گرفت و در آخر به مدت چند روز در محلول رنگ بر گذاشته شد تا زمینه ژل کاملا رنگ بری شود و باندهای پروتئین به وضوح دیده شوند.

سپس مقدار R_f (طبق فرمول زیر) برای پروتئین‌های نمونه استاندارد (مارکر) و محاسبه شد. فواصل مذکور مربوط به فرمول R_f با استفاده از خط کش به دقت تعیین گردید و بعد از رسم منحنی کالیبراسیون و با استفاده از منحنی استاندارد وزن مولکولی‌های پروتئین‌های موجود در نشانگر، وزن مولکولی هر نمونه تعیین شد.

R_f =فاصله طی شده توسط پروتئین از ابتدای ژل جدا کننده
فاصله میان بالای ژل تا محل قرار گیری نشانگر رنگی

۲-۱۰- طرح آماری

برای انجام آنالیزهای داده‌ها و بررسی اطلاعات بدست آمده از آزمون‌های مختلف از طرح کاملا تصادفی استفاده شد. به منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (حداقل سه تکرار برای هر آزمایش)، پس از آنالیز واریانس از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ($P<۰/۰۵$) استفاده گردید. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 13 صورت گرفت.

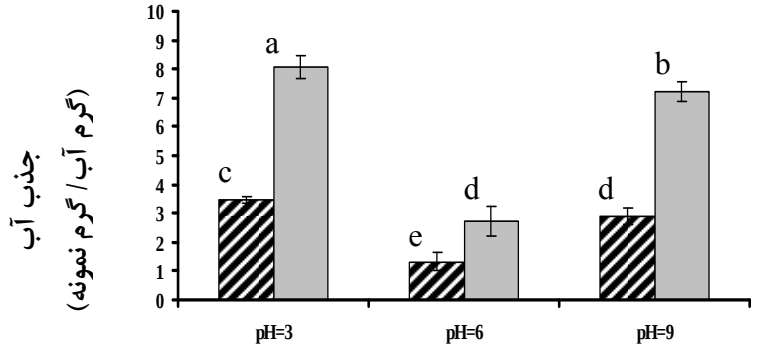
۳-نتایج و بحث

۳-۱- نتایج تجزیه شیمیایی جهت تعیین مواد تشکیل‌دهنده گلیادین

تعیین ترکیبات شیمیایی گلیادین نشان داد که این ماده دارای ۵/۷۰٪ رطوبت، ۸۸/۶۶٪ پروتئین، ۱/۸۰٪ چربی، ۱/۲۳٪ خاکستر و ۸/۵۱٪ کربوهیدرات بود. لذا گلیادین با دارا بودن درصد قابل توجهی پروتئین به عنوان یک منبع گیاهی پروتئینی قابل استفاده می‌باشد. بازده استخراج آن مطابق روش استفاده شده در این تحقیق ۴۰٪ بود. pH ایزوالکتریک گلیادین ۶/۰±۰/۲ محاسبه شد و این pH مطابق نتایج ذکر شده در مطالعات پیشین است که **pH** ایزوالکتریک امگا و آلفا-بتا-گاما گلیادین به ترتیب ۷-۵/۵ و ۶/۵ الی ۸ ذکر شده است [۱۷].

۳-۲- قابلیت جذب آب

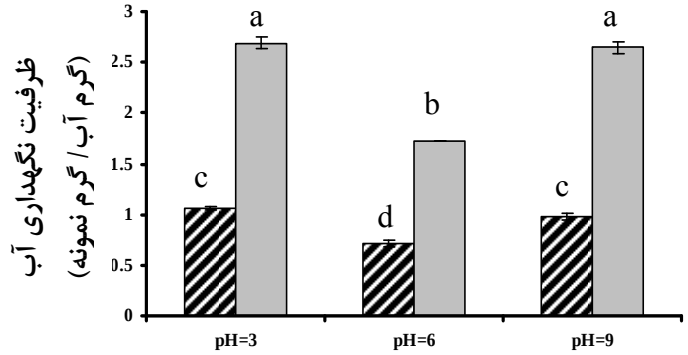
همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود کمترین قابلیت جذب آب گلیادین در pH ایزوالکتریک گلیادین که برابر ۶ می‌باشد، دیده شد. در این pH بار خالص پروتئین صفر است و حداکثر بر هم کنش‌های الکترواستاتیک درون پروتئین ایجاد می‌شود، در نتیجه پروتئین منقبض شده و سطح آن برای تماس با آب کاهش می‌یابد، پیوندهای آب-پروتئین و حلالیت کاهش می‌یابد و پروتئین تمایل به رسوب کردن دارد [۱۸]. با افزایش غلظت پروتئین‌ها از ۱ به ۲٪ قابلیت جذب آب نمونه افزایش یافت.



نمودار ۱ قابلیت جذب آب گلیادین با غلظت ۱٪ (ستونهای هاشور خورده) و **2**٪ (ستون خاکستری) در **pH** های مختلف**.** حروف نامشابه بر روی هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار **(P<0/05)** با سایر نمونه ها می باشد.

۳-۳- قابلیت نگهداری آب

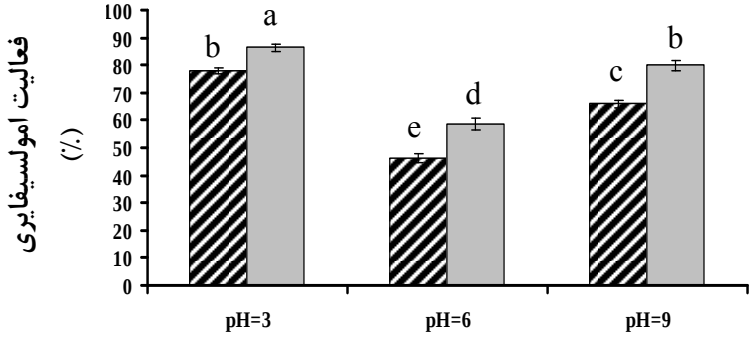
قابلیت نگهداری آب گلیادین در دو غلظت ۱ و ۲٪ در pH۳، ۶ و ۹اندازه گیری شد (نمودار ۲). میزان قابلیت نگهداری آب درگلیادین در pHهای ۳، ۶ و ۹ در غلظت ۲٪ به طور معنی داری بیشتر از غلظت ۱٪ بود و در pH ایزوالکتریک گلیادین که برابر با ۶ بود کمترین قابلیت نگهداری آب مشاهده شد. با دور شدن از pH ایزوالکتریک و افزایش دافعه الکترواستاتیکی قابلیت نگهداری آب آن افزایش می‌یابد [۱۹ و ۲۰].



نمودار ۲ قابلیت نگهداری آب گلیادین با غلظت ۱٪ (ستونهای هاشور خورده) و 2٪ (ستون خاکستری) در pH های مختلف. حروف نامشابه بر روی هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار (P<0/05) با سایر نمونه ها می باشد.

۳-۴- قابلیت تشکیل امولسیون

قابلیت تشکیل امولسیون گلیادین در دو غلظت ۱٪ و ۲٪ و در pHهای ۳، ۶ و ۹ در نمودار۳ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود بیشترین و کمترین قابلیت تشکیل امولسیون گلیادین در pH های ۳ و ۶ مشاهده شد. روند این نتایج مطابق یافته‌های بدست آمده از آزمایشات قابلیت جذب و نگهداری آب بود. در pH ایزوالکتریک نمونه گلیادین که برابر ۶ بود، کمترین قابلیت تشکیل امولسیون مشاهده گردید. علت افزایش در خصوصیات امولسیون کنندگی در pHهای فراتر از ایزوالکتریک مربوط به افزایش در حلالیت پروتئین‌ها می باشد. حلالیت بالا منجر به مهاجرت سریع و جذب سطحی پروتئین در فضای بین سطوح آب و روغن می‌شود. جذب پروتئین باعث کاهش کشش سطحی در فضای بین آب و روغن خواهد شد و در نتیجه پایداری امولسیون زیاد می‌شود [۲۱]. وابستگی فعالیت امولسیون کنندگی به pH و تعادل آبدوست-چربی دوست پروتئین‌ها مربوط است. پروتئین‌ها در فضای بین سطحی آب و روغن به گونه‌ای جهت‌گیری می‌شوند که قسمت چربی دوست آن به سمت قسمت محلول در چربی و قسمت آبدوست آن به سمت قسمت محلول در آب قرار می‌گیرد [۲۲]. با افزایش غلظت پروتئین، قابلیت تشکیل امولسیون در گلیادین به صورت معنی‌داری افزایش یافت زیرا با افزایش غلظت پروتئین، موانعی توسط انرژی فعال سازی ایجاد می‌شود که مانع از مهاجرت پروتئین‌ها به صورت انتشار در بین سطوح آب و روغن می‌شود. افزایش اولیه در غلظت پروتئین باعث افزایش تسهیل در بر هم کنش بین فضای آبی و روغن گردید، ولی هرچه که غلظت پروتئین افزایش یافت، پروتئین‌ها در فضای آبی بهم پیوسته و برهم کنش خوبی بین پروتئین و آب-روغن انجام نگرفت، بنابراین افزایش بیش از حد در غلظت پروتئین‌های شاهد، باعث کاهش در قابلیت امولسیون کنندگی شد [۲۱].

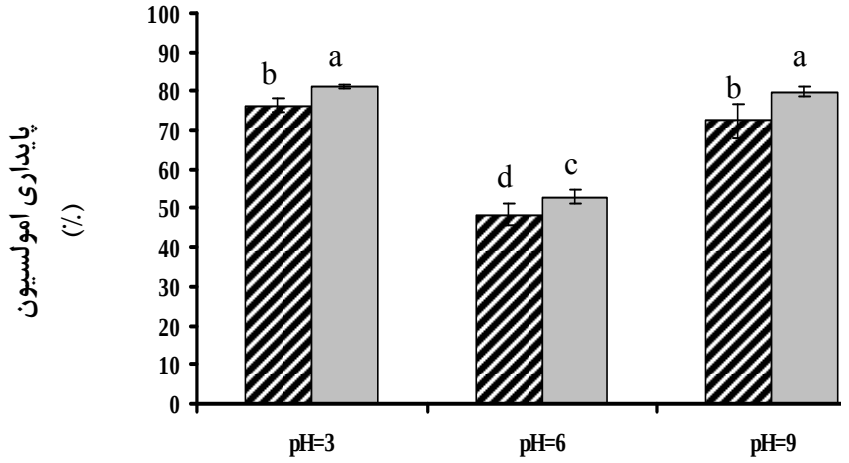


نمودار ۳ قابلیت تشکیل امولسیون گلیادین با غلظت ۱٪ (ستونهای هاشور خورده) و **2**٪ (ستون خاکستری) در **pH** های مختلف. حروف نامشابه بر روی هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار **(P<0/05)** با سایر نمونه ها می باشد.

۳-۵- پایداری امولسیون

پایداری امولسیفایری گلیادین در دو غلظت ۱٪ و ۲٪ و در pHهای مختلف در نمودار ۴نشان داده شده است. در مورد گلیادین روند پایداری امولسیفایری ابتدا نزولی و سپس صعودی بود. حداکثر و حداقل پایداری امولسیفایری گلیادین به ترتیب در pH ۳ و ۶ مشاهده گردید. با افزایش غلظت پروتئین‌ها از ۱٪ به ۲٪ پایداری امولسیون در تمامی‌سطوح pH افزایش یافت.

پروتئین‌ها علاوه بر عمل امولسیفایری (کاهش کشش سطحی) از طرق سایر روش‌ها نیز امولسیون را پایدار می‌کنند



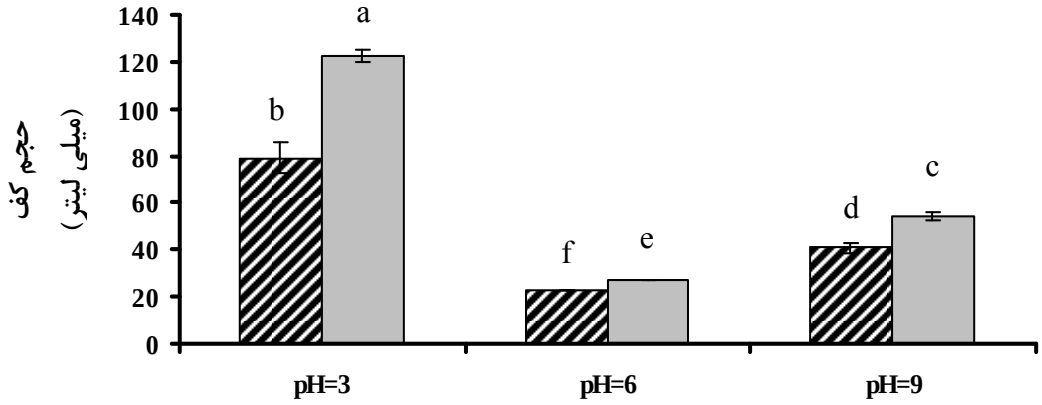
نمودار ۴ قابلیت پایداری امولسیون گلیادین با غلظت ۱٪ (ستونهای هاشور خورده) و ۲٪ (ستون خاکستری) در pH های مختلف. حروف نامشابه بر روی هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار (P<0/05) با سایر نمونه ها می باشد.

افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته و در نتیجه کاهش سرعت تفکیک دو فاز مطابق قانون استوک (عمل پایدار کنندگی)، تشکیل فیلم ویسکوالاستیک مقاوم در سطح دو فاز، ایجاد نیروهای دافعه بین ذرات فاز پراکنده به علت دارا بودن گروههای باردار، ایجاد ممانعت فضایی که از نزدیک شدن ذرات به هم جلوگیری می‌کند از دیگر عوامل پایداری پروتئین‌ها به شمار می‌رود [۱۲].

۳-۶- قابلیت تشکیل کف

حجم کف‌های تشکیل شده در گلیادین با دو غلظت ۱٪ و ۲٪ و در pH های۳، ۶ و ۹ در نمودار ۵ نشان داده شده است.

بیشترین و کمترین حجم کف تشکیل شده گلیادین شاهد در pH ۳ و ۶ مشاهده شد پروتئین‌ها عوامل تولید کف خوبی هستند، چون به راحتی بین فضای آب و هوا نفوذ کرده و تا زمانیکه تا حدی که تاخوردگی آنها باز شود یک فیلم الاستیک و منسجم را تشکیل می‌دهند [۱۲]، به عبارت دیگر جذب سطحی سریع و نظم‌دهی دوباره مولکول‌های پروتئینی در فضای بین آب و هوا، توانایی تشکیل فیلم را تعیین می‌کند و تشکیل فیلم پیوسته و منسجم در فضای بین سطحی آب و هوا پایداری کف را تعیین می‌کند [۱۸].



نمودار ۵ قابلیت تشکیل کف گلیادین با غلظت ۱٪ (ستونهای هاشور خورده) و 2٪ (ستون خاکستری) در pH های مختلف. حروف نامشابه بر روی هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار (P<0/05) با سایر نمونه ها می باشد.

خواص کف کنندگی عمدتاً به میزان اسیدهای آمینه آبگریزی که در سطح مولکول‌های پروتئین در معرض آب و هوا قرار می‌گیرند بستگی دارد [۱۹]. پروتئین‌ها در سوسپانسیون باعث کاهش کشش سطحی در فضای بین آب و هوا می‌شوند و در نتیجه باعث تولید کف می‌گردند [۲۰].

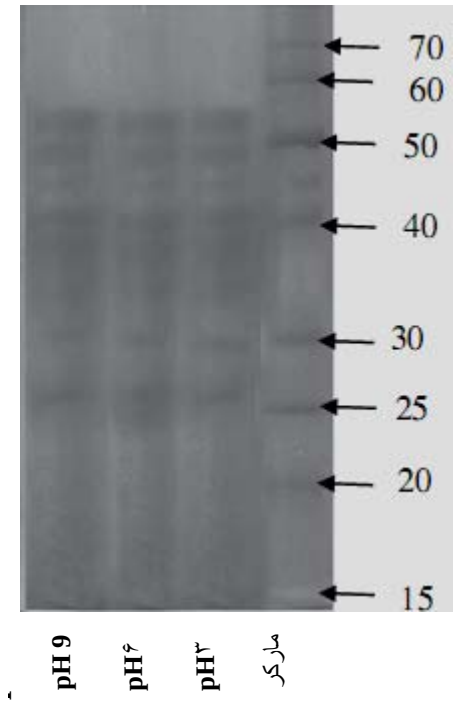
۳-۷- پایداری کف گلیادین

پایداری کف‌های تشکیل شده در گلیادین با دو غلظت ۱٪ و ۲٪ و در pHهای۳، ۶ و ۹ در نمودار ۶ (الف و ب) نشان داده شده است. بیشترین و کمترین پایداری کف تشکیل شده در گلیادین به ترتیب در pH ۳ و ۶ مشاهده شد. پایداری کف تشکیل شده در نزدیک نقطه ایزوالکتریک بیشتر از بقیه pHهاست. این افزایش به دلیل تشکیل لایه‌های پایدار مولکولی در فضای بین سطحی آب و هوای کف است. جذب سطحی و حالت ویسکو الاستیکی پروتئین در حضور نیروهای غیر کووالانسی در فضای بین سطحی هوا-آب در pH ایزوالکتریک و نزدیک به این نقطه بیشترین مقدار است [۱۹]. در این نقطه، پروتئین دارای حداقل بار و دافعه الکترو استاتیکی بین مولکولی است، بنابراین اجازه تشکیل لایه پایدار پروتئین در فضای بین سطحی آب-هوا را می‌دهد [۱۷]. غلظت پروتئین از عوامل موثر بر پایداری کف می‌باشد. با افزایش در غلظت پروتئین برهم کنش پروتئین-پروتئین و ویسکوزیته محلول پروتئین افزایش می‌یابد، بنابراین تشکیل فیلم پروتئین منسجم و چند لایه در فضای بین سطحی آب و هوا را تسهیل می‌کند و تشکیل این فیلم چند لایه، از بهم پیوستن حباب‌های هوا ممانعت بعمل می‌آورد، در نتیجه پایداری کف تشکیل شده افزایش می‌یابد [۲۱].

۳-۸- الگوی الکتروفورزی گلیادین

در گلیادین باندهای شناسایی شده در pHهای مختلف مشابه هم بود. نتایج مربوط به الگوی الکتروفورتیکی گلیادین در pHهای مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است.

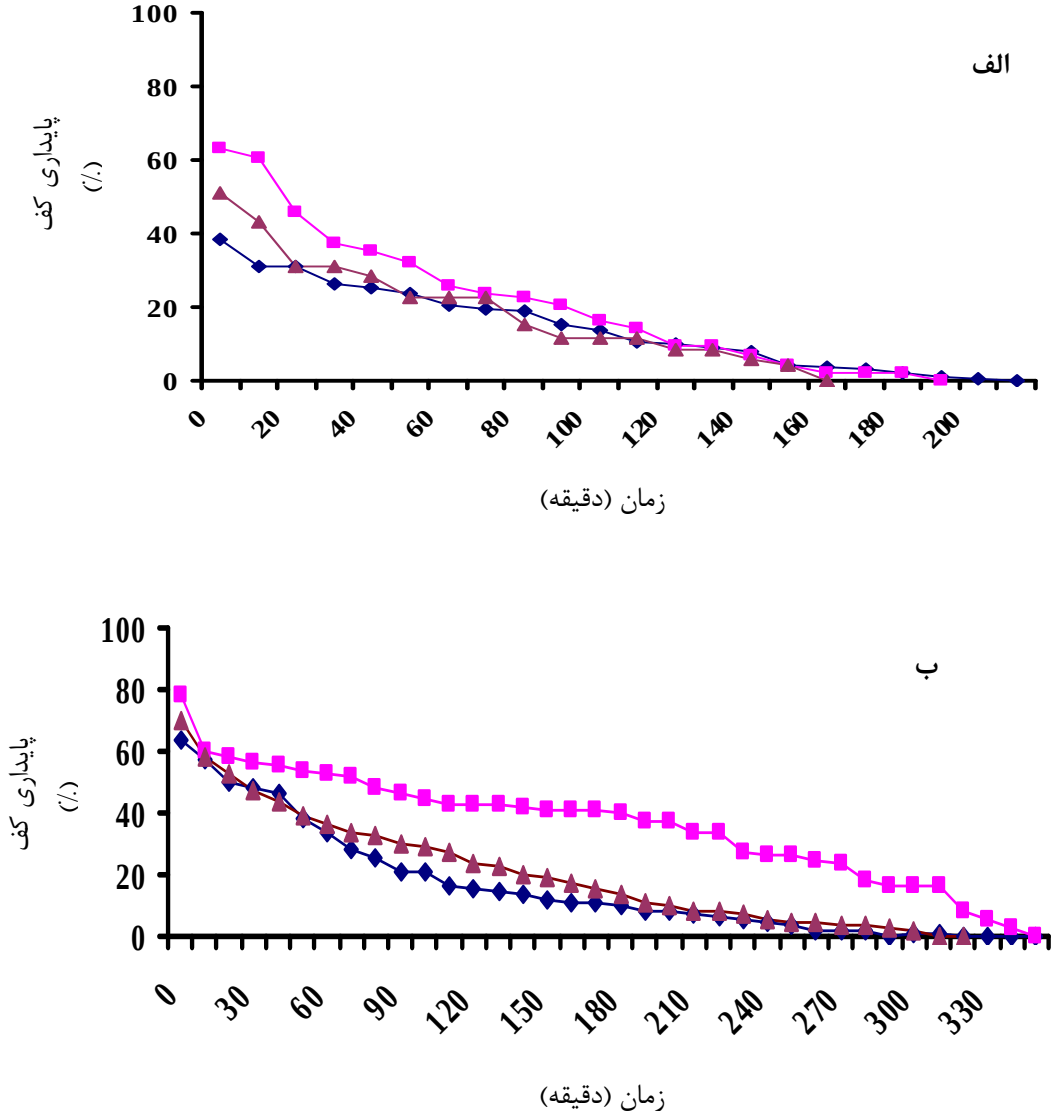
کمترین غلظت و تعداد باندها در pHهای ۶ که نزدیک به pH ایزوالکتریک گلیادین می‌باشد، دیده شد. بعضی باندهای مولکولی در محدوده ۳۵-۳۰ و نیز ۵۰-۴۵ کیلو دالتون، در این دوpH مشاهده نشد. جدول زیر وزن مولکولی تقریبی باندهای شناسایی شده گلیادین را نشان می‌دهد. تغییرات غلظت پروتئین تاثیری بر الگوی الکتروفورتیکی گلیادین نداشت (نتایج نشان داده نشده است).



شکل ۱ الگوی الکتروفورزی گلیادین در pHهای مختلف

۴-نتیجه گیری

خواص عملکردی که شامل ظرفیت نگهداری آب، ظرفیت جذب آب ، ظرفیت کف کنندگی و امولسیفایری و پایداری آنها در سه pH ، ۳ ، ۶ و ۹ و دو غلظت ۱ و ۲٪ مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که در pH ۳ کلیه این ویژگی‌ها بهبود یافت که احتمالا به دلیل وجود اسید آمینه‌های اسیدی در ساختار گلیادین باشد.



نمودار ۶ قابلیت پایداری کف گلیادین در غلظت های ۱٪ (الف) و ۲٪ (ب) در (◆) ۳: **pH**، (■) ۶: **pH** و (▲) ۹: **pH**

جدول ۳ وزن مولکولی تقریبی باندهای شناسایی شده در گلیادین

پروتئین شناسایی شده	وزن مولکولی‌اندازه گیری شده (کیلو دالتون)	وزن مولکولی گزارش شده (کیلو دالتون)
گلیادین ω_5	۵۷/۵۴، ۵۴/۹۵، ۵۱/۵۸، ۴۸/۳۶	۵۵-۴۹ [۱ و ۳]
گلیادین $\omega_{1,2}$	۳۹/۸۱ ، ۴۲/۶۳	۴۴-۳۹ [۱ و ۳]
آلفا و بتا گلیادین	۲۵/۱۱، ۳۱/۶۲	۳۵-۲۸ [۱ و ۳]
گاما گلیادین	۳۶/۵۸، ۳۴/۴۲، ۳۱/۶۲	۳۵-۳۱ [۱ و ۳]

این نتایج بیانگر کارایی مناسب تر گلیادین به عنوان یک پروتئین با ویژگی‌های عملکردی در محصولات با pHهای پایین می‌باشد. در pH ۶ کمترین مقدار خواص عملکردی مدکور مشاهده شد که به دلیل نزدیکی آن به نقطه ایزوالکتریک گلیادین مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد. با کاهش pH میزان دافعه الکترواستاتیکی افزایش و خواص عملکردی

پروتئین افزایش یافت. با افزایش غلظت پروتئین تمامی خواص عملکردی افزایش یافت. نتایج حاصل از الکتروفورز گلیادین نشان داد که در pHهای مختلف هیچ تفاوتی بین جایگاه باندهای پروتئینی وجود نداشت. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که گلیادین به عنوان یک منبع در دسترس پروتئین گیاهی دارای ویژگی‌های عملکردی مختلفی از جمله جذب و نگهداری آب، امولسیفایری و کف کنندگی به ویژه در محصولات با pH اسیدی (مانند انواع سس‌ها، سوپ‌ها محصولات لبنی و ...) می‌باشد. افزایش غلظتگلیادین مصرفی می‌تواند ویژگی‌های عملکردی مذکور را افزایش دهد در حالی که افزایش pH تاثیر منفی بر این خصوصیات داشت.

۵- منابع

[1] Augustin, M.A., Batey, I.L., Day, M. 2006. Wheat-gluten uses and industry needs. Journal of Food Science and Technology, 17, 82-90.

[2] Pomeranz, Y. 1998. Wheat Chemistry and Technology (Vol Π). American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota. USA, 2, 70-80, 120-250.

[3] Wieser, H. 2007. Chemistry of gluten proteins. Food Microbiology, 24, 115-119.

[4] Mangavel, C., Brarbot, J., Bervas, E., Linossier, L., Feys, M., Guéguen, J., Popineau, Y. 2002. Influence of prolamin composition on mechanical properties of cast gluten films. Journal of Cereal Science, 36, 157-166.

[5] Sun, S., Song, Y., Zheng, Q. 2008. Morphology and mechanical properties of thermo-molded bioplastics based on glycerol-plasticized wheat gliadins. Journal of Cereal Science, 48, 613-618.

[6] Sun, S., Song,Y., Zheng, Q. 2009. Rheological behavior of heat-induced wheat gliadin gel. Food Hydrocolloids, 23, 1054-1056.

[7] Majzoobi, M., Abedi, E., Farahnaky, A., Aminlari, M. 2012. Functional properties of acetylated glutenin and gliadin at varying pH values. Food Chemistry, 133, 1402–1407.

[8] Qiu, C., Sun, W., Zhao, Q., Cni, C., Zhao, M. 2013. Emulsifying and surface properties of citric acid deamidated wheat gliadin. Journal of Cereal Science, 58, 68-75.

[9] Wang, P., Chen, H., Mohandan, B., Xu, L.,Ning, Y., Xu, J., Fengfeng, W, Yang, N., Jin, Z., Xu, X. 2014. Effect of frozen storage on physic-chemistry of wheat gluten proteins. Studies on gluten, glutenin-and gliadin-rich fractions. Food hydrocolloids, 39, 187-194.

[10] AACC. 2000. Approved Methods of the AACC. (10th ed). American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota. USA.

[11] Kieffer, R., Schurer, F., Kohler, P., Wieser, H. 2007. Effect of hydrostatic pressure & temperature on the chemical & functional properties of wheat gluten. Journal of Cereal Science, 45, 285-292.

[12] Beuchat, L. R. 1977. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. Food Chemistry, 25, 258-261.

[13] Childs, E.A., Park, K.K. 1976. Functional properties of acylated glandless cotteseed flour. Journal of Food Science, 41, 713.

[14] Neto, V. Q., Narain, N., Silva., J. B., Bora, P. S. 2001. Functional properties of raw and processed caew nut (Anarcarduim Occidentale, L.) kernel protein isolate. Nahrung/Food, 45, 258-262.

[15] Coffman, C.W., Garcia, V.V. 1977. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. Food Technology, 12, 473-484.

[16] Laemmli, U. K. 1970. The cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T_4. Nature, 227, 680-685.

[17] Popineau, Y., Huchet, B., Larre, C., Berot, S. 2002. Foaming and emulsifying of fractions of gluten peptides obtained by limited enzymatic hydrolysis and ultra filtration. Journal of Cereal Science, 35, 327-335.

[18] Yalcin, E., Sakiyan, O., Sumnu, G., Celik, S., Koksel, H. 2008. Functional properties of microwave- treated wheat gluten. Food Research and Technology, 227, 1411-1417.

[19] Damodaran, S. (1996). Functional properties, In: Food Proteins: Properties and Characterization. Nakai, S, Modler, W. (eds). VCH, Pub, New York, 167-234.

[20] Surowka, K., Fik, M. 1992. Studies on the recovery of proteinaceous substances from chicken head. I. An application to the production of protein hydrolysate. International Journal of Food Science and Technology, 27, 9-20.

[21] Franzen, K.L., Kinsella, J.E. 1976. Functional properties of succinylated and acetylated leaf protein. Food Chemistry, 24, 788-795.

[22] Lawal, O.S., Adebowale, K.O. 2006. The acylated protein derivatives of canavalia ensiformis (jack bean): A study of functional characteristics. Journal of Food Science and Technology, 38, 918-929.

Effects of protein concentration and pH changes on some functional properties of gliadin

Abedi, E. [1], Majzoobi, M. [2]*, Farahnaki, A.[2]

1. Graduate student of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2. Associate professor of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

(Received: 90/9/23 Accepted: 91/2/8)

Gliadin is one of the gluten constituents, with unique functional properties. In this study, gliadin was extracted from commercial gluten by solubilization in ethanol then functional properties of gliadin including water absorption, water holding capacity, foaming capacity and stability, emulsifying capacity and stability at various pH values of 3, 6 and 9 and two protein concentrations (1 and 2%) were investigated. By determination of the gliadin functional properties, as a plant protein, it is possible to extent its food and non food applications. The lowest water holding capacity, water absorption, emulsifying and foaming capacity of gliadin were obtained at pH 6 and the highest values were obtained at pH 3. pH changes had no significant effect on electrophoretic pattern of the gliadin. It was concluded that gliadin is suitable to use in acidic foods.

Keywords: Gliadin, Gluten, Functional properties, pH

* Corresponding Author E-Mail Address: majzoobi@shirazu.ac.ir