



بررسی اثرات افزودن آنزیم‌های گلوکز اکسیداز، α -آمیلاز، ترانس گلوتامیناز و زایلاناز بر خواص

رئولوژیکی آرد نان بربری و لواش به روش سطح پاسخ

امید میرزایی تاش^۱، مهدی قره خانی^{۲*}، حمید میرزایی^۳، افشین جوادی^۳

۱-دانشجوی دکتری علوم و مهندسی صنایع غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد ممقان، دانشگاه آزاد اسلامی، ممقان، ایران.
۲- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۳- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۴

کلمات کلیدی:

گلوکز اکسیداز،
 α -آمیلاز، ترانس گلوتامیناز،
زایلاناز،
خواص رئولوژیکی، آرد

عمده ترین گروه غذایی در تامین انرژی و پروتئین در رژیم غذایی جامعه ایرانی، نان می باشد. بنابراین نان مصرفی باید از کیفیت مناسبی برخوردار باشد که یکی از عوامل موثر در کیفیت آن، کیفیت و کمیت گلوتن آرد مصرفی می باشد که متأسفانه این عوامل در گندم های تولیدی در ایران مناسب نیستند. یکی از راه های اصلاح آنها، استفاده از آنزیم ها در آرد تولیدی نان می باشد. در این تحقیق اثرات افزودن آنزیم های گلوکز اکسیداز (GO) و ترانس گلوتامیناز (TG) در مقادیر ۰ تا ۳۰ پی پی ام، α -آمیلاز (AM) در مقادیر ۰ تا ۵۰ پی پی ام و زایلاناز (XA) در مقادیر ۰ تا ۱۰۰ پی پی ام بر خواص رئولوژیکی خمیر نان بربری و لواش تهیه شده و با استفاده از روش سطح پاسخ بررسی و ویژگی خمیرهای حاصل بوسیله آزمون های رئولوژیکی فارینوگراف، فالینگ نامبر و آلونوگراف مطالعه گردید. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Design Expert بیانگر این بودند که در مقادیر مختلف TG و GO، افزایش AM موجب کاهش فالینگ نامبر شد. AM و XA میزان جذب آب فارینوگراف را کاهش داد ولی اثر متقابل آنها معنی دار نبود. در مقادیر بالای AM و TG، شاخص فارینوگراف (FQC) در بالاترین مقدار خود قرار گرفت. افزایش AM موجب کاهش شاخص P آلونوگرام شد درحالیکه افزایش GO و XA هر یک به تنهایی موجب افزایش این شاخص گردید. اثر متقابل دو آنزیم اخیر نیز معنی دار بوده و مقدار میانه هر دو سبب کاهش این شاخص گردید. در نان بربری و لواش مقادیر TG و GO در مقادیر حداکثری (۳۰ پی پی ام) و AM در مقادیر ۱۶ و ۲۳ پی پی ام بیشترین تاثیر را داشتند. تاثیر آنزیم XA در نان بربری معنی دار نبود ولی در نان لواش مقدار ۲۳ پی پی ام آن تاثیر مثبتی نشان داد.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.247
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.11.2

* مسئول مکاتبات:

m.gharekhani@iaut.ac.ir

۱- مقدمه

آرد حاصل از گندم‌های کشت شده در ایران در بیشتر مناطق به دلیل نوع خاک و شرایط آب و هوایی، خواص مطلوب برای نانوائی ندارند. کنترل شرایط جوی و سایر عوامل موثر بر کیفیت گندم مشکل و اغلب خارج از کنترل می‌باشد [۱]. گلوتن این گندم‌ها اکثراً دارای کیفیت پایین می‌باشند به گونه‌ای که شبکه گلوتنی در خمیر حاصل از آن‌ها توانایی نگهداری گازهای تولیدی ناشی از فعالیت مخمرها را ندارد [۲].

در اثر مخلوط کردن آرد و آب، ماده خمیری ویسکوالاستیک تشکیل می‌شود. رئولوژی خمیر، علم بررسی تغییر شکل و جریان خمیر است که تحت تاثیر مواد افزودنی مختلف (مواد کاهنده، اکسید کننده، آنزیم‌ها، امولسیفایرها، قند و نمک) قرار دارد. در صنعت نانوائی، درک بهتر خواص رئولوژیکی خمیر آرد در طول فرآوری، به دلیل ارتباط بین این خواص و ویژگی‌های کیفی محصولات، حائز اهمیت است [۳].

یکی از راه‌های تنظیم کیفیت گلوتن استفاده از آنزیم‌هاست و در نتیجه آن حجم نان، ساختار نان، ماندگاری و طعم بهبود می‌یابد [۴]. آنزیم‌ها، کاتالیزورهای بیولوژیکی هستند که، با کاتالیزورهای شیمیایی تفاوت دارند زیرا عملکردشان بسیار اختصاصی است. استفاده از آنزیم‌ها به قبل از قرن نوزدهم، زمانی که توانایی‌های کاتالیزوری آن‌ها به طور علمی شناخته شده بود، برمی‌گردد. آنزیم‌ها به طور کلی به عنوان محصولات طبیعی در نظر گرفته می‌شوند. با توجه به این که صنایع غذایی به سمت برچسب‌های پاک^۱ حرکت می‌کند و همچنین مقررات سازمان غذا و دارو در مورد محدود کردن استفاده از افزودنی‌های شیمیایی، کاربرد آنزیم‌های غذایی اهمیت بیشتری پیدا کرده است [۵].

با وجود خاصیت آرد گندم در تشکیل شبکه گلوتنی و ویسکوالاستیک، برخی از آنزیم‌ها در خمیر مخلوط می‌شوند تا با کاهش زمان آماده‌سازی نان و سرعت بیاتی، جایگزین افزودنی‌های شیمیایی شده و فرآیند پخت را بهبود بخشند [۶]. نامناسب بودن فعالیت آنزیمی‌آمیلولیتیک آرد گندم از معایب

گندم‌های ایران جهت تولید نان، می‌باشد که مشکلاتی را در صنعت تولید نان ایجاد می‌نماید؛ بنابراین افزودن آنزیم‌های خانواده آمیلازی به آرد به عنوان یک راهکار مناسب مطرح است [۱]. وظیفه آمیلاز کاتالیز هیدرولیز پیوندهای α -۱ و ϵ -گلیکوزیدی مولکول‌های نشاسته (آمیروز و آمیلوپکتین)، به مالتودکسترین‌ها و الیگوساکاریدها است [۳]، که اجازه فعالیت تخمیری مداوم را به مخمر می‌دهد تا گاز CO_2 تولید کند. در نهایت به بهبود حجم و بافت مغز نان در محصول نهایی نان کمک می‌کند. به علاوه، الیگوساکاریدهای کوچک و قندهایی نظیر گلوکز و مالتوز حاصل از این آنزیم واکنش‌های مایلارد^۲ را که عامل ایجاد رنگ قهوه‌ای مطلوب پوسته و ایجاد طعم مخصوص نان پخته شده هستند، تقویت می‌کنند [۱].

زایاناز یک هیدرولاز است و می‌تواند به ساختار اصلی آرایینوکسیلان‌ها حمله کند و پیوندهای گلیکوزیدی آنها را بشکند و در نتیجه خواص عملکردی و فیزیوشیمیایی آرایینوکسیلان‌ها را تغییر دهد [۳]. هیدرولیز گسترده آرایینوکسیلان‌ها باعث توزیع مجدد آب از آرایینوکسیلان‌ها به فازهای گلوتن و نشاسته می‌شود و خمیر را شل‌تر، نرم‌تر و چسبناک‌تر می‌کند. افزودن زایانازها در سطح مناسب اثرات مثبتی نظیر بهبود تحمل خمیر، آون اسپرینگ^۳ (افزایش حجم نان در فر در مراحل اولیه پخت، قبل از تشکیل پوسته نان)، حجم، شکل و بافت نان دارد [۷ و ۸]. این آنزیم‌ها (α -آمیلاز و زایاناز) به دلیل مکانیسم عمل خاص خود، اثرات مثبتی روی رفتار رئولوژیکی خمیر و کیفیت محصولات نهایی ایجاد می‌کنند [۹].

آنزیم‌های گلوکز اکسیداز (GO) و ترانس گلوتامیناز (TG) نیز در محصولات نانوائی کاربرد دارند [۹]. آنزیم GO (گلوکز اکسیداز) قادر است ساختار و ویژگی‌های عملکردی شبکه گلوتن را با ایجاد پیوندهای عرضی دی سولفید کووالانسی از طریق عمل واسطه‌ای H_2O_2 تقویت کند [۱ و ۴].

هنگامی که در تهیه نان از TG (ترانس گلوتامیناز) استفاده می‌شود، قادر است عملکرد پروتئینهای آرد را از طریق تشکیل

2. Maillard
3. Oven spring

1. Clean label

تکی و ترکیبی، بر خواص رئولوژیکی خمیر نان بربری و لواش بررسی گردید که برای تهیه نمونه ها از روش سطح پاسخ استفاده گردید و ویژگی های رئولوژیکی خمیر با استفاده از فارینوگراف، فالینگ نامبر و آلنوگراف بررسی گردید.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

آرد مصرفی جهت تهیه نان بربری و لواش از شرکت آرد اطهر (لواش با سبوس ۱۵٪ و بربری ۱۸٪) تهیه شد. آنزیم های گلوکز اکسیداز، α - آمیلاز، ترانس گلوتامیناز و زایلاناز به عنوان افزودنی از شرکت Breatec کشور هلند خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده نیز از نوع آزمایشگاهی با خلوص بالا بود.

۲-۲- آماده سازی خمیرهای نان لواش و

بربری

برای تهیه خمیرهای لواش و بربری مقادیر مشخص شده مطابق طرح آزمایشات حاصل از نرم افزار به آرد افزوده شد. مقادیر آنزیم ها بر اساس مقادیر پیشنهادی شرکت سازنده آنها تعیین گردید. به این صورت که گلوکز اکسیداز و ترانس گلوتامیناز در محدوده ۰-۳۰ ppm، α - آمیلاز در محدوده ۰-۵۰ ppm و زایلاناز در محدوده ۰-۱۰۰ ppm در نظر گرفته شد و بر اساس طرح کامپوزیت مرکزی (جدول ۱) تعداد ۲۸ نمونه تهیه و به آردهای نان لواش و نان بربری افزوده شد. آردهای حاصل پس از اختلاط با مقدار مناسب آب و تشکیل شبکه گلوتهی جهت آنالیزهای رئولوژیکی مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۳- روش های آزمون

آزمون های شیمیایی روی نمونه آرد شاهد (مطابق استاندارد ملی شماره ۱۰۳) انجام شد که شامل آزمون رطوبت (روش استاندارد ملی شماره ۲۷۰۵)، خاکستر (استاندارد ملی شماره ۱۰۳)، عدد گلوتهن و کیفیت گلوتهن (روش مرجع AACC به شماره ۰۲-۱۲-۳۸) و اندازه ذرات (مطابق استاندارد ملی ۱۰۳)

پلیمرهای نامحلول بزرگ بهبود بخشید [۹]. ترانس گلوتامیناز می تواند ویژگی های عملکردی پروتئین ها را با ایجاد پیوندهای کووالانسی بین یا درون زنجیره های بهبود بخشید. گزارش شده است که پیوند ایزوپپتیدی با واسطه TG باعث تغییر ویژگی های خمیر آرد غلات، به ویژه آنهایی که محتوای پروتئین پایینی دارند، مانند آرد گندم نرم و فرمول های بدون گلوتهن، می شود و در نتیجه خواص نانوائی خمیر را بهبود می بخشد [۱۰]. TG میکروبی در ترکیب با خمیر ترش یک اثر هم افزایی مثبت را نشان داد که اجازه تولید نان غنی از طعم، با خواص رئولوژیکی مشابه با نان استاندارد را می دهد [۱۱].

استفاده از مخلوط آنزیم ها یک روش معمول است و مخلوط ترکیبی از آنزیم ها به صورت تجاری در بازار موجود است. همه آنزیم ها ممکن است به طور مستقل عمل کنند یا اثر هم افزایی^۱ نشان دهند. امروزه تمایل به کنترل و انتخاب استفاده از مخلوط کامپوزیت آنزیم ها وجود دارد که می تواند تأثیر هم افزایی روی اجزای مختلف آرد عمل کند [۶]. Bankar و همکاران (۲۰۰۹)، Bagagli و همکاران (۲۰۱۴) و Meerts و همکاران (۲۰۱۷) طی مطالعات خود نشان دادند آنزیم های گلوکز اکسیداز و ترانس گلوتامیناز می توانند با تغییر شبکه گلوتهی ویژگیهای ویسکوالاستیک آرد را بهبود بخشند. به طوریکه استفاده از این آنزیم ها خمیر را محکم تر کرده و خاصیت الاستیک آن را تقویت می کند [۴ و ۱۰ و ۲۲]. Nevsky و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر آماده سازی آنزیم آندوگزایلاناز و فعالیت های اگزوپپتیداز در مورد کیفیت نان، خواص خمیر و عملکرد ترکیبات روی پروتئین های گلوتهن گندم بررسی شد و نتایج نشان داد افزودن آنزیم های مذکور سبب بهبود درجه هیدراتاسیون پروتئین های گلوتهن و تقویت ساختار آن می شود [۲۳].

به منظور بر طرف نمودن عیوب آرد تولیدی در کشور و جبران نواقص ناشی از کاربرد هر یک از آنزیم ها به تنهایی در جهت رفع نواقص و کمبود آردهای داخلی و متعاقب آن تولید خمیری مناسب، در این تحقیق اثرات افزودن آنزیم های گلوکز اکسیداز، α - آمیلاز، ترانس گلوتامیناز و زایلاناز، به صورت

1. synergy

۳- تجزیه و تحلیل آماری

روش آماری مورد استفاده روش سطح پاسخ (RSM) بود که برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و مدل‌های قابل ارائه از آنالیز واریانس در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) استفاده شد. طرح کلی آزمایشات به کمک نرم افزار Design Expert نسخه 7.01 با استفاده از مدل CCD^2 (طرح کامپوزیت مرکزی) انجام شد. طرح آزمایشات استفاده شده و حدود بکار رفته آنزیم‌ها به عنوان متغیرهای مستقل در جدول ۱ نمایش داده شده است.

Table 1 Central composite design of samples based on RSM model

Run	A: TG (ppm)	B: GO (ppm)	C: AM (ppm)	D: XA (ppm)
1	30	0	50	100
2	0	0	0	100
3	15	15	25	50
4	30	30	0	100
5	15	15	0	50
6	0	30	0	100
7	30	30	0	0
8	0	30	50	0
9	0	30	0	0
10	30	15	25	50
11	30	0	0	100
12	30	30	50	0
13	15	15	25	50
14	15	0	25	50
15	30	0	0	0
16	15	30	25	50
17	15	15	25	50
18	0	0	50	100
19	15	15	25	100
20	0	30	50	100
21	0	15	25	50
22	30	0	50	0
23	0	0	0	0
24	15	15	25	50
25	15	15	50	50
26	0	0	50	0
27	15	15	25	0
28	30	30	50	100

TG: ترانس گلوتامیناز، GO: گلوکز اکسیداز، AM: α -آمیلاز، XA: زایلاناز

بود. برای آزمون‌های رئولوژیکی خمیر نیز فالینگ نامبر مطابق روش AACC568103 و با استفاده از دستگاه BASTAK ساخت ترکیه انجام شد. برای اندازه‌گیری شاخص‌های فارینوگراف بر اساس روش مرجع YUCEBAS AACC5421 از دستگاه فارینوگراف MASHINERY استفاده گردید و شاخص‌های رئولوژیکی بر اساس استانداردهای AACC 54-30، ICC 171، ICC 121 AACC 54-50 با استفاده از دستگاه آلوتوگراف CHOPIN کشور فرانسه مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۴- تعاریف شاخص‌های ارزیابی شده

آزمون فالینگ نامبر: عبارت است از زمان لازم برحسب ثانیه برای سقوط همزن ویسکومتر، در یک فاصله مشخص در مخلوط زن داخل ویسکومتر، که تحت تأثیر آنزیم آلفا آمیلاز در حال تبدیل شدن به مایع، می‌باشد [۱۲]. جذب آب فارینوگراف: جذب آب یکی از خواص مرتبط با کیفیت آرد است که توسط فارینوگراف اندازه‌گیری می‌شود. مقدار آب مورد نیاز (اضافه شده از طریق بورت دستگاه) به ۳۰۰ گرم آرد با ۱۴ درصد رطوبت برای رسیدن خمیر به قوام مناسب در اولین نقطه‌ای که مرکز منحنی به خط ۵۰۰ واحد فارینوگراف^۱ می‌رسد، درصد جذب آب آرد را مشخص می‌کند.

شاخص کیفی فارینوگرام: عدد کیفی فارینوگراف (FQN) معیاری قراردادی می‌باشد که توسط شرکت برابندر معرفی شده است. این مؤلفه رئولوژیکی برآیندی از مجموع شاخص‌های موجود در منحنی فارینوگرام است که در پژوهش‌های مربوط به ارزیابی کیفیت گندم و آرد قابل استفاده می‌باشد [۱۳ و ۱۴]. شاخص P آلوتوگرام: این عدد معادل بیشترین فشار است که با بیشینه‌ی فشار حباب مورد نیاز برای ترکیدن حباب خمیر رابطه‌ی مستقیم دارد. این عدد شاخص سفتی خمیر بوده و نشان دهنده‌ی میزان مقاومت خمیر در برابر تغییر شکل است.

۴- نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آرد بربری و لواش مورد استفاده در جدول ۲ نشان داده شده است.

۴-۱- ویژگی‌های آرد مصرفی

Table 2 Tests of bread flours used as control sample

Flour Type	Humidity (%)	Ash (%)	bran extraction percentage (%)	Under Sieve 125 microns	Particle size (%)			Gluten (%)	Dry Gluten (%)	Index
					On Sieve 125 microns	On Sieve 180 microns	On Sieve 475 microns			
Lavash	12.6±0.7	1±0.02	15±1.0	48.5±3.9	31.5±5.8	18±2.1	2±0.2	25±1.5	10±0.3	65±3.3
Barbary	12.9±0.3	0.85±0.01	18±0.9	56.6±4.7	26±4.1	15.6±0.8	1.8±0.1	27.4±1.3	11.2±0.4	79±6.4

۴-۲- نتایج آزمون‌های انجام یافته روی خمیر

۴-۲-۱- نتایج افزودن آنزیم‌ها بر فالینگ نامبر خمیر

مطابق جدول ۳ مدل‌های پیشنهادی برای هر دو نمونه آرد لواش و بربری معنی‌دار بود. بنابراین رابطه بین متغیرهای مستقل (آنزیم‌های افزوده شده) و متغیر وابسته (فالینگ نامبر)

معنی‌دار بوده که با غیرمعنی‌دار بودن میزان عدم برازش مدل (Lack of fit)، نشان دهنده مناسب بودن داده‌ها با مدل پیشنهادی می‌باشد. R^2_{adj} برای هر دو نمونه آرد در حد قابل قبول بود که نشان دهنده ارتباط مناسب مدل رگرسیونی بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته می‌باشد.

Table 3: Falling number test results

	The results related to the falling number of Barbary bread flour	The results related to the falling number of Lavash bread flour
The model suggested by the software	$FN = +516.53382 + 0.15407 GO - 6.57978 AM + 0.075362 \times AM^2$	$FN = +404.64010 - 5.65973 \times AM - 0.035000 \times TG \times AM - 0.018667 \times TG \times XA - 0.010200 \times AM \times XA + 0.084406 \times AM^2$
F value of the model	16.92 ^s	14.64 ^s
F value of the disproportion	0.0012 ^{ns}	0.007 ^{ns}
R ² Value	0.94	0.94
R ² _{adj} Value	0.89	0.87
Significant effects of the enzymes on the model	GO AM AM ²	AM TG×AM TG×XA AM×XA AM ²

*Trans Glutaminase (TG), α-Amylase (AM), xylanase (XA), Glucose Oxidase (GO)

*S: significant, ns: Non Significant (P-value < 0.05)

آرد بربری بدین صورت است که در مقادیر مختلف GO با افزایش AM فالینگ نامبر کاهش می‌یابد. بنابراین بایستی مقدار AM بهینه‌یابی شود. مطابق نتایج تحقیق Shafisoltani و همکاران (۲۰۱۴) افزودن AM سبب کاهش فالینگ نامبر می‌شود و نکته‌ای که بایستی توجه شود مقدار افزودن این آنزیم نباید بیش از اندازه باشد؛ چون موجب سست شدن خمیر شده و موجب هدر رفت خمیر حین کار کردن می‌شود [۱].

شکل ۲ تاثیر سطوح مختلف گلوکزاکسیداز و آلفاآمیلاز بر فالینگ نامبر را در آرد نان بربری نشان می‌دهد. همانطور که در نمودار مشاهده می‌شود، اثر افزودن گلوکز اکسیداز و آلفاآمیلاز، در مورد گلوکز اکسیداز خطی و در مورد آلفا آمیلاز بصورت درجه دوم می‌باشد. به این ترتیب که با افزودن گلوکزاکسیداز فالینگ نامبر ثابت می‌ماند و با افزودن آلفا آمیلاز، فالینگ نامبر ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد. کاهش فالینگ نامبر در اثر افزودن آلفا آمیلاز امری بدیهی است. این نتیجه با نتایج شفیع سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) و محمدزاده میلانی و همکاران (۱۳۹۷) مطابقت دارد. اثر همزمان این دو آنزیم بر فالینگ نامبر

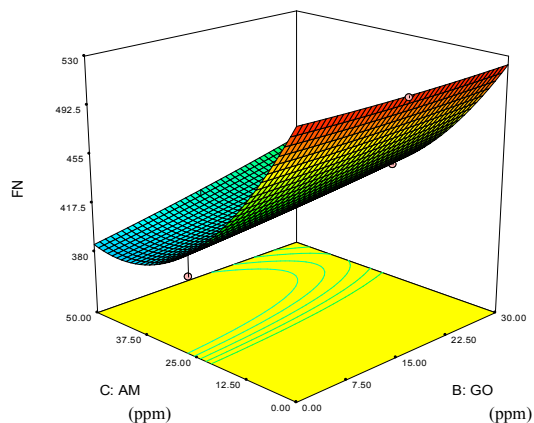


Fig 2 The significant binary effect of AM&GO enzymes on Falling number of Barbary flour

شکل ۱ (a-c) نمودارهای سطح پاسخ عدد فالینگ آرد لوش را نشان می‌دهد. مطابق نمودار 1a، تاثیر سطوح مختلف آلفا آمیلاز و ترانس گلوتامیناز بر فالینگ نامبر را در آرد نان بربری نشان می‌دهد. همانطور که در نمودار مشاهده می‌شود، اثر افزودن آلفا آمیلاز و ترانس گلوتامیناز، در مورد ترانس گلوتامیناز خطی و در مورد آلفا آمیلاز بصورت درجه دوم می‌باشد. به این ترتیب که با افزودن ترانس گلوتامیناز فالینگ نامبر ثابت می‌ماند و با افزودن آلفا آمیلاز، فالینگ نامبر ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد. کاهش فالینگ نامبر در اثر افزودن آلفا آمیلاز قابل پیش بینی بود. دلیل این مساله، شکسته شدن پیوندهای گلیکوزیدی آلفا ۱ به ۴ نشاسته تحت تاثیر آنزیم آلفا آمیلاز و ایجاد مالتودکسترین، الیگوساکاریدها و مالتوتریوزها می‌باشد. که این ترکیبات نیز در صورت ادامه هیدرولیز نشاسته به مالتوز تبدیل می‌شوند. تشکیل مالتوز در نتیجه هیدرولیز پلی ساکارید نشاسته توسط آنزیم آلفا آمیلاز سبب کاهش فالینگ نامبر می‌شود [۱۵].

مطابق شکل 1b، همانطور که در نمودار مشاهده می‌شود، اثر افزودن زایلاناز و ترانس گلوتامیناز، در هر دو مورد بصورت درجه دوم می‌باشد. به این ترتیب که با افزودن زایلاناز و ترانس گلوتامیناز، فالینگ نامبر ابتدا افزایش و سپس کاهش

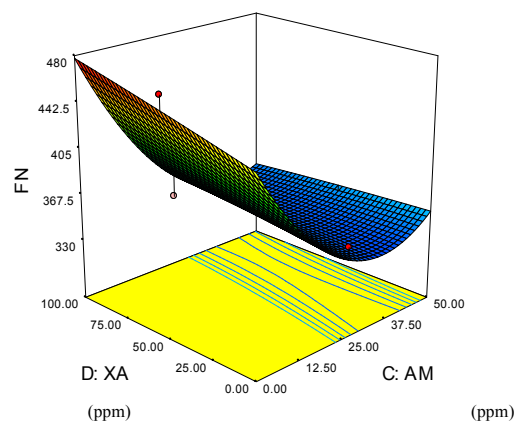
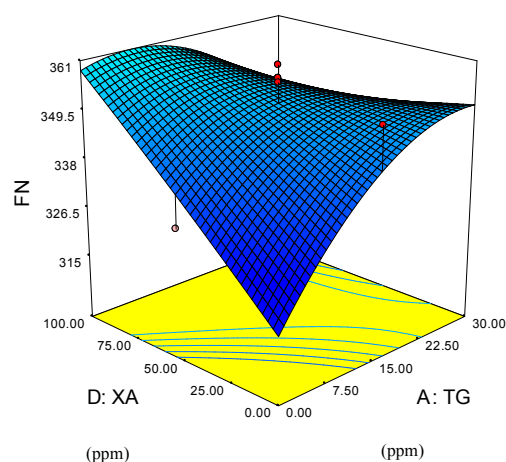
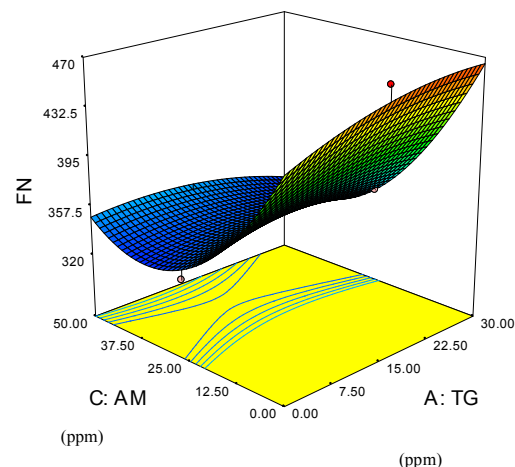


Fig 1 The significant effect of enzymes on Falling number of Lavash flour: a) the binary effect of AM&TG, b) the binary effect of XA&TG, c) the binary effect of XA&AM

با ترکیبی از سه آنزیم کاهش یافت.

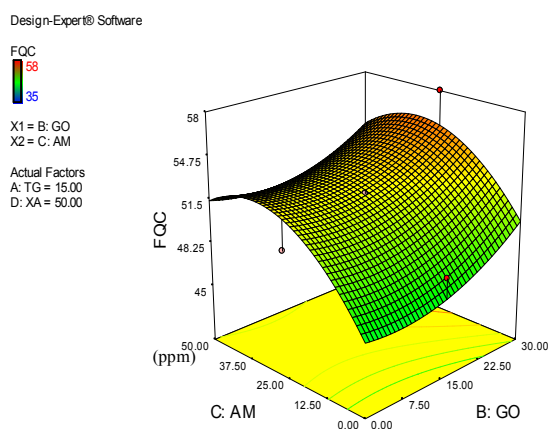
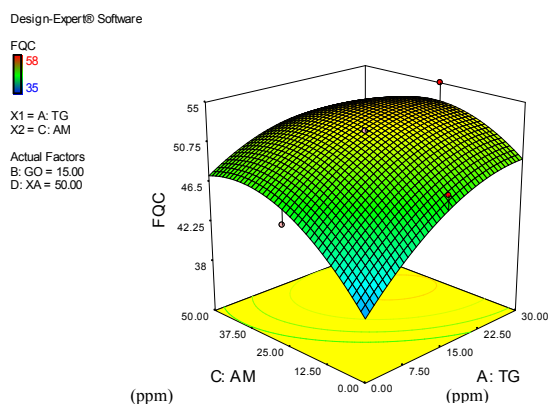
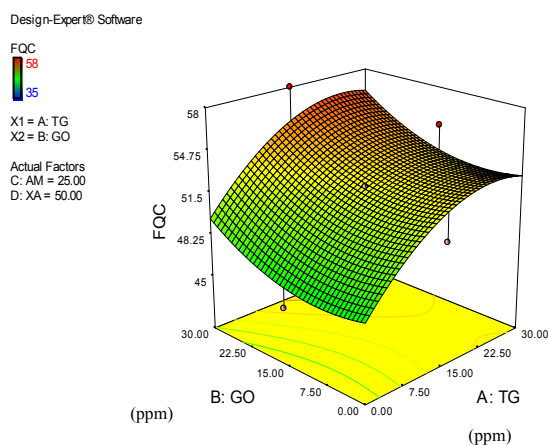


Fig 3 The significant effect of enzymes on FQC of Lavash flour: a) the binary effect of GO&TG, b) the binary effect of AM&TG, c) the binary effect of AM&GO

می‌یابد. این اثر احتمالا مربوط به اثر هم‌افزایی این آنزیم‌ها با آلفا آمیلاز است، چرا که آلفا آمیلاز بر فالینگ نامبر تاثیر گذار است. اثر مثبتی که در اثر افزودن زایلاناز بر رئولوژی خمیر مشاهده شد با نتایج Liu و همکاران (۲۰۱۷) و شفیعی سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) مطابقت داشت.

شکل 1c نیز همانند اثرات قبلی AM بر فالینگ نامبر مشهود است به طوری که در مقادیر متفاوت آنزیم XA با افزایش AM عدد فالینگ کاهش می‌یابد. همانطور که در نمودار مشاهده می‌شود، اثر افزودن آلفا آمیلاز و زایلاناز، در مورد زایلاناز آلفا آمیلاز بصورت خطی می‌باشد. به این ترتیب که با افزودن زایلاناز فالینگ نامبر ثابت می‌ماند و با افزودن آلفا آمیلاز، فالینگ نامبر کاهش می‌یابد که با نتایج شفیعی سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) و محمدزاده میلانی و همکاران (۱۳۹۷) نیز مطابقت دارد.

۴-۳- نتایج افزودن آنزیم‌ها بر جذب آب

فارینوگراف

مطابق جدول ۴ مدل‌های پیشنهادی برای هر دو نمونه آرد لواش و بربری معنی‌دار بود پس رابطه بین متغیرهای مستقل (آنزیم‌های افزوده شده) و متغیر وابسته (فالینگ نامبر) معنی‌دار می‌باشد و F عدم تناسب^۱ غیر معنی‌دار بود که نشان دهنده فیت شدن مناسب داده‌ها با مدل می‌باشد. R^2_{adj} برای هر دو نمونه آرد در حد قابل قبول است و نشان دهنده مناسب بودن مدل رگرسیونی بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته می‌باشد. مطابق مدل پیشنهادی افزودن آلفا آمیلاز موجب کاهش و افزودن زایلاناز موجب افزایش شاخص جذب آب فارینوگراف شد که با نتایج Pescador-Piedra و همکاران (۲۰۰۹) همخوانی دارد. این محققان اعلام کردند افزودن پراکسیداز یا زایلاناز باعث افزایش جذب آب آرد شد، در حالی که ترکیب GO-XA بر آن تأثیری نداشت. جذب آب در آرد اضافه شده

1. Lack of fit

Table 4 Farinograph water absorption results

	The results related to water absorption of of Barbary bread flour	The results related to water absorption of Lavash bread flour
The model suggested by the software	Water Absorption=+55.20992-0.026667 * AM +7.77778E-003 * XA	Water Absorption =+56.87242 -0.022472 * AM+8.04167E-003* XA
F value of the model	28.77 ^s	4.26 ^s
F value of the disproportion	0.71 ^{ns}	181.63 ^s
R ² Value	0.7	0.61
R ² _{adj} Value	0.64	0.54
Significant effects of the enzymes on the model	XA AM	XA AM

*Trans Glutaminase (TG), α-Amylase (AM), xylanase (XA), Glucose Oxidase (GO)

*S: significant, ns: Non Significant (P-value < 0.05)

۴-۴- نتایج افزودن آنزیم بر شاخص کیفی**فارینوگراف**

مطابق جدول ۵ مدل‌های پیشنهادی برای این شاخص معنی‌دار هستند و مقدار R^2_{adj} برای نان لواش ۰/۸۷ است که در حد قابل قبول است و مدل رگرسیونی بخوبی توانست رابطه بین مقدار آنزیم‌ها با شاخص کیفی فارینوگرام را نشان دهد و پیش‌بینی نماید. در هر دو مدل اثر AM و TG معنی‌دار برآورد شده و اثر متقابل این دو آنزیم در آرد نان لواش نیز معنی‌دار است. مطابق شکل ۳b و شکل ۴ در مقادیر بالای AM و TG شاخص FQC در بالاترین مقدار خود است. افزایش AM ابتدا باعث افزایش این شاخص می‌شود سپس باعث کاهش آن می‌شود. مطابق شکل اثر آنزیم آلفا آمیلاز بر شاخص کیفی فارینوگرام افزایشی است که با نتایج شفیعی سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) همخوانی ندارد چرا که بر اساس نتایج ایشان افزودن ۵ پی‌پی‌ام آلفا آمیلاز به آرد موجب کاهش این شاخص شد. همچنین با نتایج Bahrami و همکاران (۲۰۲۲) نیز مطابقت ندارد. تحقیقات این محققان نیز نشان داد وجود آنزیم آلفا آمیلاز منجر به کاهش قابل توجهی در عدد

فارینوگراف می‌شود که این مسئله هم به دلیل شکسته شدن پلیمر نشاسته و هیدرولیز شدن آن رخ می‌دهد. مطابق شکل ۴ آنزیم TG موجب افزایش FQC می‌شود. این یافته با نتایج تحقیق محترمی و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت ندارد زیرا طبق گزارش آنها در میان فاکتورهای مورد مطالعه، آنزیم‌های ترانس گلوتامیناز و آسپاراژیناز اثر معنی‌داری بر ویژگی‌های فارینوگرافی خمیر نداشتند. این مساله ممکن است مربوط به مدت زمان کم اختلاط باشد که در طی این مدت، آنزیم فرصت کافی برای فعالیت را نداشته است. در تحقیق شفیعی سلطانی و همکاران (۲۰۱۴) اثر افزودن آنزیم آلفا آمیلاز قارچی بر ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر توسط دستگاه فارینوگراف بررسی شد و حجم مخصوص و ویژگی‌های حسی نان حجیم حاصل از آن نظیر بافت، رنگ پوسته، شکل نان، بیاتی و دیگر ویژگی‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج بعد از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد افزودن آنزیم آلفا آمیلاز به خمیر سبب کاهش شاخص فارینوگراف می‌شود. پس بنابراین لازم است به دقت مقدار آنزیم‌ها جهت بهترین نتیجه بهینه‌یابی شود.

Table 5 Farinogram qualitative index results

	The results related to the FQC of Barbary bread flour	The results related to the FQC of Lavash bread flour
The model suggested by the software	FQC =+41.47766+0.79134* TG+0.29703 * AM-0.019002*TG2	FQC=+37.66244+0.64428*TG -0.10016*GO+0.46101*AM -5.00000E-003*TG*AM
F value of the model	3.19 ^s	4.32 ^s
R ² Value	0.63	0.95
R ² _{adj} Value	0.53	0.87
Significant effects of the enzymes on the model	TG AM TG ²	TG GO AM TG×AM

*Trans Glutaminase (TG), α-Amylase (AM), xylanase (XA), Glucose Oxidase (GO)

*S: significant, ns: Non Significant (P-value < 0.05)

۴-۵- نتایج افزودن آنزیم بر شاخص P آلئوگراف

نتایج آزمون آلئوگرام و مقادیر شاخص P در جدول ۱ آمده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس و بررسی مدل برای شاخص P آلئوگرام در جدول ۶ آمده است. مطابق جدول ۶ مدل پیشنهادی برای نمونه آرد بربری معنی دار است ولی به دلیل R^2_{adj} پایین (۰/۳۷) مدل چندان مناسبی نمی باشد. از میان آنزیم‌ها تاثیر AM به تنهایی و همچنین اثر دوتایی آنزیم‌های GO و XA بر شاخص P معنی دار بود.

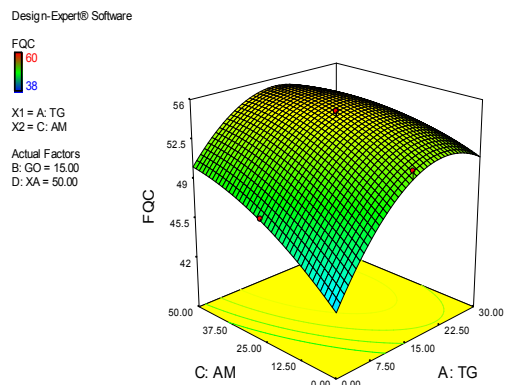


Fig 4 The significant binary effect of AM&TG enzymes on FQC of Barbary flour

Table 6 P index results of alveogram

	The results related to the P index of Barbary bread flour	The results related to the P index of Lavash bread flour
The model suggested by the software	$p = +58.90079 - 0.13750 * AM - 4.58333E-003 * GO * XA$	ns
F value of the model	2.59 ^s	—
R^2_{adj} Value	0.6	—
R^2_{adj} Value	0.37	—
Significant effects of the enzymes on the model	AM GO×XA	—

*Trans Glutaminase (TG), α-Amylase (AM), xylanase (XA), Glucose Oxidase (GO)

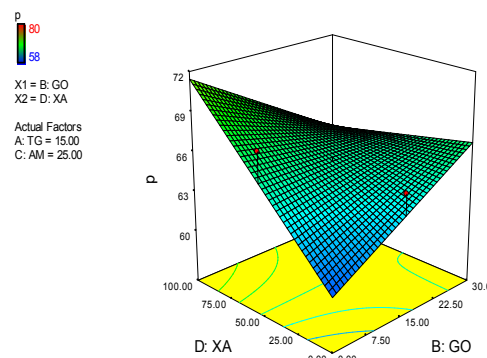
*S: significant, ns: Non Significant (P-value < 0.05)

موضوع نسبت داد. قوی شدن خمیر ویژگی مطلوبی است به شرط آنکه مانع ورآمدن خمیر بخصوص در نان بربری نشود پس بنابراین بایستی از کشسانی خوبی نیز برخوردار باشد. می توان نتیجه گرفت اثر این دو آنزیم نیز وابسته به دوز است و بایستی به دقت تعیین شود. شفیعی سلطانی و همکاران (۲۰۱۴) نیز نتیجه گرفتند که افزودن ترکیبی از آنزیم‌های گلوکز اکسیداز و زایلاناز به آرد ضعیف خمیر نان می تواند به عنوان یک اقدام اصلاحی برای کاهش مشکلات خمیر ناشی از استفاده از آنزیم‌های آمیلاز استفاده شود (افزودن آمیلاز قارچی بیش از حد به آرد منجر به کاهش شدید پایداری خمیر می شود) این مطالعه نشان داد که اثرات گلوکز اکسیداز و زایلاناز وابسته به مقدار است و لازم است مقادیر بهینه آنزیم‌ها قبل از افزودن به آرد تعیین شود. ترکیب سطوح بهینه سه آنزیم منجر به تولید خمیری با چسبندگی کم و نانی با حجم مخصوص بالاتر، بافت با کیفیت بالاتر، شکل بهتر و نمره کل بالاتر در آزمون ارزیابی حسی نسبت به نمونه شاهد (بدون آنزیم) شد [۱].

افزایش AM موجب کاهش شاخص P آلئوگرام می شود. مطابق شکل ۵، اثر GO افزایشی است. یعنی با افزودن گلوکز اکسیداز شاخص P آلئوگراف افزایش می یابد که با نتایج Salehifar و همکاران (۲۰۱۴) و Renzetti و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت دارد. این افزایش را می توان به تشکیل پیوندهای بین و درون شبکه پلی پپتیدی خمیر نسبت داد که موجب افزایش مقاومت خمیر و در نهایت افزایش فشار وارده بر خمیر می شود. همچنین می توان به اکسید شدن اسید فرولیک آرابینوکسیلان‌ها (آرابینوزایلان) و انعقاد و ایجاد اتصالات عرضی بین آن‌ها نسبت داد. مطابق شکل ۵ و مدل اثر آنزیم زایلاناز بر شاخص P آلئوگراف افزایشی است. این قسمت از نتایج با نتایج Salehifar و همکاران (۲۰۱۴) همخوانی ندارد. طبق اعلام این مولف بین آنزیم زایلاناز و فشار وارد بر خمیر رابطه عکس وجود دارد. البته بایستی در نظر داشت چون زایلان‌ها در آردهای مختلف متفاوت هستند تأثیر زایلاناز نیز متفاوت خواهد شد. احتمالاً دلیل این مساله را می توان به این

گردید. در مقادیر بالای AM و TG، شاخص فارینوگراف در بالاترین مقدار خود قرار گرفت. افزایش AM موجب کاهش و افزایش GO و XA هر یک به تنهایی موجب افزایش شاخص P آلونوگرام شد. دو آنزیم گلوکز اکسیداز و ترانس گلوتامیناز در هر دو نوع آرد نان تاثیر مثبت داشت. در آرد مورد استفاده برای نان لواش آنزیم آلفا آمیلاز نیز در مقادیر بالا توانایی بهبود ویژگی های رئولوژیکی از خود نشان داد ولی تاثیر آنزیم XA در نان بربری معنی‌دار نبود در حالیکه در نان لواش تا حدودی توانست اثرات بهبود دهندگی به خمیر بیافزاید.

Design-Expert® Software



(ppm)

Fig 5 The significant binary effect of XA&GO enzymes on P Index of alveogram of Barbary flour

این نتایج با نتایج حاصل از تحقیقات Liu و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت داشت که نشان می دهد که افزودن یک آنزیم به تنهایی و ترکیبی از آنزیم‌ها (آلفا آمیلاز، زایلاناز و سلولاز) می‌تواند کشش‌پذیری^۱، نرم شدن^۲، شاخص تحمل اختلاط^۳ (MTI) و چسبندگی^۴ را افزایش دهد، در حالی که مقاومت در برابر گسترش^۵ را کاهش می‌دهد. به دلیل همبستگی بالای داده های مربوط به مقاومت در برابر کشش و شاخص P می‌توان نتیجه گرفت که این نتایج با یکدیگر ارتباط مستقیمی دارند.

۵- نتیجه گیری

با توجه به اینکه کنترل شرایط جوی و عوامل دیگر موثر بر کیفیت گندم دشوار می باشد، اصلاحات آرد گندم بیشتر ترجیح داده می‌شود. استفاده از آنزیم‌ها یکی از راه‌های بهبود و ارتقای کیفیت گلوتن آرد می باشد که بر روی کیفیت محصول نیز موثر خواهد بود. اثر آنزیم‌ها در بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر وابسته نوع آنزیم، میزان آنزیم و همچنین نوع آرد مورد استفاده قرار دارد. نتایج استفاده از چهار آنزیم آنزیم‌های گلوکز اکسیداز، ترانس گلوتامیناز، α -آمیلاز و زایلاناز به صورت تکی و ترکیبی بر خواص رئولوژیکی خمیر نان بربری و لواش نشان دهنده تاثیر کاهشی آلفا آمیلاز بر عدد فالینگ نامبر می باشد. افزودن آلفا آمیلاز موجب کاهش و افزودن زایلاناز موجب افزایش شاخص جذب آب فارینوگراف

1. extensibility
2. softening
3. Mixing tolerance index
4. stickiness
5. resistance to extension

۶- منابع

- [1] Shafisoltani, M., Salehifar, M., & Hashemi, M. (2014). Effects of enzymatic treatment using response surface methodology on the quality of bread flour. Food chemistry, 148, 176-183.
- [2] G Gujral, H. S., & Singh, N. (1999). Effect of additives on dough development, gaseous release and bread making properties. Food research international, 32(10), 691-697.
- [3] Liu, W., Brennan, M. A., Serventi, L., & Brennan, C. S. (2017). Effect of cellulase, xylanase and α -amylase combinations on the rheological properties of Chinese steamed bread dough enriched in wheat bran. Food chemistry, 234, 93-102.
- [4] Meerts, M., Van Ammel, H., Meeus, Y., Van Engeland, S., Cardinaels, R., Oosterlinck, F., ... & Moldenaers, P. (2017). Enhancing the rheological performance of wheat flour dough with glucose oxidase, transglutaminase or supplementary gluten. Food and Bioprocess Technology, 10(12), 2188-2198.
- [5] Fallahi, P., Habte-Tsion, H. M., & Rossi, W. (2018). Depolymerizing enzymes in human food: bakery, dairy products, and drinks. In Enzymes in human and animal nutrition (pp. 211-237). Academic Press.
- [6] Dahiya, S., Bajaj, B. K., Kumar, A., Tiwari, S. K., & Singh, B. (2020). A review on biotechnological potential of multifarious enzymes in bread making. Process Biochemistry, 99, 290-306.
- [7] Selinheimo, E., Kruus, K., Buchert, J., Hopia, A., & Autio, K. (2006). Effects of laccase, xylanase and their combination on

- [17] Pescador-Piedra, J. C., Garrido-Castro, A., Chanona-Pérez, J., Farrera-Rebollo, R., Gutiérrez-López, G., & Calderon-Dominguez, G. (2009). Effect of the addition of mixtures of glucose oxidase, peroxidase and xylanase on rheological and breadmaking properties of wheat flour. *International Journal of Food Properties*, 12(4), 748-765.
- [18] Bahrami, N., Nasrollah Zadeh, A. and Hariri, A., (2022). The evaluation of the effect of adding alpha-amylase and sodium alginate on the rheological properties of bread dough. *Journal of food science and technology(Iran)*. 19(122): p. 223-235 (In Persian).
- [19] Mohtarami, F., Esmaili, M., Alizadeh, M., & Ardabili, S. S. (2015). Improvement of the rheological properties of dough using transglutaminase and asparaginase enzymes, whey powder and inulin. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11(4), 445. (In Persian).
- [20] Salehifar, M., Shafisoltani, M., Hashemi, M., 2014. Evaluation of the effect of using glucose oxidase and xylanase enzymes on Toast bread flours characteristics. *Journal of food science and technology(Iran)*. 11(43): p. 135-147.
- [21] Renzetti, S., & Rosell, C. M. (2016). Role of enzymes in improving the functionality of proteins in non-wheat dough systems. *Journal of Cereal Science*, 67, 35-45.
- [22] Bankar, S. B., Bule, M. V., Singhal, R. S., & Ananthanarayan, L. (2009). Glucose oxidase—an overview. *Biotechnology advances*, 27(4), 489-501.
- [23] Nevsky, A. A., Tsurikova, N. V., Dremucheva, G. F., Nosova, M. V., Velikoretskaya, I. A., & Borodulin, D. M. (2018, December). Effect of enzyme preparations with Endo-Xylanase and Exo-Peptidase activities on the bread quality, dough properties and fractional composition of wheat gluten proteins. In *International scientific and practical conference" Agro-SMART-Smart solutions for agriculture"(Agro-SMART 2018)* (pp. 106-112). Atlantis Press.
- the rheological properties of wheat doughs. *Journal of Cereal Science*, 43(2), 152-159.
- [8] Dahiya, S. and Singh, B. 2019. Microbial xylanases in bread making. p. 140-149.
- [9] Caballero, P. A., Gómez, M., & Rosell, C. M. (2007). Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. *Journal of food engineering*, 81(1), 42-53.
- [10] Bagagli, M. P., Jazaeri, S., Bock, J. E., Seetharaman, K., & Sato, H. H. (2014). Effect of transglutaminase, citrate buffer, and temperature on a soft wheat flour dough system. *Cereal Chemistry*, 91(5), 460-465.
- [11] Scarnato, L., Montanari, C., Serrazanetti, D. I., Aloisi, I., Balestra, F., Del Duca, S., & Lanciotti, R. (2017). New bread formulation with improved rheological properties and longer shelf-life by the combined use of transglutaminase and sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, 81, 101-110.
- [12] Chang, S. Y., Delwiche, S. R., & Wang, N. S. (2002). Hydrolysis of wheat starch and its effect on the falling number procedure: mathematical model. *Biotechnology and bioengineering*, 79(7), 768-775.
- [13] Ghamari, M., Peighambaroust, S.H., and Rashmeh Karim, K. (2009). Application of farinograph quality number (FQN) in evaluating baking quality of wheat. *Food Science & Technology*. 6 (21) p. 23-33 (In Persian).
- [14] Mirza Alizadeh, A., Peivasteh Roudsari, L., Tajdar Oranj, B., Beikzadeh, S., Barani Bonab, H., & Jazaeri, S. (2022). Effect of Flour Particle Size on Chemical and Rheological Properties of Wheat Flour Dough. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, 41(2), 682-694 (In Persian).
- [15] Shafisoltani, M., Salehifar, M. and Hashemi M., 2014. Effects of the use of fungal alpha-amylase enzyme on the quality characteristics of dough and toas bread. *Journal of innovation in Food Science & Technology*. 6(2): p. 43-54 (In Persian).
- [16] Mohammadzadeh Milani, J., Sedighi, N., Mirzayi, H.A., (2018). The effect of sprouted and normal soybean flour on the quality of Berberi bread. *Food processing and storage*. 10(1): p. 73-84 (In Persian).



Investigating the effects of adding glucose oxidase, α -amylase, transglutaminase and xylanase enzymes on the rheological properties of Barbary and Lavash flour using the response surface method

Mirzaei tash, O. ¹, Gharekhani, M. ^{2*}, Mirzaei, H. ³, Javadi, A. ³

1. Ph.D. Student of Food Science and Technology, Faculty of Food science and technology, Mamaqan branch, Islamic Azad University, Mamaqan, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received 2022/ 10/ 04 Accepted 2022/ 12/ 05 Keywords: Glucose oxidase, α-amylase, Trans-glutaminase, Xylanase, Rheological properties, Flour. DOI: 10.22034/FSCT.19.131.117 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.11.2 *Corresponding Author E-Mail: m.gharekhani@iaut.ac.ir	Bread is the main food in providing energy and protein in the diet of Iranian society. Therefore, the consumed bread must be of good quality, and one of the effective factors in its quality is the consumed flour gluten quality and quantity, which unfortunately, these factors are not desirable for wheat produced in Iran. One of the ways to decrease this problem is to use enzymes in the bread production flour. In this research, the effects of adding glucose oxidase (GO) and trans glutaminase (TG) enzymes in amounts of 0 to 30 ppm, α-amylase (AM) in amounts of 0 to 50 ppm and xylanase (XA) in amounts of 0 to 100 ppm on rheological properties of the Barbary and Lavash bread dough were prepared and analyzed using the response surface method (RSM) and the properties of the resulting dough were studied by farinograph, Falling number and alveograph rheological tests. The results of statistical analysis using Design Expert software showed that in different amounts of TG and GO, increasing AM caused a decrease in falling number. AM and XA decreased the amount of water absorption based on farinograph, but their interaction was not significant. At high amounts of AM and TG, farinograph index (FQC) was at its highest value. The increase of AM decreased the P index of the alveogram, whereas, the increase of GO and XA when used individually increased this parameter. The interaction effect of the last two enzymes was also significant and the median value of both which decreased P index. In Barbary and Lavash bread, the values of TG and GO in the maximum amounts (30 ppm) and AM in the values of 16 and 23 ppm were the most effective. The effect of XA enzyme was not significant in Barbary bread, but 23 ppm of XA showed a positive effect in Lavash bread.