مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی/جلد ۱۶/ شماره ۲/سال ۱۳۹٤/ص ۷۰-٦۱

بررسی تأثیر ساختار آمیلوز و آمیلوپکتین بر کیفیت ارقام مختلف برنج ایرانی

فاطمه حبیبی* و آسیه یحیی‌زاده**

* نگارنده مسئول: موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران. ص. پ. ۱۶۵۸، تلفن:۳۳۶۹۰۰۵۱(۰۱۳)، پیامنگار: fhabibikia@yahoo.com

** به ترتیب: استادیار موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی؛ و دانشیار دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۲۰

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر نوع و ساختار اجزای نشاسته بر کیفیت پخت ارقام مختلف برنج ایرانی است. شش رقم متداول برنج ایرانی شامل: طارم، دم‌سیاه، سالاری، حسن سرائی، دم‌زرد و دم‌سفید پس از برداشت، خشک شدن و تنظیم رطوبت، سفید شدند. برنج سفید و آرد حاصل از این ارقام در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی شد. ابتدا خصوصیات نشاسته شامل میزان آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن و قوام ژل اندازه‌گیری شد. خصوصیات ساختمان پلیمری آمیلوز و آمیلوپکتین با دستگاه‌های الکتروفورز مویینه و کروماتوگرافی بر اساس اندازه بررسی شد. این ارقام از نظر میزان آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن و قوام ژل تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند اما از نظر مقادیر آمیلوز و آمیلوپکتین انحلال‌پذیر در آب داغ، درجهٔ پلیمری شدن آمیلوز و آمیلوپکتین، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان دادند. با بررسی ساختار نشاسته با روش کروماتوگرافی بر اساس اندازه، مشخص شد که در ارقام حسن سرائی، طارم و دم‌سیاه، میزان آمیلوز انحلال‌پذیر در آب داغ کمتر است تا در ارقام دم‌سفید و سالاری. در این تحقیق ساختار آمیلوپکتین پس از هیدرولیز شدن با آنزیم ایزو آمیلاز و آمیناسیون شاخه‌های هیدرولیز شده، از نظر درجهٔ پلیمری شدن و میزان انتشار طول زنجیر با دستگاه الکتروفورز مویینه بررسی شد. ارقام مورد بررسی از نظر زنجیرهای A، B1، B2 و B3 و زنجیرهای بلندتر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد دارند. با استفاده از نتایج الکتروفورز مویین مشخص شد که در رقم‌های خوش کیفیت‌تر مانند دمسیاه زنجیرهای کوتاه (A) با درجهٔ پلیمری شدن کمتر، بیشتر است. از نظر زنجیرهای B1 و B2 تفاوت زیادی بین رقم‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. بیشترین تفاوت مربوط به زنجیرهای کوتاه A و زنجیرهای B3 و بلند است. بنابراین، جهت بررسی‌های دقیق‌تر و دستیابی به دیدگاه‌های جدید در ارزیابی کیفیت، باید به تفاوت‌های ساختمانی پلیمرهای تشکیل‌دهندهٔ ارقام نیز توجه شود.

واژه‌های کلیدی

آمیلوپکتین، آمیلوز، برنج، کیفیت، نشاسته

مقدمه

در جهان و خصوصاً درکشورهای آسیایی برنج منبع مهمی از انرژی و پروتئین محسوب می‌شود. کیفیت پخت و خوراک در برنج تا حدود زیادی بستگی به نشاسته دارد که درحدود ۹۰ درصد وزن دانه برنج را تشکیل می‌دهد (Sasaki *et al.*, 2000). نشاستهٔ برنج متشکل از دو جزء آمیلوز و آمیلوپکتین است مولکول‌های گلوکز در پلیمر آمیلوز به صورت خطی و با پیوندهای گلیکوزیدی (α →۱-۴) با یکدیگر مرتبطاند درحالی که در پلیمر آمیلو پکتین منشعب‌اند و پیوندهای گلیکوزیدی (α →۱-۴) و (α →۱-۶) دارند (Ward *et al.*, 2006). بیشترین خواص مربوط به نشاسته، خواص پخت و ژلاتینی

شدن آن است که گرانول‌های نشاسته با جذب آب هیدراته و پراکنده می‌شوند (Leelayuthsoontorn & Thipayarat, 2006). دمای ژلاتینی شدن، نظم ساختاری پلیمری نشاسته را نشان می‌دهد و در واقع نشان‌دهندهٔ میزان ساختار کریستالی یا بی شکل بودن آن است (Vandeputte *et al.*, 2003) و با درجهٔ تبلور نشاسته و تعداد زنجیرهای شاخه‌ای آمیلوپکتین برنج ارتباط دارد. در مطالعات اخیر علاوه بر میزان آمیلوز سایر خصوصیات نشاستهٔ مرتبط با ساختمان آن مثل نسبت آمیلوز به آمیلوپکتین، درجهٔ پلیمری شدن، انتشار طول زنجیر و میزان انشعاب گلوکز به عنوان عوامل تأثیرگذار بر کیفیت پخت بررسی می‌شوند (Witec, 2010). ترکیبات کربو هیدرات فاقد گروه‌های عاملی هستند که جهت تشخیص توسط دستگاه‌های تجزیه‌ای مورد نیاز است و بدین خاطر آمیناسیون کاهشی به طور وسیعی جهت رفع این محدودیت‌ها کاربرد دارد (Chiou *et al.*, 2005) به طوری‌که با کاهش قسمت‌های انتهایی این ترکیبات، یک فلوئوفور یا کروموفور تشکیل می‌شود و اجازه می‌دهد پایهٔ جرمی قسمتی از مولکول تعیین شود. در واقع با آمیناسیون کربوهیدرات‌ها، امکان جداسازی و شناسایی این ترکیبات با روش‌های الکتروفورتیک راحت‌تر می‌شود. گروهی از آمین‌های نوع اول برای چنین منظوری به‌کار می‌روند و در تحقیقات اخیر از تعدادی از ترکیبات پلی سولفونیک اسید و ترکیبات آروماتیک تک آمین مثل ۸-آمینو-۱، ۳، ۶- نفتالن تری سولفونیک اسید و غیره استفاده شده است. با استفاده از این ترکیبات و به کمک تکنیک الکتروفورز مویینه و کروماتوگرافی بر اساس اندازه می‌توان ترکیباتی نظیر ماکرو مولکول‌ها، بیو مولکول‌ها و پلیمرهایی مانند پلی ساکاریدها و پروتئین‌ها را بررسی کرد (Vilaplana & Gilbert., 2010). انتشار زنجیرهای متفاوت از نظر اندازه و درجهٔ پلیمری شدن در یک پلیمر نگرش جدیدی جهت ارزیابی ساختار نشاسته در ارقام مختلف برنج ارائه می‌دهد. به کمک این روش می‌توان دریافت چگونه آمیلو پکتین نیز می‌تواند در کنار آمیلوز بر کیفیت پخت و خوراک تأثیرگذار باشد.

هدف از این تحقیق ارزیابی ساختار اجزای نشاسته در ارقام مختلف برنج ایرانی و بررسی ارتباط ساختار آمیلوز و آمیلوپکتین با کیفیت پخت است.

مواد و روش‌ها

شش رقم از ارقام محلی برنج ایرانی شامل: طارم، دم‌سیاه، سالاری، حسن سرائی، دم‌زرد و دم‌سفید انتخاب و پس از برداشت، خشک شدن در آون (دمای ۴۰ درجه سلسیوس) و تنظیم رطوبت (۱۴-۱۲ درصد) سفید شدند. برنج سفید و آرد حاصل از این ارقام مورد مطالعه قرار گرفت. ابتدا خصوصیات شیمیایی نشاسته که می‌توانند بر خصوصیات کیفی تأثیرگذار باشند شامل میزان آمیلوز با روش کالرومتریک (یا جولیانو) (Juliano, 1971)، نمرهٔ ژلاتینی شدن با تعیین میزان هضم دانه در محیط قلیایی (Little *et al.*, 1958) و قوام ژل به روش کاگامپانگ (Cagampang, 1973) اندازه‌گیری شد. در تعیین میزان آمیلوز به روش جولیانو، از روش کالرومتریک و دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر استفاده شد. در واقع پلیمر آمیلوز با ید کمپلکس ید - نشاسته آبی رنگ ایجاد می‌کند که پس از اندازه‌گیری جذب و استفاده از منحنی استاندارد، می‌توان میزان آمیلوز را تعیین کرد. در تعیین نمرهٔ ژلاتینی شدن به روش لیتل، تغییرات دانه برنج در محیط قلیایی رقیق (پتاس ۱/۷ درصد) تحت دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۳ ساعت ارزیابی و نمره‌دهی شد. اندازه‌گیری قوام ژل بر پایهٔ قوام آرد برنج سفید در محلول پتاس ۰/۲ نرمال و نشان دهندهٔ میزان حرکت ژل برنج پخته است. قوام ژل با اندازه‌گیری طول حرکت ژل در صفحهٔ افقی به مدت ۰/۵ تا ۱ ساعت بر اساس واحد میلی‌متر تعیین شد. برای تمایز ارقام مورد

بررسی از نقطه نظر عوامل تعیین کنندهٔ کیفیت پخت معیارهایی مانند طول و عرض دانهٔ پخته شده، میزان ری آمدن (نسبت طول دانهٔ پخته به خام) و نسبت انبساط حجمی (نسبت حجم برنج پخته به خام) اندازه‌گیری شد (Singh, 2005).

خصوصیات ساختمان پلیمری آمیلوز و آمیلوپکتین با دستگاه‌های الکتروفورز مویینه[1] (Beckman-Coulter, Fullerton) و کروماتوگرافی بر اساس اندازه[2] (Waters index detector 2414 Refractive 9616 Alliance) بررسی شد. مواد شیمیایی مورد نیاز برای روش‌های کروماتوگرافی از شرکت سیگما خریداری شد. در کروماتوگرافی بر اساس اندازه، ابتدا نشاسته ارقام مورد نظر به صورت دو جزء قابل حل در آب داغ[3] و غیر قابل حل در آب داغ[4] (۱۰۰ درجه سلسیوس)، تفکیک و پس از آن از آنزیم ایزو آمیلاز جهت هیدرولیز شاخه‌های پلیمری نشاسته در بافر سدیم استات استفاده شد. پس از غیرفعال‌سازی آنزیم، ۴۰ میکرولیتر از محلول شاخه‌زدایی شده به ستون دستگاه کروماتوگرافی بر اساس اندازه تزریق گردید و بر اساس تفاوت وزن مولکولی زنجیرهای پلیمری، اجزای آمیلوز و آمیلو پکتین از یکدیگر جدا شدند. درالکتروفورز مویینه جهت تهیهٔ محلول شاهد، به نشانگر مالتوز خشک شده در شرایط خلأ ترکیب ۸-آمینو پیرن-۱، ۳، ۶- تری سولفونیک اسید و سدیم سیانو بورو هیدرید اضافه و به خوبی هم زده شد. پس از قرار دادن در حمام آب جوش، اوره ۶ مولار به ترکیب اضافه و سانتریفوژ گردید و به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

پس از آماده‌سازی نمونه همانند شاهد، ساختمان آمیلوپکتین با الکتروفورز مویینه ارزیابی شد. در این تحقیق به کمک آنزیم ایزو آمیلاز، شاخه‌های پلیمری آمیلوپکتین از یکدیگر جدا و پس از آمیناسیون به کمک ۸-آمینو پیرن ۱،۳،۶- تری سولفونیک اسید (APTS)، تک تک زنجیرها از نظر درجهٔ پلیمری شدن و میزان انتشار طول زنجیر با دستگاه الکتروفورز مویینه بررسی شدند.

تجزیهٔ واریانس نمونه‌ها در یک طرح کاملاً تصادفی، مقایسهٔ میانگین‌ها با روش توکی، و تجزیهٔ آماری با نرم‌افزار SAS در سطح اطمینان ۵ درصد و در ۳ تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

آگاهی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی، در درک بهتر کیفیت پخت ارقام مختلف برنج بسیار کمک کننده است. سه معیار مهم مورد استفاده در ارزیابی‌های کیفی برای تعیین کیفیت پخت عبارت‌اند از: درصد آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن، و قوام ژل. مهمترین خصوصیت شیمیایی که در پیش‌بینی خواص پخت به‌کار می‌رود، میزان آمیلوز است که با خواص ژلاتینی شدن و چسبندگی دانه پس از پخت ارتباط دارد. دانه‌های برنج پخته شده با آمیلوز بالا (۳۳-۲۵ درصد) نسبتاً خشک و جدا از هم هستند. برنج با آمیلوز پایین (۲۰-۱۰درصد) در هنگام پخت چسبنده است. برنج با آمیلوز متوسط (۲۵-۲۰ درصد) تا مدت‌ها پس از پخت نرم باقی می‌ماند و مصرف کنندگان ایرانی، بیشتر برنج‌هایی با آمیلوز متوسط را ترجیح می‌دهند (Salehi, 1989). در ارتباط با نمرهٔ ژلاتینی شدن و قوام ژل نیز بیشتر مصرف کنندگان ایرانی محدودهٔ متوسط را می‌پذیرند (نمرهٔ ۵-۳ برای ژلاتینی شدن و ۶۰-۴۰ میلی‌متر برای قوام ژل). هرچند سه معیار درصد آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن، و قوام ژل از مهمترین عوامل تعیین کنندهٔ کیفیت پخت در ارقام برنج هستند گاهی ارقام مشابه از نظر این سه معیار، کیفیت پخت متفاوتی را نشان می‌دهند. در جدول ۱ خصوصیات شیمیایی این سه فاکتور در ارقام مورد بررسی آورده شده است. مقایسهٔ میانگین‌ها به روش توکی صورت گرفته کلیهٔ ارقام مورد بررسی از نظر هر سه معیار میزان آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن و قوام ژل در محدودهٔ متوسط هستند.

1- Capillary Electrophoresis
2- Size Exclusion Chromatography
3- Hot Water Soluble
4- Hot Water Insoluble

جدول ۱- مقادیر میانگین و انحراف معیار خصوصیات فیزیکو شیمیایی ارقام محلی ایرانی

	طارم	دم‌سیاه	سالاری	حسن سرائی	دم‌زرد	دم‌سفید
میزان آمیلوز(درصد)	۲۲/۷۰±۰/۴۳	۲۲/۶۰±۰/۳۲	۲۲/۸۷±۰/۲۶	۲۲/۷۳±۰/۳۶	۲۱/۴۰±۰/۲۶	۲۳/۶۵±۰/۶۲
نمرهٔ ژلاتینی شدن	۴/۴۶±۰/۰۸	۴/۷۶±۰/۱۱	۴/۳۶±۰/۰۵	۴/۴۰±۰/۰۵	۴/۵۰±۰/۱۰	۴/۳۳±۰/۰۹
طول حرکت ژل (میلی‌متر)	۵۲±۲/۵۰	۶۰±۲/۸۰	۴۶±۲/۸۰	۵۳±۲/۶۴	۵۶±۲/۶۰	۵۳±۲/۸۰

در جدول ۲ تجزیهٔ واریانس میزان آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن، قوام ژل به عنوان عوامل اصلی تعیین کنندهٔ کیفیت پخت آورده شده است.

جدول ۲- تجزیهٔ واریانس میزان آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن و قوام ژل

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	درصد آمیلوز	نمرهٔ ژلاتینی شدن	قوام ژل
تیمار	۵	۰/۵۲۱^{ns}	۰/۰۲۱^{ns}	۷۲/۶^{ns}
خطا	۱۲	۰/۱۶۰	۰/۰۰۷۰	۷/۳۳
ضریب تغییرات		۱/۷۸	۱/۸۷	۵/۰۳

ns: نبود اختلاف معنی‌دار

در جدول ۲ مشخص است که ارقام مورد مطالعه از نظر سه فاکتور تعیین کنندهٔ کیفیت پخت، به عنوان آزمون‌های معمول آزمایشگاه کنترل کیفیت برنج، یکسان هستند و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نمی‌شود. از نظر معیارهای مربوط به پخت نمونه‌ها (طول و عرض دانهٔ پخته شده، میزان ری آمدن و انبساط حجمی)، در ارقام مورد مطالعه تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود که نتایج مربوط به داده‌های کمی پخت در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳- مقادیر میانگین و انحراف معیار داده‌های کمی حاصل از پخت ارقام

صفات	ارقام آزمایش					
	طارم	دم سیاه	سالاری	حسن سرائی	دم‌زرد	دم‌سفید
طول دانهٔ پخته	۱۳/۴۷±۰/۰۶	۱۲/۲۷±۰/۱۳	۱۳/۰۰±۰/۲۰	۱۱/۲۷±۰/۱۲	۱۱/۶۰±۰/۰۷	۱۰/۶±۰/۱۲
عرض دانهٔ پخته	۲/۳۳±۰/۰۳	۲/۲۳±۰/۰۲	۲/۶۶±۰/۰۵	۲/۳۳±۰/۰۲	۳/۴۰±۰/۰۶	۳/۰۰±۰/۰۵
ری آمدن	۱/۷۹±۰/۰۱	۱/۷۸±۰/۰۱	۱/۷۵±۰/۰۲	۱/۷۴±۰/۰۳	۱/۶۶±۰/۰۳	۱/۶۰±۰/۰۱
انبساط حجمی	۴/۰۸±۰/۰۵	۳/۷۱±۰/۰۴	۳/۵۰±۰/۰۳	۳/۶۶±۰/۰۴	۳/۵۰±۰/۰۳	۳/۳۰±۰/۰۷

طول دانهٔ پخته از لحاظ کیفی معیاری است مثبت و با میزان ری آمدن، که حاصل نسبت طول دانهٔ پخته به طول دانهٔ خام است، ارتباط مستقیم دارد. دانه‌هایی که در هنگام پخت انبساط عرضی دارند از نظر ذائقه مصرف‌کننده پذیرفته نیست به طوری‌که ارقام مقبول و محبوب مانند رقم دم‌سیاه، در مقایسه با سایر ارقام، دارای عرض دانهٔ پخته کمتری است (جدول ۳). رقم طارم و دم‌سیاه، پس از پخت نسبت به سایر ارقام انبساط حجمی بالاتری دارند که می‌تواند ویژگی مثبتی از لحاظ کیفیت پخت در نظر گرفته شود. با توجه به تفاوت‌های مشاهده شده در نحوهٔ پخت این ارقام، ساختار نشاسته با روش‌های کروماتوگرافی بررسی شده است.

بررسی ساختار کربو هیدرات‌ها از عوامل مهم در توضیح خواص این ترکیبات است (Syahariza *et al.*, 2013). برای بررسی ساختار نشاسته در ارقام مختلف برنج‌های ایرانی و ارتباط این ساختار با خواص کیفی، از روش کروماتوگرافی بر اساس اندازه استفاده شد. پیش از آن، به کمک آنزیم ایزو آمیلاز زنجیرهای بلند گلوکزی آمیلوز و آمیلوپکتین به زنجیرهای کوچکتر تبدیل شد. شکسته شدن یا هیدرولیز می‌تواند بر اثر اسید یا آنزیم انجام شود. با توجه به اینکه آنزیم تخریب کمتری بر ساختار نشاسته اعمال می‌کند در این تحقیق از آنزیم ایزو آمیلاز برای هیدرولیز شاخه‌های گلوکزی در دو پلیمر آمیلوز وآمیلوپکتین استفاده شد. مشخص شد که پس از شاخه‌زدایی اجزای نشاسته برنج بر اثر آنزیم، اجزای آمیلوز و آمیلوپکتین از یکدیگر جدا می‌شوند به طوری‌که زنجیرهای بلند از پلیمر آمیلوز هستند و زنجیرهای کوتاه و منشعب از پلیمر آمیلوپکتین (Chiou *et al.*, 2005). در جدول ۴ نتایج تجزیهٔ واریانس پارامترهای مرتبط با بررسی ساختار نشاسته با کروماتوگرافی بر اساس اندازه، آورده شده است.

جدول ٤- تجزیهٔ واریانس پارامترهای مرتبط با بررسی ساختار نشاسته با کروماتوگرافی بر اساس اندازه

منابع تغییرات	آمیلوز انحلال پذیر در آب داغ	آمیلوزپکتین انحلال پذیر در آب داغ	درجهٔ پلیمری شدن آمیلوز	درجهٔ پلیمری شدن آمیلوپکتین
تیمار	۱۸۳/۲۵**	۱۱۹/۸۸**	۸۶۴۳۲۳**	۶۶/۰۸**
خطا	۰/۰۸۲	۰/۱۴	۱۸/۲۷	۰/۵۵
ضریب تغییرات	۰/۸۶	۰/۹۶	۰/۱۱۶	۲/۵۵

** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

از مزایای کروماتوگرافی براساس اندازه این است که در این روش به خوبی می‌توان زنجیرهای بلند آمیلوز را از زنجیرهای کوتاه و منشعب آمیلوپکتین تشخیص داد. با استفاده از منحنی استاندارد، زمان بازداری را می‌توان به درجهٔ پلیمری شدن تبدیل کرد و مساحت هر قسمت اطلاعاتی راجع به وزن مولکولی آن پلیمر ارائه می‌دهد (Vilaplana & Gilbert, 2011).

در جدول ۵ مقایسهٔ میانگین معیارهای به دست آمده از روش کروماتوگرافی بر اساس اندازه آورده شده است. در این جدول مشخص است که ارقام مورد بررسی از نظر میزان آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن و قوام ژل تفاوت معنی‌داری با هم ندارند اما از نظر معیارهای آمیلوز انحلال‌پذیر در آب داغ، آمیلوزپکتین انحلال‌پذیر در آب داغ، درجهٔ پلیمری شدن، آمیلوز و درجهٔ پلیمری شدن آمیلوپکتین، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان می‌دهند.

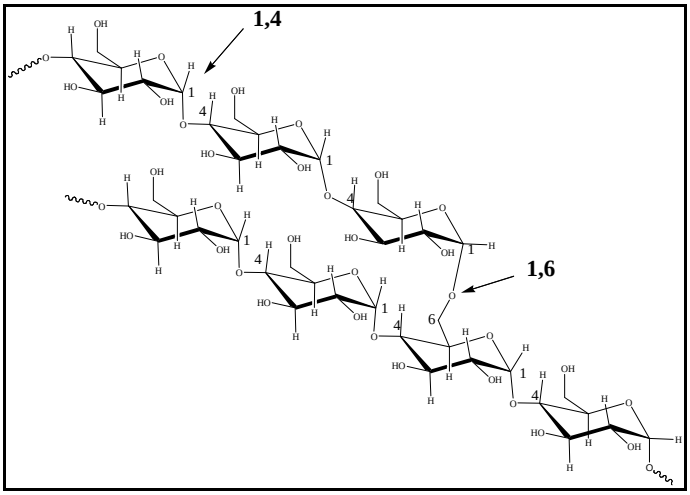
جدول ٥- انتشار وزن مولکولی پلیمر نشاسته در ارقام برنج ایرانی اندازه‌گیری شده با کروماتوگرافی بر اساس اندازه

	طارم	دم سیاه	سالاری	حسن سرائی	دم‌زرد	دم‌سفید
آمیلوز انحلال‌پذیر در آب داغ (درصد)	۲۶/۹۰d	۲۹/۴۷c	۴۲/۷۴a	۲۵/۵۶d	۳۱/۹۷b	۴۲/۹۹a
آمیلوپکتین انحلال‌پذیر در آب داغ (درصد)	۴۶/۲۸b	۳۸/۲۴d	۳۰/۷۸f	۴۷/۴۹a	۴۲/۱۳c	۳۵/۹۲e
درجهٔ پلیمری شدن آمیلوز	۳۸۵۴b	۳۷۶۵c	۳۹۴۵a	۳۹۴۵a	۳۹۴۵a	۲۵۸۲d
درجهٔ پلیمری شدن آمیلوپکتین	۳۱a	۳۱a	۳۱a	۳۰a	۳۰a	۱۹b

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

در کروماتوگرافی بر اساس اندازه، امکان بررسی تک‌تک زنجیرهای پلیمری وجود ندارد اما هر دو جزء آمیلوز و آمیلوپکتین را می‌توان بر اساس درجهٔ پلیمری شدن و اجزای قابل حل و غیر قابل حل در آب داغ مقایسه و بررسی کرد (Cuevas *et al.*, 2010a). آمیلوز جزئی از نشاسته و مهمترین فاکتور مؤثر بر کیفیت پخت و خوراک است و تاکنون بیشتر بررسی‌ها در زمینهٔ آمیلوز، بر اساس میزان این فاکتور در ارقام مختلف بوده است و هرچه مقدار آن در برنج بیشتر باشد آن برنج پس از پخت خشک‌تر می‌شود. با بررسی ساختار نشاسته با روش کروماتوگرافی بر اساس اندازه مشخص شد که رقم حسن سرائی کمترین (۲۵/۵۶) و دم‌سفید بیشترین (۴۲/۹۹) درصد آمیلوز انحلال‌پذیر در آب داغ را دارند و رقم‌های طارم (۲۶/۹۰ درصد)، دم‌سیاه (۲۹/۴۷ درصد) و سالاری (۴۲/۷۴ درصد) بین این دو رقم هستند. از نظر درجهٔ پلیمری شدن آمیلوپکتین ارقام طارم، دم سیاه، سالاری، حسن سرائی و دم‌زرد در یک گروه (a) قرار گرفته‌اند و فقط رقم دم‌سفید در گروهی مجزا (b) قرار دارد. در ارتباط با درجهٔ پلیمری شدن شاخه‌های آمیلوز، بعد از رقم دم‌سفید کوتاه‌ترین زنجیرها مربوط به ارقام دم سیاه و طارم است که از ارقام محبوب به شمار می‌آیند. آمیلوپکتین نیز پلیمری از نشاسته است که مولکول‌های گلوکز به صورت منشعب به یکدیگر اتصال یافته‌اند. زنجیرهای آمیلوپکتین را می‌توان به صورت زنجیرهای A با درجهٔ پلیمری شدن ۱۲-۶، زنجیرهای B1 با درجهٔ پلیمری شدن ۲۴-۱۳، زنجیرهای B2 با درجهٔ پلیمری شدن ۳۶-۲۵ و زنجیرهای B3 با درجهٔ پلیمری شدن ۶۰-۳۷ تقسیم‌بندی کرد (Richardson & Gorton, 2003). در ساختار مولکول نشاسته که متشکل از دو جزء آمیلوز و آمیلوپکتین است، بررسی میزان انتشار طول زنجیرهای گلوکز بسیار مفید است (Cuevas *et al.*, 2010b).

با توجه به کمبود گروه‌های عاملی در ساختار کربو هیدرات‌ها، برای بررسی ساختار آمیلوپکتین با روش‌های کروماتوگرافی، نیاز است که تغییراتی در ساختار آنها داده شود. در این تحقیق از یک آمین نوع اول برای آمیناسیون زنجیرهای گلوکزی حاصل از آمیلوپکتین پس از هیدرولیزآنزیمی استفاده شد. با شاخه‌زدایی آنزیمی آمیلوپکتین توسط آنزیم ایزو آمیلاز فقط پیوندهای (α →۱ -۶) شکسته می‌شوند و پیوندهای (α →۱-۴) دست نخورده باقی می‌مانند (Hernandez *et al*, 2008). در نتیجه، مخلوطی از زنجیرهایی با درجهٔ پلیمری شدن متفاوت حاصل می‌شود که با روش‌های کروماتوگرافی الکتروفورز مویین قابل ارزیابی هستند.



شکل ۱- ساختار مولکولی آمیلوپکتین (Wong *et al.*, 2003)

در جدول ۶ نتایج تجزیهٔ واریانس شاخه‌های پلیمری به دست آمده از روش الکتروفورز مویین آورده شده است. ارقام مورد بررسی از نظر زنجیرهای A، B1، B2 و B3 و زنجیرهای بلندتر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد دارند.

جدول ٦- تجزیهٔ واریانس پارامترهای مرتبط با بررسی ساختار نشاسته

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	زنجیرهای A ۱۲- ۶ درصد:DP	زنجیرهای B1 ۲۴-۱۳ درصد :DP	زنجیرهای B2 ۳۶-۲۵ درصد:DP	زنجیرهای ...+B3 ۶۰-۳۷ درصد :DP
تیمار	۵	۶/۵۷**	۱۱/۴۴**	۰/۷۹**	۲۳/۶۵**
خطا	۱۲	۰/۰۸۷	۰/۱۲۶	۰/۰۵۳	۰/۰۲۸
ضریب تغییرات		۱/۱۳۱	۰/۶۲	۲/۲۳	۲/۷۶

** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

در جدول ۷ مقایسهٔ میانگین زنجیرهای A، B1، B2 و B3 و زنجیرهای بلندتر آورده شده است. در نتایج حاصل از الکتروفورز مویینه، میزان انتشار طول زنجیر در رقم‌های مختلف متفاوت است. در این روش، کلیهٔ ارقام را از نظر ساختمان آمیلوپکتین و میزان انشعابات زنجیرهای گلوکزی می‌توان مقایسه کرد.

جدول ۷- انتشار طول زنجیر آمیلوپکتین در نشاسته ارقام برنج ایرانی بعد از شاخه‌زدایی با آنزیم ایزوآمیلاز

درجهٔ پلیمریزاسیون (درصد)	نوع زنجیر	طارم	دم سیاه	سالاری	حسن سرائی	دم‌زرد	دم سفید
۱۲-۶	A	۲۶/۰۱c	۲۸/۰۴a	۲۵/۸۴c	۲۵/۲۳c	۲۷/۹۸a	۲۴/۴۸d
۲۴-۱۳	B_1	۵۷/۲bc	۵۹/۱۹a	۵۷/۶۹bc	۵۷/۸۲b	۵۶/۸۷c	۵۲/۹۴d
۳۶-۲۵	B_2	۱۰/۹۳a	۹/۴۴b	۱۰/۷۹a	۱۰/۹۸a	۱۰/۳۱a	۱۰/۸۳a
۶۰-۳۷	$...+B_3$	۵/۸۶b	۳/۳۳d	۵/۶۸b	۵/۹۷b	۴/۸۴c	۱۱/۷۵a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

با استفاده از نتایج الکتروفورز مویین مشخص می‌شود که زنجیرهای کوتاه (A) با درجهٔ پلیمری شدن کمتر در ساختمان آمیلوپکتین رقم‌های خوش کیفیت‌تر مانند دم‌سیاه ایرانی که از نظر کیفیت پخت و خوراک در ایران شناخته شده است، نسبت به سایر رقم های محلی ایرانی، بیشتر است. رقم دم‌زرد نیز مانند رقم دم‌سیاه از نظر زنجیرهای A در گروه a قرار می‌گیرد اما با توجه به اینکه دارای عرض دانه پخته شده بیشتری است از نظر ارزیابی کیفی نمرهٔ پائین‌تر از طارم به آن داده شد. در هر رقم برنج هر چه زنجیرهای بلند آمیلوپکتین کمتر باشد رقم مورد نظر از نظر کیفیت پخت بهتر خواهد بود در واقع در رقمی با زنجیرهای بلندتر از آمیلوپکتین میزان پیوند هیدروژنی بین زنجیرها بیشتر است و به خاطر استحکام بیشتر برنج پخته شده خشک‌تر خواهد بود (Witt *et al.*, 2012). رقم دم‌سیاه زنجیرهای بلند ۳/۳۲ درصد از کل زنجیرها را دارد بدین علت از نظر کیفیت پخت و نرم بودن پس از پخت از بقیهٔ رقم‌های مورد بررسی وضعیت بهتری دارد. از نظر زنجیرهای B1 رقم دم‌سیاه در گروه a و رقم دم‌سفید در گروه d طبقه‌بندی شده‌اند. در ارتباط با زنجیرهای B2 تفاوت

بارزی بین ارقام مورد بررسی مشاهده نمی‌شود. بیشترین تفاوت مربوط به زنجیرهای کوتاه A و زنجیرهای B3 و بلند است.

نتیجه‌گیری

میزان آمیلوز، نمرهٔ ژلاتینی شدن، و قوام ژل از معیارهای مهم در ارزیابی‌های کیفیت برنج مورد توجه هستند اما برای بررسی‌های دقیق‌تر و خصوصاً مقایسهٔ کیفیت ارقام درحال معرفی با ارقام شناخته شده و با کیفیت، بهتر است تفاوت‌های موجود در ارقام از نظر ساختمان پلیمرهای تشکیل دهندهٔ آن نیز ارزیابی شوند. عواملی مانند انحلال زنجیرهای آمیلوز در آب داغ، درجهٔ پلیمری شدن آمیلوز، میزان انتشار طول زنجیرهای آمیلوپکتین در ارقام مختلف، از عوامل تأثیرگذار بر کیفیت پخت می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. در ارزیابی ساختار نشاسته با روش کروماتوگرافی بر اساس اندازه، داده‌های مربوط به میزان انحلال‌پذیری آمیلوز در آب داغ و همچنین درجهٔ پلیمری شدن آمیلوز در توجیه تفاوت‌های مشاهده شده در حین پخت کمک کننده است. در ارقام مورد مطالعه هرچند میزان آمیلوز در رقم‌های مورد بررسی مشابه است اما تعداد واحدهای گلوکز یا درجهٔ پلیمری شدن و وزن مولکولی آمیلوز حل شده در آب داغ در ژنوتیپ‌های مختلف برنج متفاوت است و با بررسی این تفاوت‌ها می‌توان خواص گوناگون آنها را توجیه کرد. با توجه به اینکه ارقام دم سیاه و طارم از نظر محبوبیت در کیفیت پخت و خوراک از نظر ذائقه مصرف کننده شناخته شده اند، از الگوی مربوط به ساختار آمیلوز و آمیلوپکتین این رقم در بررسی‌های کیفی می‌توان استفاده کرد.

قدردانی

از موسسهٔ تحقیقات برنج کشور و موسسهٔ بین المللی تحقیقات برنج در فیلیپین به خاطر حمایت و فراهم آوردن امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی سپاسگزاری می‌شود.

مراجع

Cagampang, G. B. 1973. A gel consistency test for eating quality of rice. J. Sci. Food and Agric. 24(12):1589-94.

Chiou. H., Fellows, C. M., Gilbert, R. G. and Fitzgerald, M. A. 2005. Study of rice-starch structure by dynamic light scattering in aqueous solution. Carbohydr. Polym. 61, 61-71.

Cuevas, R. P., Gilbert, R. G. and Fitzgerald, M. A. 2010a. Structural differences between hot-water-soluble and hot-water insoluble fractions of starch in waxy rice (*Oryza sativa* L.). Carbohydr. Polym. 81, 524-532.

Cuevas, R. P., Daygon, V. D., Morell, M. K., Gilbert, R. G. and Fitzgerald, M. A. 2010b. Using chain-length distributions to diagnose genetic diversity in starch biosynthesis. Carbohydr. Polym. 81, 120-127.

Hernandez, J. M., Gaborieau, M., Castignolles, P., Gidley, M. J., Myers, A. M. and Gilbert, R. G. 2008. Mechanistic investigation of a starch branching enzyme using hydrodynamic volume SEC analysis. Biomacromolecules. 9, 954-965.

Juliano, B. O. 1971. Simplified assay for milled-rice amylose. Cereal Sci. Today. 16, 334-338, 340, 360.

Leelayuthsoontorn, P. and Thipayarat, A. 2006. Textural and morphological changes of Jasmine rice under various elevated cooking conditions. Food Chem. 96(4): 606-613.

Little, R. R., Hilder, G. B. and Dawson, E. H. 1958. Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. Cereal Chem. 35, 111-126.

Richardson, S. and Gorton, L. 2003. Characterisation of the substituent distribution in starch and cellulose derivatives. Analytica Chimica Acta. 497, 27-65.

Salehi, M. 1989. Experimental methods for measuring rice grain quality. Published by Rice Research Institute of Iran (RRII). (in Farsi)

Sasaki, T., Yasui, T. and Matsuki, J. 2000. Effect of amylose content on gelatinisation retrogradation, and pasting properties from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. Cereal Chem. 77, 58-63.

Singh, N., Kaur, L., Sohdi, N. S. and Sekhon, K. S. 2005. physicochemical, cooking and textural properties of milled rice from different Indian rice cultivar. Food Chem. 89, 253-259.

Syahariza, Z. A., Sar, S., Tizzotti, M., Hasjim, J. and Gilbert, R. G. 2013. The importance of amylose and amylopectin fine structures for starch digestibility in cooked rice grains. Food Chem. 136: 742-749.

Vandeputte, G. E., Vermeylen, R., Geeroms, J. and Delcour, J. A. 2003. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behaviour of granular starch. J. Cereal Sci. 38, 43-52.

Vilaplana, F. and Gilbert, R.G. 2010. Characterization of branched polysaccharides using multiple-detection size separation techniques. J. Sep. Sci. 33, 3537-3554.

Vilaplana, F. and Gilbert, R. G. 2011. Analytical methodology for multidimensional size/branch-length distributions for branched glucose polymers using off-line 2-dimensional size-exclusion chromatography and enzymatic treatment. J. Chromatogr. 1218, 4434-4444.

Ward, R. M., Gao, Q., Bruyn, H., Gilbert, R. G. and Fitzgerald, M. A. 2006. Improved methods for the structural analysis of the amylose-rich fraction from rice flour. RM. Biomacromolecules. 7, 866-876.

Witec, M. 2010. The structural and hydration properties of heat-treated rice studied at multiple length scales. Food Chem. 120(4):1031-1040.

Witt, T., Doutch, J., Gilbert, E. P. and Gilbert, R. G. 2012. The relations between molecular, crystalline and lamellar structures of amylopectin. Biomacromolecules. 13, 4273-82.

Wong, K. S., Kubo, A., Jane, J. L., Harada, K., Satohand, H. and Nakamur, Y .2003. Structures and properties of amylopectin and phytoglycogen in the andosperm of sugary mutants of rice. J. Cereal Sci. 37, 139-149.

Journal of Agricultural Engineering Research/Vol.16/No.2/2015/P:61-70

Evaluation of Amylose and Amylopectin Structure on Quality of Iranian Rice

F. Habibi* and A. Yahyazadeh

* Corresponding Author: Assistant Professor, Rice Research Institute of Iran (RRII), AREEO, P. O. Box: 1658, Rasht, Iran. Email: f.habibi@areo.ir
Received: 16 November 2013, Accepted: 10 January 2015

This study investigated the influence of type and structure of starch components on the cooking quality of Iranian rice varieties. Six traditional Iranian rice cultivars were harvested, their drying and moisture contents were adjusted, they were milled and their white grains and flour were evaluated in a completely randomized design. The starch properties of amylose content, gelatinization temperature and gel consistency were measured. Characterization of polymeric structure of amylose and amylopectin was evaluated using chromatographic methods. Although there was little difference in amylose content, gelatinization temperature and gel consistency, the results showed significant differences at the 1% level for amylose and amylopectin hot water-soluble components and degree of polymerization. The rice varieties of good quality were Hasansaraee, Tarom and Domsiah; these showed higher hot water-soluble amylose content in results of size exclusion chromatography. The chain length distribution of amylopectin chains and the degree of polymerization were determined by capillary electrophoresis. Selected varieties showed significant differences for A, B1, B2, B3 and longer chains at the 1% level. The results showed that good quality cultivars, such as Domsiah, had more short chains (A) with less polymerization. There was no difference between the B1 and B2 chains by cultivar. The greatest difference was found between short chains (A), B3 and long chains. Differences in the polymeric structure of rice grains also should be considered to obtain more accurate analysis and new insights into quality.

Keywords: Amylose, Amylopectin, Quality, Rice, Starch