

## استخراج پروتئین‌های پلیمری گندم با روش اصلاح شده سانتریفیوژ

سیدهادی پیغمبردوست<sup>۱\*</sup>، مهدیه قمری<sup>۲</sup> و صفر فرج‌نیا<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: 88/5/10

1- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

2- دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان

3- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

\* مسئول مکاتبه E-mail: [peighambar دوست@tabrizu.ac.ir](mailto:peighambar دوست@tabrizu.ac.ir)

### چکیده

آرد پراکنده شده در محلول آبی سدیم دودسیل سولفات چنانچه در سرعت‌های بالا سانتریفیوژ شود لایه ای از ژل پروتئینی را تشکیل می دهد که ژل «گلوٹنین ماکروپلیمر» (GMP) نامیده می شود. اخیراً وزن مرطوب ژل مزبور و ویژگی های فیزیکی - شیمیایی آن در ارزیابی و طبقه‌بندی کیفی ارقام مختلف گندم توسط پژوهشگران غلات مورد استفاده قرار می گیرد. در این مطالعه، روش متداول استخراج ژل GMP با اعمال تغییراتی جهت گسترش دامنه استفاده آن در اکثر آزمایشگاهها اصلاح گردید. در روش اصلاح شده، مشخصه‌های مقدار نمونه، سرعت و زمان سانتریفیوژ، نوع و جنس لوله‌های سانتریفیوژ جهت استخراج بهینه ژل GMP مورد بررسی و حد بهینه آنها به دست آمد. در این پژوهش از 13 رقم گندم ایرانی با کیفیت‌های نانوائی متفاوت استفاده شد. میزان همبستگی وزن مرطوب ژل استخراج شده از آرد گندم با ویژگی‌های نان (حجم و ارتفاع نان) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده همبستگی مطلوبی بین وزن ژل GMP با حجم (0/716) و ارتفاع (0/810) نان نشان دادند. در این مطالعه اصلاحات به عمل آمده در روش متداول استخراج ژل GMP نشان داد که روش اصلاح شده همانند روش متداول قادر به تفکیک و درجه بندی کیفی گندم-ها بوده و همبستگی وزن مرطوب ژل GMP حاصله از روش مزبور با خصوصیات نانوائی بالا می باشد که نشانه کارآمد بودن روش پیشنهادی است. از مزایای روش اصلاح شده می توان استفاده از سانتریفیوژ دور بالا به جای دستگاه اولترا سانتریفیوژ، استفاده از میکروتیوپ‌های پلاستیکی به جای تیوپ‌های پلی کربناته (که معمولاً در کشور ما نایاب هستند)، استفاده از حجم نمونه بسیار کم آرد (که در مطالعات اصلاح گندم که دسترسی به نمونه‌های بیشتر گندم مقدور نیست یک مزیت به شمار می رود)، و در نهایت بررسی کیفیت نانوائی 12 نمونه گندم در دو تکرار در طی یک ساعت با قابلیت تکرار پذیری بالا را نام برد.

واژه‌های کلیدی: آرد، گلوٹنین ماکروپلیمر، گندم، نان

## Extraction of Wheat Polymeric Proteins by a Modified Centrifugation Method

SH Peighambardoust<sup>1\*</sup>, M Ghamari<sup>2</sup> and S Farajnia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran

<sup>3</sup>Biotechnology Research Centre, Tabriz Medical University, Tabriz, Iran

\*Corresponding author: E-mail: [peighambardoust@tabrizu.ac.ir](mailto:peighambardoust@tabrizu.ac.ir)

### Abstract

A protein gel-layer called glutenin macro-polymer (GMP) is formed when a dispersed wheat flour in aqueous sodium dodecyl sulphate (SDS) is subjected to high speed centrifugation. Recently, GMP wet weight and its physico-chemical characteristics are being used by cereal researchers to quality evaluation and classification of wheat lines. In this study, the conventional GMP extraction method was modified to extend its application over the most of laboratories lacking expensive ultracentrifuges. The modification included changes in wheat flour sample amount, centrifugation speed and time, and the type of centrifuge tubes. Thirteen wheat varieties with different breadmaking qualities were used in the modified extraction method. The results showed that the modified extraction method was able to differentiate wheat lines according to their breadmaking characteristics (bread volume and height). A strong positive correlation was observed between GMP wet weight and bread volume (0.716) and bread height (0.810). Advantages of using the modified extraction method introduced in this study are: to use rather cheap and mostly available centrifuges instead of ultracentrifuges, to use plastic micro-tubes instead of polycarbonate tubes (which are rare in our country), to use a very small amount of wheat flour (valuable for breeding studies, where the amount of flour could be obtained is restricted), and finally, to analyze almost 12 flour samples in duplicates during an hour with high reproducibility.

**Keywords:** Bread, Flour, Glutenin macro-polymer (GMP), Wheat

### مقدمه

پخت نان بوده (در آزمایشگاه‌های مختلف از روش‌های متفاوتی برای پخت نان استفاده می‌شود) و از طرف دیگر نیاز به مقادیر کافی گندم یا آرد دارد تا بتوان تکرارهای مناسبی برای حصول اطمینان از نتیجه به کار گرفت. مورد اخیر در حالتی که دسترسی به مقادیر لازم گندم جهت پخت استاندارد نان محدود باشد، مشکل ساز

کیفیت نان تابع ویژگی‌های کیفی گندم مورد استفاده برای تهیه آن است. برای ارزیابی کیفیت نانوائی گندم متداول‌ترین روش، پخت نان و ارزیابی حجم آن می-باشد (ماتسوکاس و موریسون ۱۹۹۱). این روش ارزیابی از یک طرف تا حدود زیادی وابسته به روش

روشی نوین برای پیش بینی خواص کیفی واریته‌های گندم و محصول نهایی آنها مطرح است (دُن و همکاران 2003، سپیرستین و شوچی 1999، پرپچارد 1993، پیغمبردوست و همکاران 2005، سینگ و همکاران 1990 و مونز و همکاران 1982). مطالعات انجام گرفته در منابع علمی اندازه گیری خواص کمی و کیفی رسوب (ژل) پروتئین‌های GMP در محلول SDS را به عنوان روش نوینی برای پیش گویی خواص کیفی گندم، خمیر و نان مطرح نموده اند (دُن و همکاران 2003، پرپچارد 1993، سپیرستین و شوچی 1999 و سینگ و همکاران 1990). پژوهشگران مختلفی به اهمیت تعیین مقدار و ترکیب لایه ژل GMP جدا شده برای کاربردهای ارزیابی کیفیت نان پرداخته اند (خراولند 1980، ویلکز و همکاران 1994، 1996، 1997). با نگرشی اجمالی نسبت به تحقیقات انجام گرفته معلوم می گردد که اکثر نتایج منتشر شده رابطه قوی و تعیین کننده‌ای بین گلوٹنین‌های با وزن مولکولی بالا و خواص نانوائی گندم ها ارائه می دهند (اوتای کوماران و همکاران 1999، پاین و همکاران 1987، پاپینو و همکاران 1994 و لافیاندر و همکاران 1999).

بر اساس اطلاعات موجود، تاکنون در ایران تحقیقی در زمینه استفاده از آزمون GMP برای طبقه بندی کیفی گندم‌ها انجام نگرفته است. در روش استفاده از ژل GMP می توان با داشتن مقدار کم (چند گرم) نمونه گندم نسبت به استخراج پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا از طریق رسوب ژل پروتئینی و ارزیابی کمی و کیفی آن اقدام کرد که اطلاعات دقیقی در مورد خواص کیفی خمیر و نان ارائه می کند. امروزه استفاده از حجم نمونه‌های کم در آزمون‌های مختلف و غربالگری ارقام مختلف گندم و همچنین طبقه بندی آنها از اهمیت زیادی برخوردار است. از مزایای دیگر این روش سرعت زیاد آن است به طوری که در یک روز، تعداد زیادی نمونه قابل آنالیز هستند (بین و همکاران 1998). به علاوه در روش های متداول ارزیابی کیفیت گندم (ارزیابی‌های رئولوژیک

است. در مطالعات ژنتیکی جهت اصلاح ارقام گندم، معمولاً تولید گندم‌های نسل اول محدود بوده و تکافوی مقدار مورد نیاز برای ارزیابی کیفیت نانوائی آنها را با روش‌های متداول نمی کند. لذا وجود روش سریعی که بتواند کیفیت محصول نهایی (نان) را از طریق ارزیابی نمونه‌های محدود گندم پیش بینی کند و قابلیت تکرار پذیری با احتمال خطای کمتر ارائه دهد، ضروری به نظر می رسد.

معمولاً اندازه گیری مقدار پروتئین گندم به عنوان گزینه ای ابتدایی مطرح است که در برنامه‌های خرید گندم مد نظر قرار می گیرد. اما این روش لزوماً نمی تواند کیفیت گندم و به تبع آن کیفیت نان را پیش بینی نماید چرا که گندم‌هایی وجود دارند که با داشتن درصد پروتئین بالا کیفیت نانوائی مطلوبی ارائه نمی دهند. لذا ارزیابی کیفیت پروتئین گندم در کنار اندازه گیری کمیت آن اهمیت دارد.

پروتئین مهم گندم گلوٹن است که از دو جزء گلیادین و گلوٹنین تشکیل شده است و هر کدام دارای خواص کاربردی متفاوتی هستند. گلیادین ها بیشتر مسئول خواص ویسکوز و گلوٹنین ها مسئول خواص الاستیک خمیر هستند (دُن و همکاران 2003). در گذشته برای تعیین کیفیت گندم از تعیین میزان پروتئین کل استفاده می شد، اما از آن جهت که تمام پروتئین‌های گندم برای کیفیت نانوائی مناسب نیستند و تنها پروتئین‌های گلوٹن دارای خاصیت نانوائی می باشد، این روش منسوخ شده است و تعیین کیفیت نانوائی با استفاده از اندازه گیری میزان گلوٹن به روش شستشو و تعیین وزن مرطوب گلوٹن و همچنین روش رسوب زلنی انجام می گردد (ماتسوکاس و موریسون 1991).

اندازه گیری میزان رسوب جزء پلیمری گلوٹن گندم که به گلوٹنین ماکروپلیمر (GMP)<sup>1</sup> موسوم گشته است در محلول سدیم دودسیل سولفات (SDS)<sup>2</sup> به عنوان

<sup>1</sup>Glutenin Macro Polymer

<sup>2</sup>Sodium Dodecyl Solphate

## تهیه آرد از گندم

نمونه‌های گندم پس از انتخاب توسط آسیاب آزمایشگاهی بولر تا درصد استخراج 75% آسیاب شدند (روش (A 26-30 AACC) (AACC, 2005).

## اندازه گیری مقدار پروتئین کل

مقدار پروتئین کل نمونه‌های آرد توسط دستگاه NIR با روش ارائه شده توسط «ویلیامز و سوبرینگ» (1993) اندازه گیری گردید. دستگاه NIR در اندازه گیری پروتئین قبل از استفاده با روش متداول کج‌لادل کالیبره گردید.

## استخراج ژل GMP

برای انجام این آزمون از روش «خراولند» (1980) با اعمال اصلاحاتی به شرح ذیل استفاده شد. مقدار 0/1 گرم نمونه آرد به اضافه 1/4 میلی لیتر محلول SDS 1/5% در میکروتیوپ‌های 1/5 میلی لیتری ریخته شد. در این مطالعه از سه جنس پلی کربنات، پلاستیکی محکم (ساخت آلمان)، پلاستیکی معمولی (ایرانی) برای میکروتیوپ‌ها استفاده شد تا مقاومت آنها در شرایط سانتریفیوژ کردن مورد ارزیابی قرار گیرد. ابتدا 0/7 میلی لیتر محلول SDS در میکروتیوپ ریخته شده، سپس آرد و بقیه محلول اضافه گردید. این کار از کلوخه شدن و چسبیدن نمونه به جداره های لوله جلوگیری می کند. سپس با استفاده از مخلوط کن ورتکس<sup>1</sup> در شدت بالا ذرات آرد در محلول به خوبی پراکنده گردید. میکروتیوپ ها در دستگاه سانتریفیوژ (Beckman Avanti 30) ساخت کشور آمریکا قرار گرفت. عملیات سانتریفیوژ کردن در شتاب‌های 40/000، 45/000 و 50/000 g × و زمان‌های 45، 55 و 75 دقیقه انجام گردید. دمای ثابت 20 درجه سانتی گراد، غلظت SDS 1/5

خمیر و پخت نان) به دلیل طولانی بودن و خطاپذیری زیاد در مراحل گوناگون، قابلیت تکرارپذیری (در یک آزمایشگاه و بین آزمایشگاه‌های مختلف) مشکل ساز می باشد. استفاده از آزمون GMP برای پیشگویی خواص خمیر و حجم نان روشی ساده، کوتاه با قابلیت تکرارپذیری بالا در مقایسه با سایر روش‌ها می باشد.

هدف این پژوهش استفاده از آزمون ژل GMP اصلاح شده با توجه به امکانات قابل دسترس در آزمایشگاه‌های ایران بود. عدم دسترسی به دستگاه اولتراسانتریفیوژ در اکثر آزمایشگاه‌های کشور باعث گردید تا روش متداول آزمون GMP با اعمال تغییراتی چند اصلاح گردد. اصلاحات به عمل آمده شامل استفاده از مقادیر بسیار کم نمونه آرد (در حدود 0/1 گرم) و نیز استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با شتاب کمتر از 50/000 g × به جای دستگاه اولتراسانتریفیوژ (با شتاب های بالاتر از 100/000 g ×) بود. در روش معرفی شده در این مطالعه، پارامترهای مقدار نمونه، سرعت و زمان سانتریفیوژ، نوع و جنس لوله‌های سانتریفیوژ جهت استخراج بهینه ژل گلوٹنین ماکروپلیمر مورد بررسی و حد بهینه آنها به دست آمد. در نهایت میزان همبستگی وزن مرطوب ژل با خواص نان (حجم و ارتفاع نان) مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش ها

## وارته‌های گندم

نمونه‌های گندم شامل 13 رقم با کیفیت نانوائی مختلف از گندم‌های ایرانی (کشت شده در سال 1386 در کشور) بود که با مساعدت مؤسسه تهیه نهال و اصلاح بذر وزارت جهادکشاورزی در کرج تهیه گردید. ارقام مورد آزمون عبارت بودند از: ارقام با کیفیت نانوائی ضعیف (سرداری، الموت، شیرودی، دن)، ارقام با کیفیت نانوائی متوسط (هامون، آذر2، مرودشت، داراب2) و ارقام با کیفیت نانوائی قوی (زرین، بزوستایا، انبیا، پیشتان، تجن).

<sup>1</sup>Vortex mixer

فارینوگرافی آردها انتخاب شد. بعد از سپری شدن دوره های تخمیر اولیه و نهایی، پخت نان از 20 گرم خمیر در قالب های کوچک به ابعاد 30×30×40 میلی متر انجام گرفت. برای پخت نان از دستگاه فر پخت نان کارگاهی (ساخت شرکت Voss آلمان) مجهز به محفظه های جداگانه تخمیر و پخت با قابلیت تزریق بخار فشرده استفاده شد. مراحل فرآیند تخمیر و پخت نان حجیم کوچک به طور خلاصه به صورت زیر می باشد:

مخلوط کردن مواد اولیه - تخمیر اولیه (30 دقیقه، 30 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 75%) - چانه گیری، ورز دادن، رول کردن و قرار دادن در قالب - تخمیر نهایی (60 دقیقه، 30 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 80%) - پخت (30 دقیقه، دمای 170 درجه سانتیگراد) - خنک کردن.

#### اندازه گیری حجم و ارتفاع نان

جهت اندازه گیری حجم از روش حجم سنجی جابجایی دانه کلزا استفاده گردید. پس از انجام برش طولی قرص نان ارتفاع آن با خط کش اندازه گیری گردید. در این مطالعه آزمون مستقیم پخت نان (اندازه گیری حجم و ارتفاع نان) به عنوان روش متداول ارزیابی کیفیت گندم مورد استفاده قرار گرفت.

#### تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمون ها در 3 تکرار انجام شد. همبستگی بین شاخص های کیفی مورد ارزیابی با روش همبستگی پیرسون توسط نرم افزار SPSS صورت گرفت.

#### نتایج و بحث

##### اندازه گیری پروتئین

نتایج اندازه گیری پروتئین در آردهای مورد آزمون در جدول 1 نشان داده شده است. تغییرات مقدار پروتئین در واریته های مورد آزمون به صورت پراکنده بود و از روند خاصی پیروی نکرد. علت این امر مربوط

درصد (وزنی به حجمی) و نسبت نمونه به حلال 1 به 20 مورد استفاده قرار گرفت.

بعد از سانتریفیوژ کردن سوسپانسیون آرد، محصول به دست آمده به صورت سه لایه به ترتیب (از بالا به پائین) مایع فوقانی<sup>1</sup> (حاوی پروتئین های محلول در SDS)، ژل GMP (پروتئین های پلیمری نامحلول در SDS) و رسوب نشاسته به دست آمدند.

##### اندازه گیری وزن مرطوب ژل پروتئینی

بعد از اتمام سانتریفیوژ کردن، مایع فوقانی به آهستگی جدا شده و دور ریخته شد. لایه ژل GMP به دقت (بدون بقایای نشاسته) با استفاده از یک اسپاتول ظریف برداشته شد و به ظرف اندازه گیری درپوش دار قبلاً توزین شده منتقل گردید. توزین نمونه با ترازوی با دقت 0/001 گرم (شرکت Sartorius) انجام شد و به صورت «گرم وزن مرطوب ژل به ازاء 100 گرم ماده خشک نمونه آرد» بیان گردید. در این مطالعه پس از استخراج ژل GMP، وزن مرطوب آن برای تمامی ارقام اندازه گیری شد.

##### پخت نان

برای پخت نان حجیم از روش «پخت در مقیاس کوچک»<sup>2</sup> استفاده گردید. خمیر مورد نیاز در مخلوط کن خانگی اسپیرال 2 کیلوگرمی Clatronic مدل KM3067 تهیه شد. مقدار آب مورد استفاده برای تهیه خمیر با توجه به درصد جذب آب فارینوگرافی هر آرد افزوده شد (داده های فارینوگرافی نشان داده نشده اند). برای تهیه خمیر از 2% مخمر نانوائی (شرکت فریمان مشهد)، 2% نمک طعام تصفیه شده بدون ید (تهیه شده از بازار محلی) و 0/3% بهبود دهنده نانوائی (شرکت ایکاپلاس ترکیه) استفاده گردید. مدت زمان مخلوط کردن خمیر برای هر آرد، زمان توسعه خمیر از نتایج آزمون

<sup>1</sup>Supernatant

<sup>2</sup>Mini baking test

عبارت دیگر نمی توان از روی مقدار پروتئین گندم کیفیت نانوائی آن را مورد ارزیابی قرار داد. محققان دیگر نیز در یافته های خود به نتایج مشابه رسیده اند (آکسفورد و همکاران 1978، سپیرستین و شوچی 1999).

به این است که مقدار پروتئین شاخص خوبی برای تفکیک گندم بر اساس قوت یا ضعف آنها نمی باشد. ارقامی هستند که با وجود داشتن مقدار پروتئین کم، کیفیت نانوائی خوبی داشته و برعکس ارقامی با داشتن مقدار پروتئین بالا جزو دسته ضعیف می باشند. به

جدول 1 - نتایج اندازه گیری مقدار کل پروتئین و وزن مرطوب ژل GMP در آرد های مورد آزمون\*

ارقام گندم	درصد پروتئین (بر اساس ماده خشک)	وزن مرطوب ژل GMP (گرم به ازاء 100 گرم وزن خشک آرد)
سرداری	12/2 <sup>de**</sup>	146 <sup>de</sup>
الموت	11/9 <sup>g</sup>	128 <sup>e</sup>
شیرودی	11/6 <sup>cd</sup>	163 <sup>cde</sup>
دز	12/4 <sup>cde</sup>	168 <sup>cd</sup>
هامون	11/4 <sup>fg</sup>	132 <sup>de</sup>
آذر 2	12/5 <sup>ab</sup>	141 <sup>de</sup>
مروداشت	12/4 <sup>bc</sup>	157 <sup>cde</sup>
داراب 2	12/5 <sup>a</sup>	234 <sup>a</sup>
زرین	12/6 <sup>e</sup>	212 <sup>ab</sup>
بزوستایا	11/5 <sup>ab</sup>	219 <sup>ab</sup>
انیا	11/7 <sup>a</sup>	232 <sup>a</sup>
پیشتاز	12/2 <sup>fg</sup>	164 <sup>cde</sup>
تجن	12/2 <sup>f</sup>	186 <sup>bc</sup>

\* داده های جدول میانگین سه تکرار هستند. \*\* در سطح 5% آماری با آزمون توکی

توسط پژوهشگران مختلف پیشنهاد شده و مورد استفاده قرار گرفته است (پریچارد 1993، سپیرستین و شوچی 1999، سینگ و همکاران 1990 و مومن و همکاران 1982).

#### بررسی پارامترهای سانتریفیوژ

بررسی جنس میکرو تیوپ ها

جنس پلی کربنات در همه شتاب های مورد آزمایش و زمان های 55 و 75 دقیقه نتیجه خوبی نشان داد و شکستگی یا ترک در آنها ملاحظه نگردید. جنس

آزمون وزن مرطوب ژل گلوئین ماکروپلیمر همانطور که از نتایج اندازه گیری وزن مرطوب ژل GMP در جدول 1 ملاحظه می شود مقدار ژل استخراج شده از ارقام با کیفیت نانوائی قوی (بزوستایا، انیا، پیشتاز و تجن) در مقایسه با ارقام ضعیف (الموت، سرداری، شیرودی و دز) بیشتر بود. رقم الموت با میانگین وزن 128 گرم کمترین و رقم انیا با میانگین وزن 232 گرم بیشترین وزن مرطوب ژل را دارا بودند. اندازه گیری میزان رسوب GMP به عنوان روشی نوین و کاملاً اختصاصی برای ارزیابی کیفی واریته های گندم

مشخصه‌ها قبلاً به طور دقیق مورد بررسی قرار گرفته بودند (خراولند ۱۹۸۰) و قابل کاربرد در روش اصلاح شده بودند.

#### آزمون پخت نان

نتایج اندازه‌گیری حجم و ارتفاع نان در جدول ۲ نشان داده شده است. واریته‌های قوی ارتفاع نان بیشتری نسبت به واریته‌های متوسط و ضعیف نشان دادند. البته داده‌های حجم نان در مورد برخی واریته‌ها اختلاف معنی داری با هم نشان نداد و نوعی هم پوشانی بین برخی از واریته‌های متوسط و قوی دیده شد.

همبستگی بین وزن مرطوب ژل GMP با حجم و ارتفاع نان شکل ۱ نمودار همبستگی بین وزن مرطوب ژل GMP با حجم و ارتفاع نان را نشان می‌دهد. در این مطالعه ضریب همبستگی میان وزن مرطوب ژل و حجم و ارتفاع نان به ترتیب ۰/۷۱۶ و ۰/۸۱۰ به دست آمد. جزء پلیمری پروتئین گلوتهین گندم مهمترین جزء در ایجاد شبکه گلوتهنی در ساختار نان بوده و ارتباط مستقیم با کیفیت نانوائی ارقام گندم دارد. نتایج ارائه شده در شکل ۱ نیز مؤید این مطلب است و هم راستا با نتایج تحقیقات پژوهشگران دیگر می‌باشد که همبستگی خوبی بین فاکتورهای نانوائی و وزن مرطوب ژل GMP گزارش کرده‌اند (پاپینو و همکاران ۱۹۹۴، سینگ و همکاران ۱۹۹۰). از این نتایج می‌توان استنباط نمود که وزن مرطوب ژل GMP به عنوان روش پیشگویی کننده خوبی برای ارزیابی کیفیت نان به شمار می‌رود. ضرایب همبستگی بدست آمده در این مطالعه نیز مؤید این مطلب بوده و ضمن اثبات نتایج تحقیقات پیشین، تأیید کننده کارآمدی روش اصلاح شده استخراج ژل GMP مورد استفاده در این مطالعه می‌باشد.

پلاستیکی محکم (ساخت آلمان) در شتاب‌های ۵۰/۰۰۰ و ۴۵/۰۰۰ g × شکست، اما در شتاب ۴۰/۰۰۰ g × و زمان-های ۵۵ و ۷۵ نتیجه خوبی داد. میکروتیوپ‌های معمولی (ساخت ایران) در هر سه شتاب مورد بررسی شکست. با توجه به کمیاب بودن جنس پلی کربنات در بازار ایران در نتیجه جنس پلاستیکی محکم ساخت آلمان انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت.

#### زمان، شتاب (دور) و دمای سانتریفیوژ

نتایج به دست آمده از مقدار وزن مرطوب ژل GMP در زمان‌های سانتریفیوژ کردن ۴۵، ۵۵ و ۷۵ دقیقه (در میکروتیوپ‌های جنس پلی کربنات و پلاستیکی محکم ساخت آلمان) نشان داد که وزن ژل بدست آمده در زمان‌های ۵۵ و ۷۵ دقیقه تفاوتی با هم نداشتند، ولی در نتایج وزن ژل به دست آمده در زمان ۴۵ دقیقه اندکی اختلاف مشاهده گردید. لذا زمان ۵۵ دقیقه به عنوان زمان بهینه انتخاب گردید. مقدار وزن مرطوب ژل و نیز استحکام میکروتیوپ‌ها در شتاب‌های ۴۰/۰۰۰، ۴۵/۰۰۰ و ۵۰/۰۰۰ g × سانتریفیوژ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که در شتاب‌های ۴۵/۰۰۰ و ۵۰/۰۰۰ g × همه میکروتیوپ‌ها باستثناء جنس پلی کربنات شکستند. اما در شتاب ۴۰/۰۰۰ g × میکروتیوپ جنس پلاستیکی محکم (ساخت آلمان) در تمام زمان‌های مورد بررسی سالم باقی مانده و در عین حال مقدار ژل GMP قابل مقایسه‌ای با شتاب-های بالا (جنس تیوپ پلی کربنات) نشان داد.

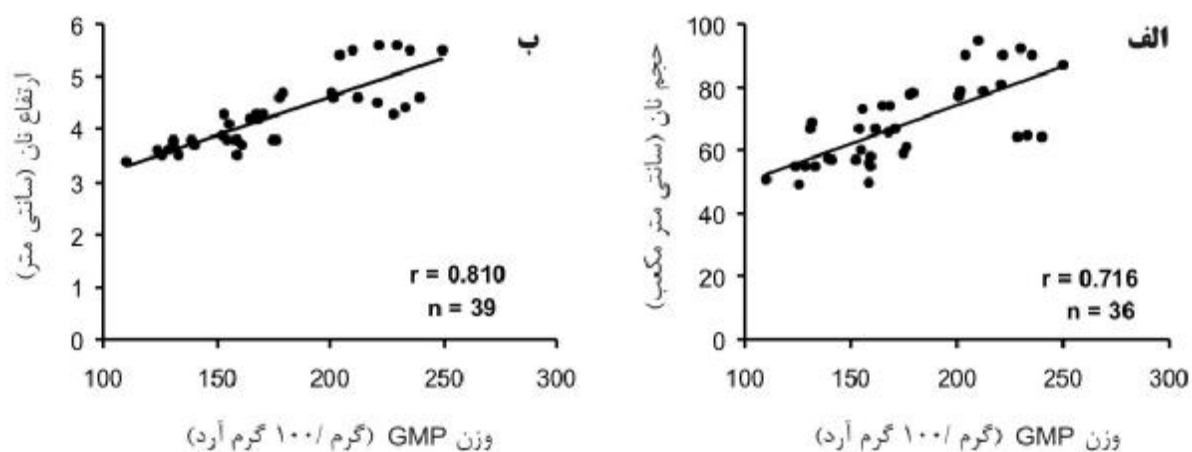
در نهایت با توجه به نتایج به دست آمده میکروتیوپ جنس پلاستیکی محکم (ساخت آلمان)، دور سانتریفیوژ ۴۰/۰۰۰ g × و زمان ۵۵ دقیقه به عنوان مشخصه‌های بهینه سانتریفیوژ کردن انتخاب شدند.

اثر دمای سانتریفیوژ، غلظت محلول SDS و نسبت حلال به آرد مورد بررسی قرار نگرفت، زیرا این

جدول 2- نتایج اندازه گیری ارتفاع و حجم نان برای ارقام گندم مورد مطالعه\*

ارقام گندم	ارتفاع نان (سانتی متر)	حجم نان (میلی لیتر)
سرداری	3/8 <sup>fg**</sup>	57/5 <sup>ef</sup>
الموت	3/6 <sup>gh</sup>	55/0 <sup>f</sup>
شیرودی	4/2 <sup>e</sup>	73/7 <sup>c</sup>
دز	3/8 <sup>f</sup>	60/0 <sup>e</sup>
هامون	3/5 <sup>h</sup>	50/0 <sup>g</sup>
آذر 2	3/7 <sup>fg</sup>	67/7 <sup>d</sup>
مرودشت	3/8 <sup>f</sup>	56/0 <sup>ef</sup>
داراب 2	4/3 <sup>cd</sup>	64/3 <sup>d</sup>
زرین	4/6 <sup>bc</sup>	79/7 <sup>b</sup>
بزوستایا	5/6 <sup>a</sup>	90/7 <sup>a</sup>
اینیا	5/5 <sup>a</sup>	90/7 <sup>a</sup>
پیشناز	4/3 <sup>de</sup>	66/7 <sup>d</sup>
تجن	4/7 <sup>b</sup>	77/5 <sup>bc</sup>

\* داده های جدول میانگین سه تکرار هستند. \*\* در سطح 5% آماری با آزمون توکی



شکل 1- نمودار های همبستگی بین وزن مرطوب ژل GMP با حجم نان (الف) و ارتفاع نان (ب)

به عنوان شاخص کیفی مهم قادر به تفکیک و دسته بندی  
واریته های مختلف گندم می باشد. همچنین همبستگی  
معنی دار قوی بین وزن مرطوب ژل GMP با خواص  
نانوائی گندم (حجم و ارتفاع نان) به دست آمد. در این

### نتیجه گیری کلی

در این مطالعه معلوم گردید که وزن مرطوب GMP  
بر خلاف اندازه گیری مقدار پروتئین کل (روش کجداال)



### تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله از دانشگاه تبریز به جهت حمایت مالی برای انجام این تحقیق تشکر می‌نمایند. مراتب سپاس و تشکر از جناب آقای مهندس کاووس رشمه کریم (آزمایشگاه تکنولوژی غلات مؤسسه اصلاح بذر و تهیه نهال کرج، وزارت جهاد کشاورزی) به جهت کمک در تهیه نمونه‌های گندم و آرد برای این پژوهش اعلام می‌گردد. همچنین از آقایان مهندس امیرمنصور وطن خواه (مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز) و دکتر سیدعباس رأفت (عضو هیأت علمی گروه علوم دامی دانشگاه تبریز) به جهت راهنمایی‌ها و کمک‌های ارزنده شان در مراحل انجام پژوهش تشکر و سپاسگزاری می‌گردد. از حمایت و همفکری آقایان دکتر جواد حصار و دکتر صدیف آزادمرد دمیرچی (اعضاء هیأت علمی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تبریز) در به ثمر رسیدن این تحقیق صمیمانه قدردانی می‌گردد.

مطالعه اصلاحات به عمل آمده در روش متداول استخراج ژل GMP نشان داد که روش اصلاح شده همانند روش متداول قبلاً گزارش شده توسط خراولند (1980) قادر به تفکیک و درجه بندی کیفی گندم‌ها بوده و همبستگی وزن مرطوب ژل GMP حاصله از روش مزبور با خصوصیات نانوائی بالا می‌باشد، که نشانه کارآمد بودن روش پیشنهادی در این مطالعه می‌باشد. از مزایای روش اصلاح شده می‌توان استفاده از سانتریفیوژ معمولی به جای دستگاه اولترا سانتریفیوژ، استفاده از میکروتیوپ‌های پلاستیکی به جای تیوپ‌های پلی‌کربناته (که معمولاً در کشور ما نایاب هستند)، استفاده از مقادیر بسیار کم نمونه آرد (که در مطالعات ژنتیکی و اصلاح گندم که دسترسی به نمونه‌های بیشتر آرد مقدور نیست یک مزیت به شمار می‌رود)، و در نهایت بررسی کیفیت نانوائی 12 نمونه گندم در دو تکرار در طی یک ساعت و قابلیت تکرار پذیری بالای روش را اشاره نمود.

### منابع مورد استفاده

- AACC, 2005. AACC Approved Methods AACC, American Association of Cereal Chemists, Inc, St. Paul, Minnesota, USA.
- Axford DW, Mcdermott EE, Redman DG, 1978. Small-scale tests of breadmaking quality. Milling Feed and Fertilizer, 161: 18-20.
- Bean SR, Lyne RK, Tilley KA, Chung OK, Lookhart GL, 1998. A rapid method for quantitation of insoluble polymeric proteins in flour. Cereal Chemistry, 75: 374-379.
- Don C, Lichtendonk WJ, Plijter JJ, Hamer RJ, 2003. Glutenin macro-polymer: a gel formed by glutenin particles. Journal of Cereal Science, 37: 1-7.
- Graveland A, 1980. Extraction of wheat proteins with sodium dodecyl sulphate. Annual Technology Agriculture, 29: 113-123.
- Lafiandra D, Ovidio R, Porcedu E, Margiotta B, Colaprico G, 1993. New data supporting high Mr glutenin subunit 5 as the determinant of quality differences among the pairs 5+10 vs. 2 +12. Journal of Cereal Science, 18: 197-205.
- Matsoukas NP, Morrison WR, 1991. Breadmaking quality of ten Greek bread wheats. II. relationships of protein, lipid and starch components to baking quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 55: 87-101.

- Moonen JHE, Scheepstra A, Graveland A, 1982. Use of the SDSsedimentation test and SDS-polyacrylamide gel electrophoresis for screening breeder's samples of wheat for bread-making quality. *Euphytica*, 31: 677-690.
- Payne PI, Nightingale MA, Krattiger AF, Holt LM, 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the breadmaking quality of British-grown wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 40: 51-65.
- Peighambardoust SH, van der Goot AJ, Hamer RJ, Boom RM, 2005. Effect of simple shear on the physical properties of Glutenin Macro Polymer (GMP). *Journal of Cereal Science*, 42: 59-68.
- Popineau Y, Cornec M, Lefebvre J, Marchylo B, 1994. Influence of high Mr glutenin subunits on glutenin polymers and rheological properties of glens and gluten subfractions of near-isogenic lines of wheat Sicco. *Journal of Cereal Science*, 19: 231-241.
- Pritchard PE, 1993. The glutenin fraction (gel-protein) of wheat protein - a new tool in the prediction of baking quality. *Aspects of Applied Biology*, 36: 75-84.
- Sapirstein HD, Suchy J, 1999. SDS protein gel test for prediction of bread loaf volume. *Cereal Chemistry*, 76: 64-72.
- Singh NK, Donovan R, MacRitchie F, 1990. Use of sonication and size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins. II. Relative quantity of glutenin as a measure of breadmaking quality. *Cereal Chemistry*, 67: 161-170.
- Uthayakumaran S, Gras PW, Stoddard FL, Bekes F, 1999. Effect of varying protein content and glutenin-to-gliadin ratio on the functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry*, 76: 389-395.
- Weegels PL, Flissebaalje T, Hamer RJ, 1994. Factors affecting the extractability of the glutenin macropolymer. *Cereal Chemistry*, 71: 308-309.
- Weegels PL, Van de Pijpekamp AM, Graveland A, Hamer RJ, Schofield JD, 1996. Depolymerisation and repolymerisation of wheat gluten during dough processing. I. Relationships between GMP content and quality parameters. *Journal of Cereal Science*, 23: 103-111.
- Weegels PL, Hamer RJ, Schofield JD, 1997. Depolymerisation and re-polymerisation of wheat glutenin during dough processing. II. Changes in composition. *Journal of Cereal Science*, 25: 155-163.
- Williams PC, Sobering DC, 1993. Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 1: 25-32.