

دانش آزمایشگاهی ایران

سال دوازدهم ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۴۰۳ ■ شماره پیاپی ۴۵

ISSN 2538-3450



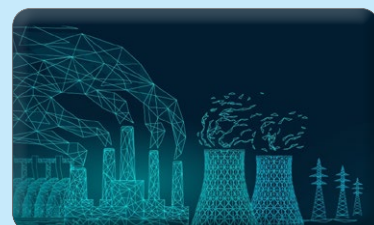
ارزش گوهرشناسی و دیرینه‌شناسی کهربا و روش‌های آزمایشگاهی تشخیص آن



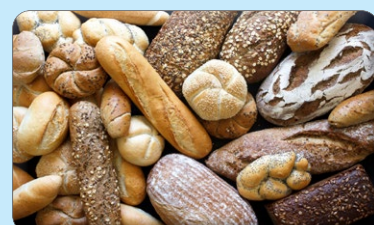
تصویربرداری فراطیفی رامان و پیاده‌سازی الگوریتم‌های یادگیری ماشین، راهکاری نوین در استخراج نقشه توزیع مولکولی مواد



بررسی نرمال بودن توزیع نتایج آزمون با استفاده از نرم‌افزار MiniTab



بهینه‌سازی واحدهای گاز سوز با استفاده از الگوریتم فرا ابتکاری آموزش - یادگیری



بررسی میزان گلوتن در مواد غذایی با استفاده از روش الایزا

تولید نانوالیاف با روش‌های نوین الکتروریسی

یک دهه در مسیر رشد و رونق خدمات آزمایشگاهی کشور

بهره‌مندی ۱۲هزار نفر از تسهیلات اعتباری بهارانه شبکه آزمایشگاهی

نویسندگان

مریم احمدی^{۱*}خسرو آقایی پور^۲

۱. بخش بیوتکنولوژی مجتمع آزمایشگاهی بهشت آئین
 ۲. مدیریت و مدیر فنی مجتمع آزمایشگاهی بهشت آئین

*Maryam.ahmadi3836@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹

بررسی میزان گلوتن در مواد غذایی با استفاده از روش الیزا

چکیده

گلوتن یکی از ترکیبات غذایی است که به دلیل ویژگی‌های فناورانه و ارگانولپتیکی به وفور در صنایع غذایی استفاده می‌شود. بیماری سلیاک یک اینتروپاتی خودایمنی است که به دلیل عدم تحمل دائمی به گلوتن ایجاد شده‌است. این بیماری زمانی اتفاق می‌افتد که بیماران مستعد ژنتیکی در معرض گلوتن که پروتئین عمده موجود در گندم، جو، چاودار و غلات مرتبط است، قرار می‌گیرند و پاسخ ایمنی اختصاصی در آنها فعال می‌شود. در حال حاضر، رژیم غذایی بدون گلوتن تنها راه درمان بیماران سلیاکی است. حذف غذاهای حاوی گندم، جو و چاودار باعث کاهش علائم می‌شود و کیفیت زندگی را بهبود داده و حتی مرگ و میر را کاهش می‌دهد. بدین منظور، انجام آزمون کنترلی به‌منظور تعیین و تأیید عدم وجود گلوتن در فرآورده‌ها و غذاهای مصرفی این بیماران ضروری است. الیزا به‌عنوان روش مرسوم تشخیص گلوتن توسط انجمن شیمیدانان به تصویب رسیده است. الیزا قادر است میزان گلوتن را هم به‌طور طبیعی و هم گرما دیده تشخیص داده و آن را به‌صورت کمی اندازه‌گیری نماید. سنجش الیزا می‌تواند مقدار کمی گلیادین‌ها و هوردئین‌ها را در محصولات فرآوری شده و فرآوری نشده که بر پایه گندم و جو هستند و همچنین محتوای گلوتن محصولات هیدرولیز شده را تخمین بزند.

واژه‌های کلیدی

گلوتن، گلیادین، بیماری سلیاک، الیزا.

گلوتن یکی از ترکیبات غذایی است که به دلیل ویژگی‌های ارگانولپتیکی، فراوانی و قیمت مناسب به وفور در صنایع غذایی استفاده می‌شود [۱]. گندم یکی از محصولات غذایی اصلی است که در سطح جهانی کشت، مصرف و تجارت می‌شود. دانه گندم ۸ تا ۱۵ درصد پروتئین داشته که شامل ۱۰ تا ۱۵ درصد آلبومین/گلوبولین و ۸۵ تا ۹۰ درصد گلوتن است. گلوتن ترکیبی پیچیده شامل صدها پروتئین متمایز (به‌طور عمده گلیدین و گلوٹنین) است. واریته‌های مختلف گندم در محتوای پروتئین و ترکیب و توزیع پروتئین‌های گلوتن تفاوت می‌کنند [۲].

بیماری‌های مرتبط با گلوتن به‌عنوان حساسیت و واکنش‌های نامطلوب به گلوتن تعریف شده‌اند که توسط واکنش ناهنجار سیستم ایمنی ایجاد می‌شوند. بیماری سلیاک^۱ و آلرژی ایمونوگلوبولین E^۲ ایجاد شده به واسطه گندم دو بیماری شناخته شده هستند [۳]. ارزیابی رژیم‌های غذایی استفاده شده در طول زمان نشان داده‌اند که گندم یکی از رایج‌ترین محصولات است که مسبب این بیماری‌ها بوده و مشکلات ایجاد شده در این بیماران و علائم آزاردهنده گوارشی متعدد آنها را ایجاد می‌کند [۲].

ترکیبات گندم

دانه‌های گندم به‌طور عمده از کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها و موادمعدنی تشکیل شده‌اند. در حالی که این مولفه‌ها می‌توانند غذای اصلی را برای بیشتر مردم فراهم کنند، برای جمعیت اندکی که حساس هستند، مصرف گندم سبب واکنش‌های التهابی و حساسیت‌زا می‌شود. با این حال همه ترکیبات گندم باعث ایجاد این حساسیت نمی‌شود. گلوبولین‌ها، آلبومین‌ها، گلوٹن‌ها و فروکتان‌ها در برخی افراد هضم سختی دارند و باعث ایجاد حساسیت می‌شوند [۴].

ساختار گلوتن

گلوتن یک ترکیب بسیار پیچیده با چندشکلی آلی بالا است که با پروتئین‌های ویژه‌ای که گلوٹنین و گلیدین را کد می‌کنند، مشخص می‌شود. علاوه‌بر این، هر ژنوتیپ گندم انواع و مقادیر منحصر به فردی از این ترکیبات را تولید می‌کند که می‌تواند با شرایط مختلف رشد و فرایندهای فناورانه تفاوت کند. بیان پروتئین و کربوهیدرات یک ژنوتیپ می‌تواند بسته به محیطی که در آن رشد کرده است، تغییر کند [۴].

بیماری سلیاک

بیماری سلیاک یک اینتروپاتی خود ایمنی حساسیت به گلوتن است که به دلیل عدم تحمل دائمی به گلوتن ایجاد شده‌است و افراد در تمام سنین در سراسر جهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۵ و ۶]. زمانی تصور می‌شد که

بیماری سلیاک یک بیماری نادر در کودکان است که با علائمی مانند اسهال مشخص می‌شود اما در واقع بیماری سلیاک یک اختلال چند سیستمی، در نتیجه پاسخ ایمنی به گلوتن در افرادی است که به‌صورت ژنتیکی مستعد هستند [۶]. سلیاک پاسخ ایجاد شده به واسطه سلول‌های T به عدم تحمل و مقاومت در هضم پپتیدهای گلوتن است [۷]. بیماری سلیاک زمانی اتفاق می‌افتد که بیماران مستعد ژنتیکی در معرض گلوتن که پروتئین عمده در گندم، جو، چاودار و غلات مرتبط است، قرار می‌گیرند و سیستم پاسخ ایمنی آنها در برابر این پروتئین فعال می‌شود [۸]. بررسی‌ها نشان داده است که عوامل محیطی، عوامل عفونی، ویژگی‌های اجتماعی-اقتصادی و همچنین وجود هاپلوتیپ‌های HLA-DQ2 یا HLA-DQ8 و یا تغییرات ژنتیکی در تعدادی از ژن‌های non-HLA، احتمال ایجاد بیماری سلیاک را بالا می‌برند [۵].

اهمیت توسعه محصولات بدون گلوتن

در این بیماران، پیشگیری کامل از خوردن مواد غذایی و فرآورده‌های حاوی گلوتن باعث بهبود التهاب و مشکلات روده شده و تمام عوارض گوارشی، تغذیه‌ای و سایر علائم برطرف می‌شود [۹]. همچنین پایبندی به رژیم غذایی فاقد گلوتن، خطر توسعه بسیاری از عوارض مزمن طولانی و پیش‌رونده حاد بیماری سلیاک را کاهش می‌دهد. اگرچه در ظاهر پیروی از رژیم غذایی فاقد گلوتن ممکن است ساده به نظر برسد اما رعایت این رژیم غذایی چندین آسان و بی‌دغدغه نیست. این برنامه غذایی نه تنها شامل حذف غلات حاوی گلوتن و تمامی محصولات حاوی آنها است،

جدول (۱): لیست مواد غذایی دارای گلوتن و فاقد گلوتن [۶].

مواد غذایی بدون گلوتن	مواد غذایی حاوی گلوتن
دانه تاج خروس	جو
آروروت	بلغور گندم
آردهای لوبیا (انواع آجیل، باقالا، رومانو)	چسب غلات
گندم سیاه	آرد چا پاتی
ذرت	بلغور عربی
باقالا	گندم آلمانی
تخم کتان	گندم دوروم
انواع آجیل	گندم اینکورن (تک دانه)
هامنی (ذرت خشک فرآوری شده)	گندم تتراپلوئید
آرد حبوبات	گندم فارینا
ارزن	گندم فارو (سه گونه)
آرد مونتینا	گندم فو
آرد فندق و وعده غذایی فندقی	آرد گلوتن و گلوتن
جو دوسر (بدون آلودگی با گلوتن)	آرد کامل گندم
آرد نخود	گندم کاموت
آرد و نشاسته سیبزمینی	مالت (عصاره مالت، طعم دهنده مالت، شیره مالت، سرکه مالت)
کینوا	نان فتیر
تمام انواع برنج (سفید، قهوه‌ای، شیرین، وحشی، جاسمین، باسماتی، گلو تینوس، پولیش، بران)	جو دوسر (بیشتر شرکت‌های تجاری، سبوس جو دوسر، شیره جو دوسر)
ساگو	اورزو (پاستا)
آرد سورگوم	چاودار
آرد سویا	گلو تن گندم (ماده غذایی حاوی گلو تن)
تاپیوکا	سمولینا
آرد علف دسته‌ای	تریتیکاله
-	گندم (جوانه، شیره، نشاسته)

بلکه نیاز به هوشیاری همیشگی و بی‌وقفه به‌منظور پرهیز از خوردن این خوراکی‌ها دارد که حتی می‌تواند حس انزوا، فشار اجتماعی و آسیب‌های روحی روانی نیز به همراه داشته باشد. از آنجایی که بیشتر نان‌ها، بیسکویت‌ها، ماکارونی‌ها، کیک‌ها، کلوچه‌ها، غلات صبحانه، شیرینی‌ها و سوپ‌ها از گندم و ترکیبات واجد گلوتن تهیه می‌شوند، این بیماران باید از همه این خوراکی‌ها اجتناب کنند. موارد بیان شده نشان دهنده نیاز به تغییر کامل سبک زندگی است که ممکن است برای همه قابل اجرا نباشد. با توجه به همه این دلایل، امروزه تقاضا برای محصولات تأیید شده عاری از گلوتن سال به سال در حال افزایش است [۱۰]. در حال حاضر، رژیم غذایی بدون گلوتن تنها راه کنترل بیماری سلیاک است. حذف غذاهای حاوی گندم، جو و چاودار باعث بهبود علائم و ویژگی‌های بافتی و سرولوژیکی می‌شود و کیفیت زندگی را بهبود و حتی مرگ و میر را کاهش می‌دهد. با این حال، به دلیل آلودگی متقابل مواد غذایی با مواد حاوی گلوتن، هزینه بالای محصولات و محدودیت در دسترس بودن مواد غذایی بدون گلوتن، کنترل این بیماری می‌تواند دشوار باشد [۵] و [۶]. در رژیم غذایی بدون گلوتن تمام غذاها و فرآورده‌های حاوی گلوتن شامل گندم، چاودار و جو و مشتقات آنها (جدول (۱)) حذف شده‌اند. برای این بیماران حتی مقدار کمی گلوتن ممکن است خطرناک باشد [۱۱].

در حال حاضر، محصولات غذایی بدون گلوتن بخش سودآوری در صنایع غذایی با ارزش تخمینی چندین میلیارد دلار را تشکیل می‌دهد. تصور بی‌اساسی در جامعه وجود دارد که رژیم غذایی بدون گلوتن یک رژیم غذایی سالم است در حالی که رژیم غذایی بدون گلوتن برای افراد سالم از نظر پزشکی غیرقابل توجیه بوده و رژیم مناسبی نیست. در حال حاضر، فقط بیمارانی که مبتلا به سلیاک هستند به‌صورت مادام‌العمر باید از یک رژیم سخت بدون گلوتن پیروی کنند و بیمارانی که آلرژی گندم به واسطه ایمونوگلوبولین E دارند، باید از قرار گرفتن در معرض گلوتن به هر شکلی خودداری کنند [۳]. براساس کمیسیون مربوط به مواد غذایی و آیین‌نامه اجرایی کمیسیون و سازمان غذا و داروی ایالت متحده آمریکا محصولاتی که برچسب بدون گلوتن می‌خورند باید میزان گلوتن آنها کمتر از ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (ppm) [۱۲ و ۱۳] و محصولاتی که برچسب گلوتن کم می‌خورند میزان گلوتن آنها باید بین ۲۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (ppm) باشد [۱۴]. از آنجایی که این مقادیر تعیین شده‌اند، فراهم کردن روش‌ها و ابزارهای دقیق و با قابلیت استفاده به نسبت آسان که بتوانند با دقت و صحت مقادیر گلوتن در مواد غذایی

به مراتب مطمئن تری را ایجاد می کنند. الیذاها می توانند انواع متفاوتی داشته باشند [۱۶].

مختلف را اندازه بگیرند، مهم است [۱۵].

الیزا چیست؟

دستگاه خوانشگر الیزا و آنالیز گلوتن

دستگاه خوانشگر میکروپلیت به طور معمول به نام های میکروفتمتریک و خوانشگر الیزا نیز نامیده می شود. خوانشگر الیزا داده های زیستی و شیمیایی را با استفاده از جذب نوری در طول موج های خاصی تشخیص داده و پردازش می کند. الیزا به عنوان روش مرسوم تشخیص گلوتن توسط انجمن شیمیدانان به تصویب رسیده است. الیزا قادر است میزان گلوتن اصلی و گرما دیده را به صورت کمی به دست آورد. این روش سنجش که توسط کمیسیون مربوط به مواد غذایی کدکس^۵ تایید شده است، می تواند مقادیر جزئی از گلیادین ها و هوردها را در محصولات فرآوری شده و فرآوری نشده که بر پایه گندم و جو هستند و همچنین محتوای گلوتن محصولات هیدرولیز شده را تخمین بزند؛ بنابراین، برای جلوگیری از مصرف گلوتن در افرادی که به این پروتئین حساسیت دارند لازم است که آنالیز الیزا به منظور بررسی میزان گلوتن محصولات مختلف انجام شود. از آنجایی که با گذشت زمان، روش های آزمایش حساس تر و پیشرفته تر شده اند این نگرانی وجود دارد که بسیاری از محصولات، معیارهای برچسب زنی به عنوان محصولات بدون گلوتن را نداشته باشند [۲].

واژه الیزا^۳ سنجش ایمنوسوربنت مرتبط با آنزیم است که به طور عمومی برای سطوح کمی مولکول ها و ترکیبات خاص در یک نمونه استفاده می شود. به طور معمول، نمونه های مختلفی برای آزمون در الیزا استفاده می شوند که شامل سرم، پلاسما، مایع رویی کشت سلول، لیزشده های سلولی، بزاق، ادرار و عصاره لیزشده های بافت و انواع محلول های حاوی مولکول های زیستی مختلف هستند. الیزا به طور معمول در میکروپلیت های حاوی چاهک های کوچک که دارای پوششی از آنتی بادی خاص گیرنده برای آنالیت مورد نظر هستند، انجام می شود. به طور معمول بعد از انکوباسیون با نمونه های آزمایشگاهی، استاندارد ها و یا کنترل ها، آنالیت هدف توسط این آنتی بادی ها جذب می شود. آنتی بادی تشخیصی که به اپی توپ های مختلف روی آنالیت هدف که حاوی آنزیم گزارشگر^۴ است، برای تکمیل این سنجش استفاده می شود. یک محلول سوبسترا به طور پی در پی اضافه شده تا سیگنالی تولید شود که متناسب با مقدار آنالیت محدود شده است. الیزا روش سریع و آسانی محسوب می شود که قادر به ردیابی کمتر از یک نانوگرم از یک پروتئین است و آن را می توان هم با پادتن های پلی کلونال و هم با پادتن های مونوکلونال انجام داد؛ با این حال استفاده از پادتن های مونوکلونال نتایج

نتیجه گیری

در سراسر دنیا، غلات حاوی گلوتن (گندم، چاودار، جو و جو دوسر) به طور گسترده مصرف می شود. گلوتن یک شبکه پروتئینی پیچیده است که نقش مهمی در ایجاد بیماری سلیاک دارد. بیماری سلیاک بیماری مرتبط با مصرف گلوتن است. برای آنالیز گلوتن از روش الیزا استفاده می شود که در نهایت، نتایج این آزمون با استفاده از خوانشگر الیزا مورد بررسی قرار گرفته و میزان گلوتن نمونه مورد نظر به دست می آید که این موضوع به بیماران سلیاکی کمک می کند تا بتوانند با اطمینان بیشتری مواد غذایی فاقد گلوتن را مصرف کرده و از عوارض و خطرات این بیماری در امان باشند.

پی نوشت

1. Celiac disease (CD)
2. Immunoglobulin E (IgE)
3. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
4. Reporter
5. Codex

- [1] L. Day, M. Augustin, I. Batey and C. Wrigley. Trends in Food Science & Technology, 17 (2006) 82–90.
- [2] J.R. Biesiekierski, Gastroenterology and Hepatology, 32 (2017) 78–81.
- [3] B. Cabanillas, CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION, 60 (2019) 2606–2621.
- [4] L. Kissing Kucek, L.D.Veenstra, P. Amnuaycheewa and M.E. Sorrells, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 14 (2015) 285-302.
- [5] G. J. Tack, W. H. M. Verbeek, M. W. J. Schreurs and C.J. J. Mulder. Nature journal, 7 (2010) 204-213.
- [6] M. Niewinski. Journal of the AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 108 (2008) 661-672.
- [7] P.H.R. Green, B. Lebwohl, R. Greywoode, Allergy Clin Immunol, 135 (2015) 1099–1106.
- [8] J.R. Biesiekierski and J. Iven, United European Gastroenterology Journal, 3 (2015) 160-165.
- [9] M. Poonam Dhankhar, International Journal of Engineering Science Invention, 2 (12) (2013) 10-19.
- [10] P. Jnawali, V. Kumar, B. Tanwar, Food Science and Human Wellness, 5 (2016) 169-176.
- [11] A. Fasano and C. Catassi, GASTROENTEROLOGY, 120 (2001), 636–651.
- [12] R. Hochegger, W. Mayer, M. Prochaska, Foods, 4 (2015), 654–664.
- [13] E. Commission, Official Journal of the European Union, 228 (2014) 5–8.
- [14] A.K. Verma, S. Gatti, T. Galeazzi, C. Monachesi, L. Padella, G.D. Baldo, R. Annibali, E. Lionetti, C. Catassi, Nutrients, 9 (2017) 1-10.
- [15] Z. Bugyi, K. Torok, L. Hajast, Z. Adonyi, B. Popping, S.Tomoskozi, Quality Assurance and Safety of crops and foods, 5 (2013) 79-87.
- [16] S. Catherine, Journal of Clinical and Experimental Pharmacology, 11 (2021) 1.

Study on gluten amounts of foodstuffs by ELISA method

Abstract

Gluten is one of food ingredients that is widely used in food industry because of its technological and organoleptic properties.

Celiac is an autoimmune enteropathy disease caused by permanent intolerance to gluten. When genetically predisposed patients are exposed to gluten, which is the major protein of wheat, barley, rye, and related grains, a specific immune response is activated in their body. Currently, gluten-free diets are the only treatment for celiac patients. Eliminating high gluten foods containing wheat, barley, and rye reduces symptoms, improves quality of life and even reduces mortality.

For this purpose, in order to determine and confirm the absence of gluten in the products and foods it is necessary to carry out a control test. ELISA has been approved by the American Chemical Society as a conventional method for gluten detection.

ELISA is able to detect naturally and heat-treated gluten and measure it quantitatively. ELISA assay can estimate the quantitative amount of gliadins and hordeins in based on wheat and barley processed and unprocessed products, as well as the gluten content of hydrolyzed products.

Authors

Maryam Ahmadi^{1*}
Khosro Aghaeipour²

*Maryam.ahmadi3836@gmail.com

1. Biotechnology Department of Behesht Ain Laboratory Complex, Tehran, Iran
2. Management and technical manager of Behesht Ain Laboratory complex, Tehran, Iran

Keywords

gluten, gliadin, celiac disease, ELISA.

Production of Nanofibers with New Electrospinning Methods



Gemological and paleontological value of amber and laboratory methods of its detection



Raman hyperspectral imaging and the implementation of machine learning algorithms: an innovative approach for molecular mapping of materials



Checking the normality of distribution of test results using minitab software



Optimization of gas-fired units using teaching-learning meta-heuristic algorithm



Study on gluten amounts of foodstuffs by ELISA method