# بررسی تاثیر اصلاح کننده آنزیمی بر خواص رئولوژیکی و کیفیت گلوتن خمیر نان حاصل از آرد با شاخص گلوتن ضعیف

**مهرناز سرپرست[a]، بابک غیاثی طرزی[b*]**

[a] *دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*
[b] *دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*



تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۹/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۱۳

## چکیده

**مقدمه:** در سال‌های اخیر کیفیت نان‌های ایرانی به شدت کاهش یافته است. یکی از دلایل آن پایین بودن کیفیت گلوتنی آرد تهیه شده از گندم‌های تولید داخلی می‌باشد، که باید به کمک روش‌های ویژه‌ای بهبود یابد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش از ترکیب سه آنزیم ترانس گلوتامیناز، گلوکزاکسیداز و فسفولیپاز استفاده شد. جهت انتخاب بهترین مقدار ترکیب این سه آنزیم، از روش سطح پاسخ (RSM)، طرح (Optimal)، استفاده گردید. خصوصیات رئولوژیکی خمیر به کمک دستگاه میکسولب و شاخص گلوتن توسط سانتریفیوژ کردن گلوتن مرطوب، برای کلیه تیمارها ارزیابی گردید.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که با افزایش هم‌زمان آنزیم‌های گلوکز اکسیداز و فسفولیپاز، مدت زمان گسترش خمیر (C1) افزایش معنی‌دار ($p<0.01$) داشت که بیانگر اثر سینرژیستی این دو آنزیم بر C1 نمونه‌ها بود. همچنین با افزایش میزان آنزیم ترانس گلوتامیناز مدت زمان گسترش خمیر، گشتاور لازم جهت در هم شکستن شبکه پروتئینی (C2)، میزان جذب آب افزایش معنی‌دار ($p<0.05$) داشت که نشان دهنده اثر مثبت این آنزیم در بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر می‌باشد. تاثیر معنی‌داری نیز در شاخص گلوتن با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز ($p<0.01$) و افزایش آنزیم گلوکز اکسیداز ($p<0.05$) مشاهده گردید که نشان دهنده تبدیل گلوتن نرم با کشش زیاد به گلوتن سفت با الاستیسیته مطلوب می‌باشد.

**نتیجه‌گیری:** میزان بهینه آنزیم‌ها میزان ۳۰ پی پی ام ترانس گلوتامیناز، ۱۵ پی پی ام گلوکز اکسیداز و ۱۳/۱۶ پی پی ام فسفولیپاز به دست آمد.

***واژه‌های کلیدی:*** *ترانس گلوتامیناز، خمیر نان، شاخص گلوتن، فسفولیپاز، گلوکزاکسیداز*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: babakghiassi@hotmail.com

## مقدمه

اغلب گندم‌های تولید شده در ایران به دلیل نوع خاک و شرایط جغرافیایی کشور، دارای کیفیت پایین گلوتن می‌باشند به گونه‌ای که شبکه گلوتنی در خمیر حاصل از آن‌ها توانایی نگهداری گازهای تولیدی در اثر فعالیت مخمرها را ندارد و در زمان تخمیر سبب از هم گسسته شدن خمیر می‌شود و گازهای تولیدی در اثر فعالیت مخمرها به‌جای آنکه صرف افزایش راندمان و تردی و افزایش حجم خمیر شوند به هدر خواهد رفت (Salehifar *et al*., 2011).

بدین منظور برای بهبود خصوصیات نان و محصولات حاصل از آردهای با ویژگی‌های نامناسب از بهبود دهنده‌ها یا اصلاح‌کننده‌های آنزیمی استفاده می‌گردد. تقریباً ۸ درصد از فروش آنزیم‌ها، در صنایع غلات می‌باشد که نشان از کاربرد بی‌نظیر آن‌ها است .ترکیبات آنزیمی می‌توانند جایگزین مناسبی برای افزودنی‌های شیمیایی در صنعت نان باشند(Moayedallaie *et al*., 2010).

گلوکز اکسیداز (EC 1.1.3.4) یک ماده جایگزین برای عوامل اکسید کننده شیمیایی در تولید نان می‌باشد که باعث اکسیداسیون سریع و مؤثر می‌شود ( Hanft & Koehler. 2006). در حضور اکسیژن مولکولی، این آنزیم باعث کاتالیز اکسیداسیون بتا-دی-گلوکز به دی-گلوکونیک اسید و هیدروژن پراکسید می‌گردد ( Tebben *et al*., 2018). پراکسید هیدروژن تولید شده می‌تواند به طور غیر مستقیم موجب تشکیل پیوندهای دی سولفیدی یا اتصالات عرضی دی تیروزینی یا هردو شود ( Tilley *et al*., 2001).

آنزیم ترانس گلوتامیناز (EC 2.3.2.13) جزء آنزیم‌های ترانسفراز می‌باشد که به‌طور گسترده در پستانداران، گیاهان، ماهی‌ها و میکروارگانیسم‌ها توزیع شده است. (Leszczynska *et al*., 2006). ترانس گلوتامیناز از یک جنس باکتریایی به نام *استرپتوورتیسیلیوم*[1]، استخراج و خالص سازی می‌شود (Kuraishi *et al*., 2001). این آنزیم واکنش انتقال گروه آسیل بین گروه کربوکسی آمید اسید آمینه گلوتامین و گروه آمینو اسید آمینه لیزین بین پروتئین‌ها را کاتالیز می‌کند که در نتیجه پلیمرهای پروتئینی با وزن مولکولی بالا ساخته می‌شوند ( Joye *et al*., 2009). بخش‌های با وزن مولکولی بالای گلوتنین بیشتر تحت تأثیر ترانس گلوتامیناز قرار می‌گیرند در حالی که گلیادین‌ها کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرند ( Autio *et al*., 2005).

کراس لینک نمودن گلوتن با این آنزیم موجب تقویت شبکه گلوتنی شده و در نتیجه قدرت و الاستیسیته ی خمیر افزایش می‌یابد (Huang *et al*., 2008). لیپازها ( EC 3.1.13) یا تری گلیسرول آسیل هیدرولازها، تری آسیل گلیسرول‌ها (TAG) را هیدرولیز کرده و مونوآسیل گلیسرول‌ها (MAG)، دی آسیل گلیسرول‌ها (DAG)، گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد را تولید می‌کنند. ( Miguel *et al*., 2013).

دوسوم لیپیدهای آرد گندم، لیپیدهایی هستند که به نشاسته متصل نشده و یک سوم نیز به لیپیدهای متصل به نشاسته هستند. لیپیدهای نشاسته‌ای از لیزوفسفولیپیدها تشکیل شده‌اند که با هلیس‌های آمیلوز نشاسته تشکیل کمپلکس می‌دهند. تنها لیپیدهای غیر نشاسته‌ای هستند که در طی پخت فعال هستند ( Schaffarczyk *et al*., 2014).

در سال ۲۰۱۰ Steffolani و همکاران، به بررسی اثر آنزیم گلوکز اکسیداز، ترانس گلوتامیناز و پنتوزاناز بر پروتئین‌های گندم پرداختند و اثر آن‌ها را بر کیفیت خمیر نان تولیدی بررسی نمودند. گلوکز اکسیداز باعث کاهش گروه‌های سولفیدریل آزاد، افزایش ماکروپلیمر گلوتنین شد و الگوی الکتروفورتیک[2] بخش‌های پروتئین را تغییر داد. ترانس گلوتامیناز نیز باعث کاهش ماکروپلیمر گلوتنین شد. با این‌حال باعث تشکیل تجمعات پروتئینی بزرگ گردید. خمیر تولید شده از آرد تیمار شده با ترانس گلوتامیناز نیز دارای مقاومت بالایی بوده است ( Steffolani *et al*., 2010).

Colakoglu & Ozkaya در سال ۲۰۱۲، اثر دو نوع لیپاز و DATEM در غلظت‌های مختلف بر روی خواص رئولوژیکی و ویژگی‌های حرارتی خمیر آرد سفید و آرد کامل گندم توسط فارینوگراف، اکستنسوگراف، بافت سنج و کالریمتری مشخص شد. لیپاز نتایج مشابه یا برتری، نسبت به DATEM بر روی کاهش درجه نرم شدن و چسبندگی

[1] *Streptoverticillium*

[2] Electrophoretic pattern

و افزایش پایداری، حداکثر مقاومت در برابر کشیدگی و سختی داشت. توسعه‌پذیری و نیرو در حضور لیپاز تغییر پیدا نکرد، اما با افزودن DATEM کاهش پیدا کرد. (Colakoglu & Ozkaya, 2012).

وجود یک آنزیم ترانسفراز در کنار یک آنزیم اکسید کننده، با ایجاد پیوند کوالانسی بین گروه‌های کربوکسیل و آمین می‌تواند کاهش عملکرد آنزیم‌های اکسید کننده و بهبود دهنده‌های متداول شیمیایی همانند اسید اسکوربیک که در غیاب اکسیژن کاهش عملکرد تقویت‌کنندگی باندهای دی سولفیدی را دارند، پوشش دهد. با توجه به بررسی مطالعات پیشین مشخص گردید که تاکنون پژوهشی که در آن از یک آنزیم اکسیدکننده (گلوکز اکسیداز) و یک آنزیم ترانسفراز (ترانس گلوتامیناز) در کنار یک بیوامولسیفایر (فسفولیپاز) به صورت ترکیبی و با هدف تقویت شبکه گلوتنی، به کمک روش سطح پاسخ (RSM)[1] بهینه‌سازی نگردیده‌است؛ بنابراین تحقیق حاضر اولین پژوهش در این زمینه بوده‌است.

## مواد و روش‌ها

گندم مورد استفاده در پژوهش حاضر از واریته گندم سن زده تولید داخلی (رقم سرداری با۱٪ سن زدگی) از شرکت غله و خدمات بازرگانی منطقه ۷ رشت تهیه گردید و در شرکت آرد آذر گندم رشت با ۲۲ درصد سبوس‌گیری به آرد ستاره تبدیل شد ویژگی های شیمیایی آرد شامل میزان رطوبت در آرد شاهد به روش آون مطابق روش AACC[2] به شماره (۱۶– ۴۴)، میزان پروتئین مطابق روش دستگاهی NIT[3] ساخت شرکت اینفراکانت[4] مجارستان طبق استاندارد AACC به شماره (۱۰–۳۹)، خاکستر به روش کوره مطابق روش AACC به شماره (۰۱–۰۸)، میزان گلوتن مرطوب توسط دستگاه گلوتن شوی شرکت پرتن[5] سوئد مطابق روش AACC به شماره (۱۲–۳۸)، کیفیت گلوتن با استفاده از دستگاه سانتریفوژ شرکت پرتن سوئد مطابق روش AACC به شماره (۱۲–۳۸)، عدد زلنی مطابق روش AACC به شماره (۱۱–۵۶)، میزان نشاسته آسیب دیده به کمک دستگاه SD matic ساخت شرکت شوپن[6] فرانسه مطابق روش AACC به شماره (76-33.01)، عدد فالینگ با استفاده از دستگاه فالینگ نامبر ساخت شرکت باستاک[7] ترکیه مطابق روش AACC به شماره (۸۱–۵۶) و اندازه ذرات آرد مطابق با روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۳ اندازه‌گیری شد (AACC, 1999). در این تحقیق از آنزیم‌های گلوکز اکسیداز منشاء قارچی با فعالیت آنزیمی ۱۰۰۰۰ u/g، فسفولیپاز با منشاء قارچی با فعالیت آنزیمی ۲۲۵۰۰ u/g از شرکت بریتک[8] هلند و آنزیم ترانس گلوتامیناز منشاء میکروبی با فعالیت آنزیمی ۱۲۵–۸۰ u/g از شرکت بی دی اف[9] اسپانیا استفاده‌گردید. حداقل و حداکثر محدوده پیشنهاد شده توسط شرکت سازنده آنزیم‌ها مورد استفاده قرارگرفت. محدوده در نظر گرفته شده برای سطوح آنزیم گلوکز اکسیداز حداقل ۵ و حداکثر ۱۵ پی پی ام، برای آنزیم فسفولیپاز حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۵ پی پی ام و برای آنزیم ترانس‌گلوتامیناز حداقل ۱۰ و حداکثر۳۰ پی پی ام بوده است. به‌منظور تعیین غلظت‌های بهینه آنزیم‌های گلوکز اکسیداز، فسفو لیپاز و ترانس گلوتامیناز، از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت 10، روش سطح پاسخ، طرح Optimal استفاده گردید. دامنه متغیرهای مستقل و سطوح آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده‌است.پس از افزودن ترکیبات مختلف آنزیم‌های گلوکز اکسیداز، فسفولیپاز و ترانس‌گلوتامیناز به آردها (بر اساس مقادیر تعیین شده توسط نرم‌افزار) ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر آن‌ها با استفاده از دستگاه میکسولب[10] ساخت کشور شوپن فرانسه مطابق با روش AACC به شماره (۶۰–۵۴) اندازه‌گیری شد (AACC, 1999). شاخص گلوتن نیز برای کلیه تیمارها مطابق با روش AACC به شماره (۱۲–۳۸) تعیین گردید.

ویژگی‌های کیفی خمیر و شاخص گلوتن آرد فاقد آنزیم (نمونه شاهد) در کنار تیمارهای مذکور (آردهای دارای مقادیرمتفاوت آنزیم‌ها) مطابق طرح اپتیمال اندازه‌گیری شد و نتایج آن با نتایج خمیر حاوی مقادیر متفاوت آنزیم‌ها مقایسه شد.

[1] Response Surface Methodology
[2] American Association of Cereal Chemists
[3] Near-Infrared Transmittance
[4] Infracont
[5] Perten
[6] Chopin
[7] Bastak
[8] Breatec
[9] BDF
[10] Mixolab

**جدول ۱ – مقادیر متفاوت آنزیم‌های فسفولیپاز، گلوکز اکسیداز، ترانس گلوتامیناز مطابق طرح اپتیمال**

| ردیف | فسفولیپاز (ppm) | گلوکز اکسیداز (ppm) | ترانس گلوتامیناز (ppm) |
|---|---|---|---|
| ۱ | ۱۵ | ۱۵ | ۱۶ |
| ۲ | ۱۵ | ۱۵ | ۳۰ |
| ۳ | ۱۲/۷۸ | ۱۴/۹۵ | ۲۳/۲۰ |
| ۴ | ۱۰ | ۵ | ۳۰ |
| ۵ | ۱۲/۲۴ | ۵/۲ | ۱۹ |
| ۶ | ۱۲/۲۵ | ۱۰/۵ | ۲۹/۶ |
| ۷ | ۱۴/۹ | ۱۰/۵ | ۱۹ |
| ۸ | ۱۰/۱۳ | ۹/۱۵ | ۲۱/۷ |
| ۹ | ۱۲/۲۴ | ۵/۲ | ۱۹ |
| ۱۰ | ۱۳/۱۵ | ۱۵ | ۱۰ |
| ۱۱ | ۱۲/۲۴ | ۵/۲ | ۱۹ |
| ۱۲ | ۱۵ | ۵ | ۱۰ |
| ۱۳ | ۱۰ | ۸/۷۵ | ۱۰ |
| ۱۴ | ۱۰ | ۱۵ | ۱۰ |
| ۱۵ | ۱۲/۹۳ | ۹/۱۵ | ۱۰/۶ |
| ۱۶ | ۱۲/۲۵ | ۱۰/۵ | ۲۹/۶ |
| ۱۷ | ۱۵ | ۵ | ۳۰ |
| ۱۸ | ۱۴/۹ | ۱۰/۵ | ۱۹ |
| ۱۹ | ۱۲/۲۵ | ۱۰/۵ | ۲۹/۶ |
| ۲۰ | ۱۰ | ۱۵ | ۲۲/۵ |





**– تجزیه تحلیل آماری**

در این طرح تیمارهای فرایند به روش سطح پاسخ اپتیمال برای سه متغیر عددی انجام شدند به صورتی که تعداد کل تیمارها نیز ۲۰ تیمار شد. نتایج پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری (Design-Expert version 10) به روش سطح پاسخ (R.S.M) آنالیز شد و هر یک از متغیرهای پاسخ در قالب مدل رگرسیون چند جمله‌ای زیر به صورت تابعی از متغیرهای مستقل ارائه شدند:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3}\beta_i x_i + \sum_{i=1}^{3}\beta_{ij} x_i^{\,2} + \sum_{i=1}^{2}\sum_{j=i+1}^{3}\beta_{ij} x_i x_j$$

که در آن Y عبارت است از متغیر تابع یا پاسخ ، X2، X1 و X3 سطوح کدبندی شده متغیرهای مستقل، k مقدار ثابت (مقدار پاسخ در حالتی که متغیرهای مستقل در نقطه مرکزی یعنی صفر قرار دارند)، C, B, A به ترتیب اثرات خطی آنزیم‌های ترانس گلوتامیناز (TG)، گلوکز اکسیداز (GO) و فسفولیپاز (PG)، B2, A2 و C2 اثرات درجه دوم و سایر ضرایب اثرات متقابل می‌باشند. با استفاده از جدول آنالیز واریانس (ANOVA) معنی‌دار بودن اثرات خطی، درجه دوم و متقابل ضرایب مدل رگرسیون برای هر پاسخ در سطوح ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ بررسی گردید. آزمون‌های مربوط به ویژگی‌های شیمیایی آرد شاهد در سه تکرار انجام گرفت و نتایج ارایه شده میانگین سه تکرار می باشند.

## یافته‌ها

**– ویژگی‌های شیمیایی آرد شاهد**

ویژگی‌های شیمیایی آرد مورد استفاده در جدول ۲ نشان داده شده‌است.

**– نتایج حاصل از آزمون‌های انجام شده بر روی خمیر**

نتایج حاصل از دستگاه میکسولب در جدول ۳ و معادله سطح پاسخ هر پارامتر در جدول۴ نشان داده شده‌است.

**جدول ۲- ویژگی‌های آرد شاهد مورد مطالعه در این پژوهش**

| ویژگی | مقدار |
|---|---|
| رطوبت (درصد) | ۱۳/۹۱ ± ۰/۰۵ |
| پروتئین (درصد وزنی بر مبنای ماده خشک) | ۱۰/۹ ± ۰/۱ |
| خاکستر (درصد وزنی بر مبنای ماده خشک) | ۰/۷۱ ± ۰/۰۱ |
| گلوتن (درصد) | ۲۸/۳۳ ± ۰/۲۰ |
| شاخص گلوتن(درصد) | ۵۲ ± ۱/۰ |
| زلنی (میلی لیتر) | ۲۰ ± ۱/۰ |
| نشاسته آسیب دیده (UCDC) | ۱۸/۹۶ ± ۰/۵۶ |
| عدد فالینگ (ثانیه) | ۴۵۸/۶۷ ± ۹/۰۷ |

**جدول ۳ مقادیر متغیرهای پاسخ به ترتیب تیمارها**

| تیمار | C1 (min) | C2 (Nm) | Stability (min) | Hydration (%) | Gluten Index (w/w) |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۳/۱۷ | ۰/۴۷ | ۷/۳۲ | ۵۶ | ۶۸ |
| ۲ | ۳/۸ | ۰/۴۶ | ۷/۱۵ | ۵۶ | ۶۸ |
| ۳ | ۳/۰۵ | ۰/۴۶ | ۶/۸۳ | ۵۶ | ۶۹ |
| ۴ | ۳/۲۲ | ۰/۴۷ | ۶/۴۵ | ۵۶ | ۶۸ |
| ۵ | ۳/۰۵ | ۰/۴۹ | ۵/۹۳ | ۵۵/۱ | ۶۴ |
| ۶ | ۲/۸۵ | ۰/۴۸ | ۶/۳۲ | ۵۵/۲ | ۶۹ |
| ۷ | ۳/۰۳ | ۰/۴۷ | ۶/۳۷ | ۵۵/۲ | ۶۸ |
| ۸ | ۳/۰۲ | ۰/۴۸ | ۵/۷۲ | ۵۵/۲ | ۶۹ |
| ۹ | ۳/۱۲ | ۰/۴۶ | ۶/۳۸ | ۵۵/۲ | ۶۵ |
| ۱۰ | ۳/۱ | ۰/۴۵ | ۶/۳ | ۵۴/۳ | ۶۲ |
| ۱۱ | ۳/۷۳ | ۰/۴۷ | ۶/۰۸ | ۵۵/۲ | ۶۸ |
| ۱۲ | ۳/۰۳ | ۰/۴۷ | ۵/۷۸ | ۵۴/۳ | ۶۱ |
| ۱۳ | ۲/۳۷ | ۰/۴۷ | ۵/۵۳ | ۵۴ | ۶۲ |
| ۱۴ | ۲/۸۵ | ۰/۴۸ | ۶/۹۸ | ۵۴ | ۶۴ |
| ۱۵ | ۲/۸۵ | ۰/۴۶ | ۶/۱۸ | ۵۴ | ۶۳ |
| ۱۶ | ۳ | ۰/۴۸ | ۵/۸۳ | ۵۳ | ۷۳ |
| ۱۷ | ۳/۲۵ | ۰/۴۶ | ۵/۸۲ | ۵۴ | ۷۰ |
| ۱۸ | ۲/۹۳ | ۰/۵۰ | ۵/۷۸ | ۵۳ | ۶۹ |
| ۱۹ | ۳/۳۲ | ۰/۴۸ | ۶/۲۸ | ۵۳/۵ | ۷۲ |
| ۲۰ | ۲/۷۳ | ۰/۴۸ | ۶/.۷ | ۵۳/۵ | ۷۱ |
| نمونه شاهد | ۲/۹۲ | ۰/۴۳ | ۵/۲۸ | ۵۳/۵ | ۵۲ |

**جدول ٤- نتایج به دست آمده برای پیش بینی متغیرهای وابسته با استفاده از روش سطح پاسخ**

| | F Value | p-value Prob > F | ضریب تبیین | ضریب تغییرات | عدم برازش |
|---|---|---|---|---|---|
| C1(Time) | ۵/۸۸ | ۰/۰۱۴۵ | ۰/۸۸ | ۳/۹۷ | n.s |
| C2(Torque) | ۶/۶ | ۰/۰۱۶۲ | ۰/۹۰ | ۰/۹۸ | n.s |
| Stab (Time) | ۹/۰۹ | ۰/۰۰۲۶ | ۰/۷۱ | ۴/۳۸ | n.s |
| Hydration | ۳۲/۴ | ۰/۰۰۰۲ | ۰/۹۷ | ۰/۳۲ | n.s |
| Gluten Index | ۹/۹۳ | ۰/۰۰۰۶ | ۰/۸۹ | ۲/۲۷ | n.s |

لازم به ذکر است در این پژوهش از علائم اختصاری زیر به جای تکرار اسامی آنزیم‌ها استفاده شده‌است:

ترانس گلوتامیناز= TG

فسفولیپاز= PG

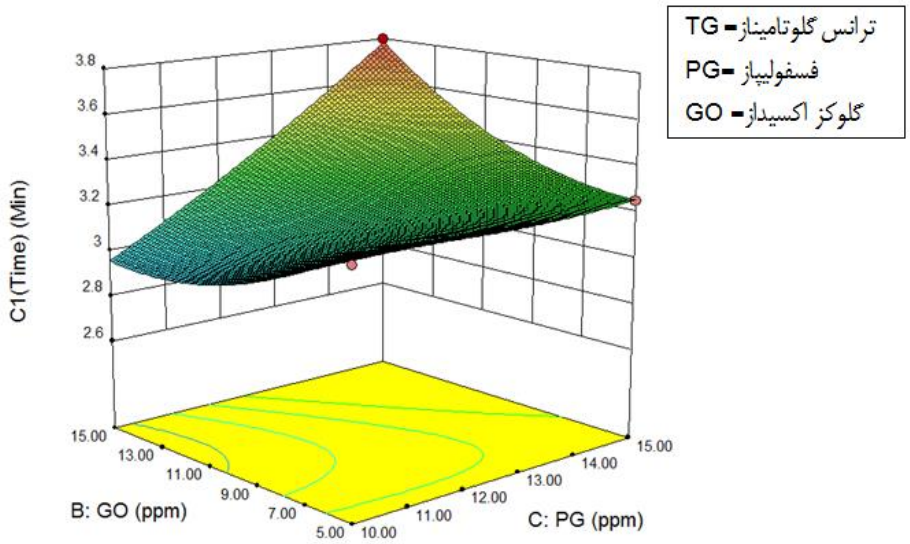
گلوکز اکسیداز =GO

**– مدت زمان گسترش خمیر (C1)**

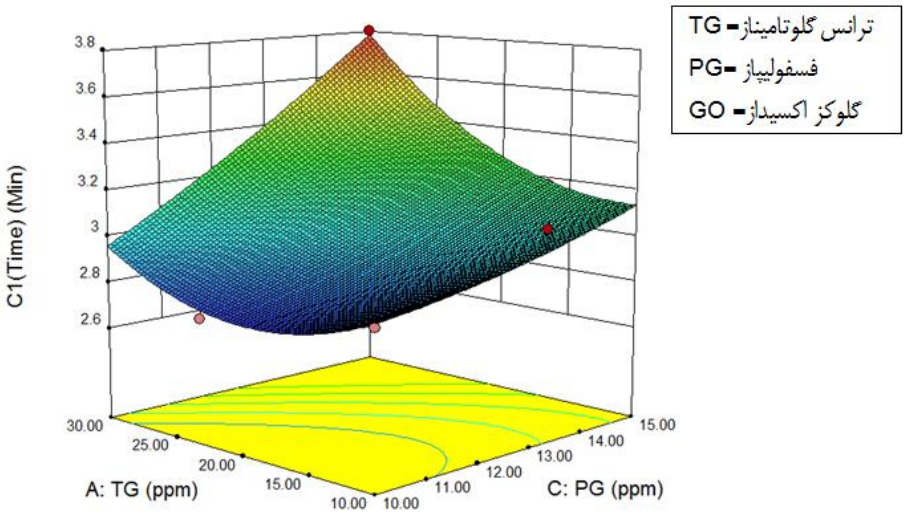
شکل ۱ تأثیر GO و PG را بر روی مدت زمان گسترش خمیر در شرایطی که TG در نقطه حداکثری (۳۰ پی پی ام) ثابت نگه‌داشته شد را، نشان می‌دهد.

با توجه به شکل در شرایطی که TG در مقدار ثابت ۱۰ پی پی ام نگه داشته شد، بالاترین میزان C1 به نمونه حاوی ۱۵ پی پی ام GO و PG تعلق گرفت. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود با افزایش میزان PG، C1 نیز مقدار کمی افزایش و با افزایش میزان GO نیز C1 نیز مقدار کمی کاهش یافت که این افزایش و کاهش معنی‌دار نبود. این در حالی است که با افزایش همزمان GO و PG مقادیر C1 به طور معنی‌داری افزایش یافت.

شکل ۲، تأثیر TG و PG را بر روی مدت زمان گسترش خمیر در شرایطی که GO در نقطه حداکثری (۱۰ پی پی ام) ثابت نگه‌داشته شد را، نشان می‌دهد.




**شکل۱ – تأثیر GO و PG بر روی مدت زمان گسترش خمیر (TG 10 پی پی ام)**




**شکل ۲– تأثیر TG و PG بر روی مدت زمان گسترش خمیر (GO ۱۰ پی پی ام)**

با توجه به شکل ۲ در شرایطی که GO در مقدار ثابت ۱۰ پی پی ام نگه داشته شد، بالاترین میزان مدت زمان گسترش خمیر به نمونه حاوی ۱۰ پی پی ام TG و ۱۳ پی پی ام PG تعلق گرفت. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش میزان PG و TG مقادیر مدت زمان گسترش خمیر نیز افزایش نشان داد.

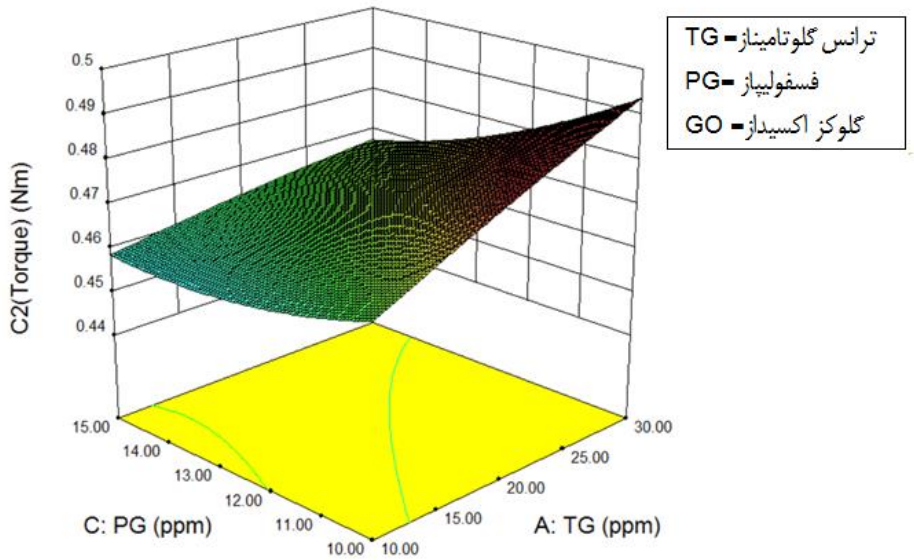
**- پایداری گلوتن (C2)**

شکل۳ تأثیر TG و PG را بر روی پایداری گلوتن در شرایطی که GO در نقطه ابتدایی (۱۰ پی پی ام) ثابت نگه‌داشته شده را، نشان می‌دهد.

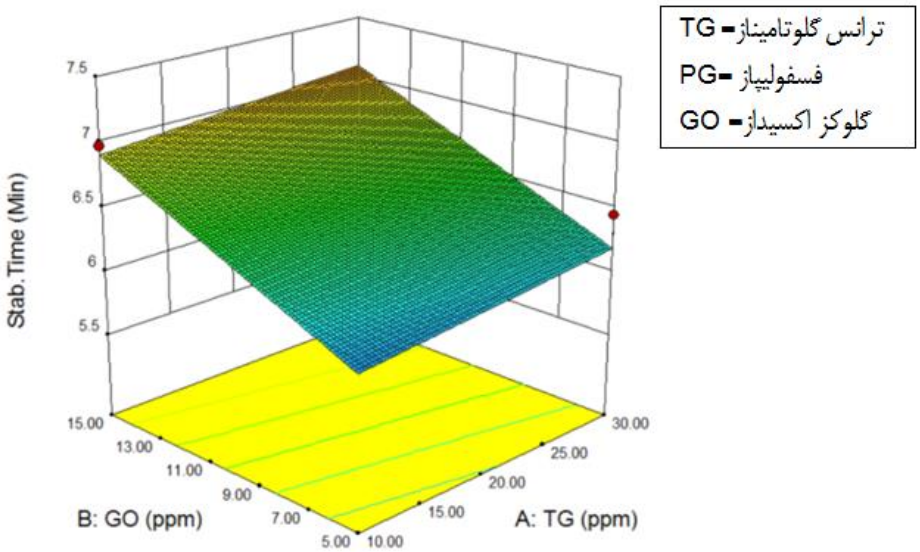
همان‌طور که در شکل۳ مشاهده می‌شود با افزایش میزان TG پایداری گلوتن نیز افزایش یافت در حالی که با افزایش میزان PG پایداری گلوتن کاهش پیدا کرد.

**- مدت زمان پایداری خمیر (Stab.Time)**

شکل۴ تأثیر TG و GO را بر روی مدت زمان پایداری خمیر در شرایطی که PG در نقطه (۱۰ پی پی ام) ثابت نگه داشته شد، را می‌دهد.




**شکل۳- تاثیرTG وPG بر روی پایداری گلوتن GO (۱۰ پی پی ام)**




**شکل٤- تأثیر GO و TG بر روی مدت زمان پایداری خمیر (PG۱۰ پی پی ام)**

همان‌طور که در شکل۴ مشاهده می‌شود با افزایش میزان TG پایداری خمیر تغییرات معنی داری نشان نداد. همچنین طبق شکل با افزایش میزان GO پایداری خمیر به طور معنی‌دار (P<0.01) افزایش یافت.

**- جذب آب (Hydration)**

شکل ۵ تأثیر TG و GO را بر روی جذب آب در شرایطی که PG در نقطه ابتدایی (۱۰ پی پی ام ) ثابت نگه‌داشته شده را، نشان می‌دهد.

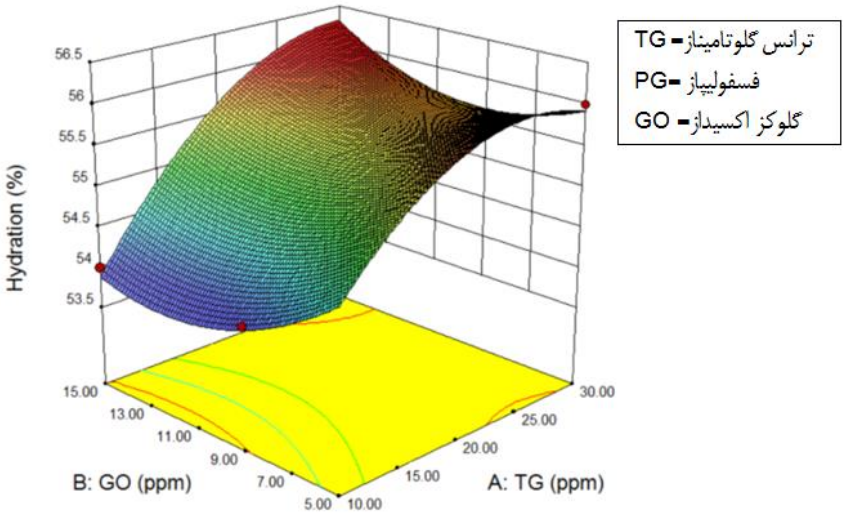
همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود در مقدار ثابت حداقلی PG (۱۰ پی پی ام) با افزایش میزان TG و GO جذب آب نیز افزایش یافت که شدت این افزایش برای TG بیشتر بود که نشان دهنده اثر بیشتر TG نسبت به GO بر روی جذب آب نمونه‌ها می‌باشد.

**- شاخص گلوتن (Gluten Index)**

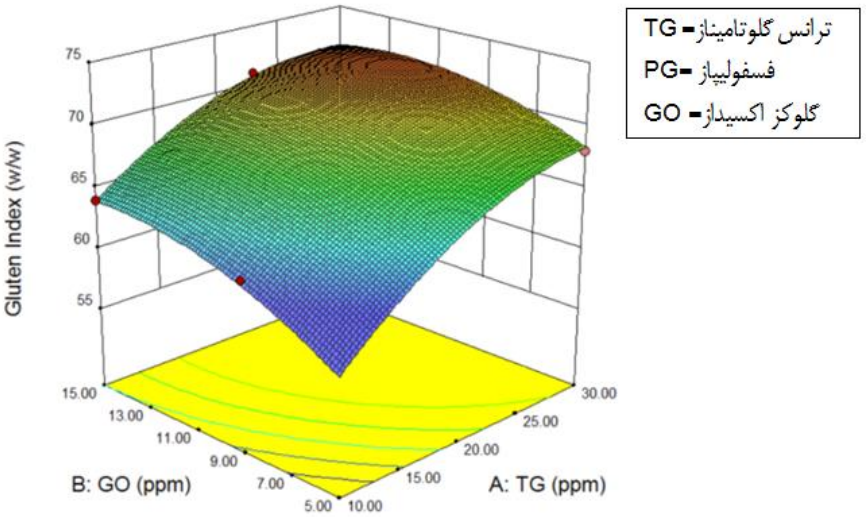
شاخص گلوتن نشان دهنده نسبت گلوتن مرغوب به گلوتن نامرغوب و در واقع گویای کیفیت گلوتن می‌باشد (Aja *et al*., 2004).

شکل۶ تأثیر TG و GO را بر روی شاخص گلوتن در شرایطی که PG در نقطه (۱۰ پی پی ام) ثابت نگه‌داشته شد، را نشان می‌دهد.

همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود با افزایش میزان TG وGO شاخص گلوتن نیز به طور معنی‌دار افزایش یافت.




**شکل ۵- تأثیر GO و TG بر روی جذب آب (PG ۱۰ پی پی ام)**




**شکل ٦- تأثیر GO و TG بر روی شاخص گلوتن (PG ۱۰ پی پی ام)**

## بحث

میکسولب یک دستگاه جهت اندازه‌گیری ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر می باشد که دارای کارآیی‌های مختلفی می‌باشد. دستگاه دارای دو تیغه می باشد که هنگام چرخیدن نیروی گشتاوری (بر حسب NM) ایجاد می‌کند. بر اساس این نیرو ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی اندازه گیری می شود( Dhaka *et al*., 2012).

C1 مدت زمان گسترش خمیر بر حسب دقیقه می‌باشد به عبارت دیگر مدت زمان لازم جهت رسیدن به بیشترین گشتاور می‌باشد (Huang *et al*., 2010). افزایش معنی‌داری مقادیرC1 ، با افزایش همزمان دو آنزیم گلوکزاکسیداز و فسفولیپاز نشان دهنده اثر سینرژیستی این دو آنزیم بر مدت زمان گسترش خمیر می‌باشد که این امر نیز به دلیل تولید ماده اکسیدکننده هیدروپراکساید به طور مستقیم توسط آنزیم گلوکزاکسیداز و به طور غیر مستقیم توسط آنزیم فسفولیپاز می باشد.

فسفولیپازها، فسفو لیپیدهای آرد را به اسیدهای چرب و ترکیبات چربی دوست دیگر تبدیل می‌کنند. سپس این ترکیبات توسط لیپواکسیژنازهای موجود در آرد به هیدرو پراکسایدها اکسید می‌شوند (Teimouri *et al*., 2015).

آنزیم گلوکزاکسیداز گلوکز را به گلوکونیک اسید و پر اکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. هیدرو پراکسایدها قادر هستند گروه‌های تیول پروتئین‌ها را اکسید کنند که منجر به تولید باندهای دی‌سولفید و نهایتاً منجر به استحکام شبکه گلوتنی می‌شود (Tang *et al*., 2014).

همچنین با افزایش میزان آنزیم فسفولیپاز و ترانس‌گلوتامیناز مقادیر C1 افزایش یافت. Colakoglu و Özkaya (۲۰۱۲) نیز با ارائه نتایج مشابه بیان داشتند که آنزیم لیپاز شدت واکنش اکسیداسیون را به واسطه تولید اسیدهای چرب غیراشباع، به‌کمک آنزیم لیپوکسیژناز موجود در آرد افزایش می‌دهد.

Huang و همکاران (۲۰۱۰) نیز نتایج مشابهی به دست آوردند و نشان دادند که با افزایش میزان آنزیم ترانس‌گلوتامیناز مدت زمان گسترش خمیر نیز افزایش داشت که به دلیل افزایش الاستیسیته خمیر به واسطه عملکرد ترانس گلوتامیناز می‌باشد. آن‌ها همچنین بیان داشتند که افزایش مدت زمان توسعه‌پذیری خمیر به دلیل افزایش کراس لینک در پروتئین‌های خمیر می‌باشد که منجر به افزایش پایداری شبکه پروتئینی گردید.

گشتاور C2 پایداری گلوتن در برابر تنش مکانیکی و حرارت را بر حسب نیوتن مترنشان می‌دهد. زمانی که دمای خمیر به ۵۷/۷-۵۲/۲ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد، قوام خمیر نیز کاهش می‌یابد (Ndayishimiye *et al*., 2015). شدت این کاهش به کیفیت و قدرت پروتئین بستگی دارد (Codina *et al*., 2010).

از آنجایی که شاخص درجه نرم شدن گلوتن (C2)، مستقیماً باکیفیت گلوتن در ارتباط است افزایش این شاخص می‌تواند مقاومت خمیر را در برابر تنش‌های مکانیکی (اختلاط مکانیکی و ورز دادن خمیر) و تغییرات حرارتی افزایش دهد. افزایش پایداری گلوتن (C2) با افزایش آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به دلیل قوی تر شدن شبکه گلوتنی به واسطه اتصالات عرضی (کراس لینک) بین اسیدهای آمینه گلوتامین و لیزین می‌باشد که با ایجاد پلیمرهای پروتئین با وزن مولکولی بالا همراه است ( Joye *et al*., 2009). با افزایش تقویت شبکه گلوتنی مقاومت خمیر به هم زدن و ورز دادن افزایش می‌یابد. بنابراین درهم شکستن این شبکه در برابر تنش‌های مکانیکی و افزایش دما، سخت‌تر شده و گشتاور C2 افزایش می‌یابد (Teimouri *et al*., 2015).

کاهش C2 با افزایش آنزیم فسفولیپاز، به دلیل افزایش خاصیت امولسیون کنندگی، به واسطه تولید ترکیبات فعال سطحی (امولسیفایرها) از تجزیه چربی‌های قطبی موجود در آرد می‌باشد در واقع با حضور فسفولیپاز و جدا شدن یک اسید چرب از ساختار فسفولیپید ترکیبات دو گانه دوستی همانند لیزو فسفاتیدیل کولین تولید می‌شوند (Whitehurst and Oort, 2010) این ترکیبات دوگانه دوست منجر به کاهش سطح آب‌گریزی پروتئین‌های گلوتن و قابلیت کشش خمیر به واسطه تضعیف فعل‌وانفعالات قوی پیوندهای هیدرو فوبیک در شبکه گلوتن بوده، که احتمالاً به دلیل اتصالات ویژه به پروتئین‌های گلیادین، از طریق پیوندهای هیدروفیلیک (با توجه به ساختارهای مختلف شیمیایی و یونیزاسیون در حضور آب) می‌باشد (Tebben *et al*., 2018).

از آنجا که پروتئین گلیادین عامل اصلی ویسکوز و

چسبندگی در خمیر است با درگیر شدن آن توسط این پیوندهای هیدروفیلیک از چسبندگی خمیر کاسته و انجام عملیات ماشینی بر روی خمیر را بهبود می‌بخشد.

نتایج فوق با نتایج Colakoglu و Özkaya (۲۰۱۲) مشابه بود نتایج آن‌ها نیز بیانگر این مسئله بود که با افزایش آنزیم لیپاز شاخص چسبندگی و درجه نرم شدن خمیر کاهش پیدا کرد و بین کاهش میزان چسبندگی و درجه نرم شدن خمیر یک رابطه مستقیم خطی وجود دارد .

زمانی که گشتاور از C1-11% در فاز با دمای ثابت بزرگتر باشد که بیانگر مقاومت و پایداری خمیر به ورز دادن می‌باشد. هر چقدر این زمان بیشتر طول بکشد، خمیر قوی‌تر است (Niu *et al*., 2016) .

خمیری برای پخت نان ایده‌آل است که در مرحله آماده‌سازی خمیر، استراحت، کشش و پهن کردن چانه، مقاوم و پایدار باشد و از هم گسیخته نشود. مدت زمان پایداری خمیر بیانگر مقاومت خمیر به ورز دادن می‌باشد. هر چه شبکه گلوتنی قوی‌تر باشد مدت زمان پایداری هم بیشتر خواهد بود. آنزیم گلوکز اکسیداز باعث تشکیل پیوندهای دی سولفیدی بین و درون پلی پپتیدهای خمیر شده که منجر به افزایش پیوندهای کووالانسی و مقاومت و پایداری خمیر می‌گردد.

Niu و همکاران (۲۰۱۶) نیز با ارائه نتایج مشابه اعلام داشتند که پایداری خمیر با افزایش آنزیم گلوکز اکسیداز افزایش یافت.

جذب آب بیانگر میزان آب مورد نیاز جهت تولید خمیر با گشتاور ۱/۱±۰/۰۷ نیوتن متر می‌باشد (Huang *et al*., 2010). جذب آب بیشتر، به معنای ریع (بازدهی) بیشتر خمیر است، بنابراین درصد جذب آب توسط آرد به لحاظ بازدهی خمیر مهم می‌باشد. میزان جذب آن به نوع آرد، کیفیت آرد، نوع و مقدار سایر مواد افزوده شده به خمیر بستگی دارد. نتایج بیانگر آن بود که میزان جذب آب با افزایش آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و گلوکزاکسیداز افزایش یافت که شدت این افزایش برای آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بیشتر بود که نشان دهنده اثر بیشتر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز نسبت به گلوکزاکسیداز بر روی جذب آب نمونه‌ها می‌باشد.

Gerrard و همکاران نتایج مشابهی به دست آوردند و بیان داشتند که آنزیم ترانس‌گلوتامیناز می‌تواند باعث هیدرولیز باقیمانده‌های گلوتامین برای تشکیل باقیمانده‌ای گلوتامیک اسید گردد که این کارمی‌تواند موجب افزایش آب دوستی پروتئین‌های گلوتن شود که در نهایت منجر به افزایش ظرفیت نگهداری آب در خمیر و افزایش میزان محتوای آب قرص نان می‌شود.

در پژوهشی دیگر Larre و همکاران بیان کردند که افزایش جذب آب در اثر افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی را می‌توان به ایجاد اتصالات بیشتر و قوی‌تر و در نتیجه شبکه پروتئینی گسترده‌تر توسط آنزیم مذکور نسبت داد. ایجاد شبکه پروتئینی قوی‌تر باعث می‌شود آب راحت‌تر و بیشتر درون شبکه گلوتنی جذب گلوتن گردد و جذب آب افزایش می‌یابد.

Bonet و همکاران (۲۰۰۶) نیز نتایج مشابهی به دست آوردند و نشان دادند که با افزایش آنزیم گلوکزاکسیداز میزان جذب آب افزایش پیدا کرد.

Niu و همکاران (۲۰۱۶) نیز با ارائه نتایج مشابه اعلام داشتند که میزان جذب آب آرد با افزودن آنزیم گلوکز اکسیداز و ترانس گلوتامیناز نسبت به آرد شاهد افزایش معنی‌دار داشت.

شاخص گلوتن یکی از معیارهای سنجش پروتئین گندم است که به طور همزمان امکان ارزیابی کمی و کیفی گلوتن را فراهم می کند (Bonfil & Posner, 2012). اندیس گلوتن بیانگر درصدی از گلوتن مرطوب است که بعد از سانتریفیوژ کردن روی غربال باقی می‌ماند. اگر گلوتن بسیار ضعیف باشد همه گلوتن ممکن است که از غربال رد شوند و اندیس گلوتن در این حالت صفر می‌شود و اگر گلوتنی عبور نکند اندیس گلوتن ۱۰۰ می‌شود. گاهی اوقات با بالا بودن میزان گلوتن مرطوب آرد (کمیت) نمی‌توان باز هم نان خوبی تهیه کرد که در اینجا بحث مرغوبیت و کیفیت گلوتن مطرح می‌شود. به عنوان مثال نسبت بین گلیادین و گلوتنین می‌تواند به عنوان یک پارامتر مهم در این رابطه بیان شود به طوری که تحقیقات زیادی نشان داده است جزء مؤثر در خواص خمیر، گلوتنین است که عامل اصلی ایجاد مقاومت در خمیر بوده و بر کیفیت پخت نان اثر مطلوبی دارد و هر چقدر نسبت گلوتنین به گلیادین بالاتر باشد مرغوبیت گلوتن بالاتر خواهد بود (Miguel *et al*., 2013).

با افزایش میزان آنزیم گلوکزاکسیداز شاخص گلوتن نیز به‌طور معنی‌دار افزایش یافت. اثر بهبوددهندگی

گلوکزاکسیداز بر میزان شاخص گلوتن به دلیل اتصال عرضی دی سولفید کاتالیز شده توسط گلوکزاکسیداز می‌باشد که موجب پلیمریزاسیون پروتئین‌های گندم شده و در نتیجه تجمعات پروتئینی با وزن مولکولی بالا گردید که منجر به افزایش مقاومت در برابر نیروی گریز از مرکز سانتریفیوژ و به دنبال آن کاهش بخش نامرغوب گلوتن مرطوب و افزایش شاخص گلوتن گردید.

همچنین نتایج حاصله بیانگر آن است که با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز شاخص گلوتن نیز با یک رابطه مستقیم افزایش یافت. علت این امر اتصالات عرضی (کراس لینک) بین اسیدآمینه لایزین و گلوتامین می‌باشد که باعث تبدیل گلوتن نرم با کشش زیاد به گلوتن سفت با الاستیسیته مطلوب شده و موجب افزایش مقاومت گلوتن نسبت به نیروی گریز از مرکزسانتریفیوژ می‌گردد.

Aminlouee وSalehifar (۲۰۱۵) با ارائه نتایج مشابه بیان داشتند که شاخص گلوتن با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز افزایش می‌یابد.

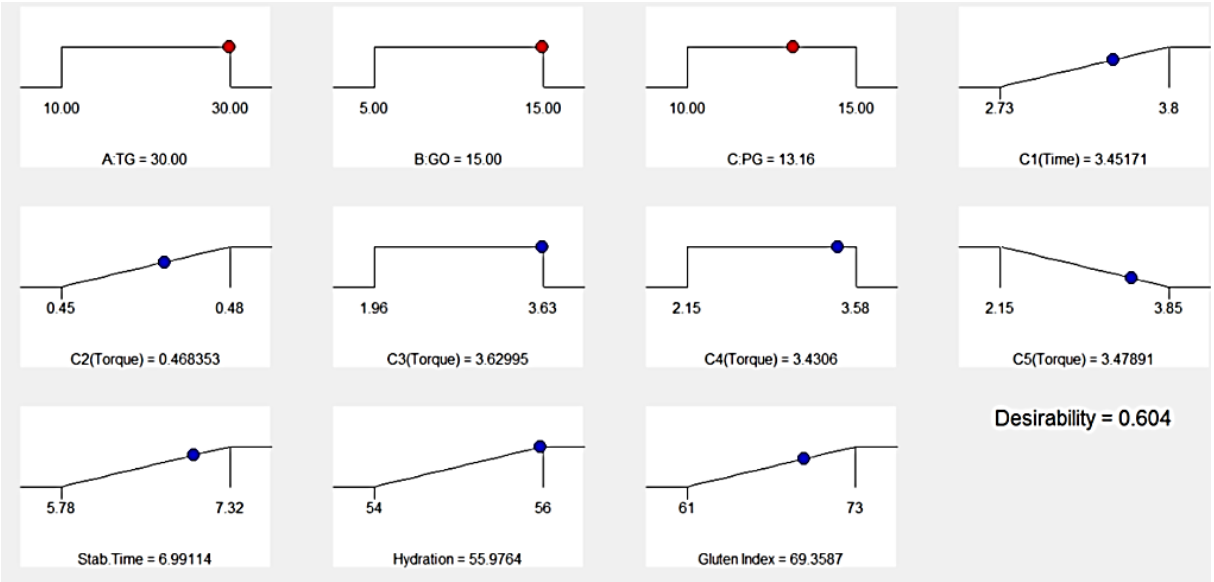
**- بهینه‌سازی**

با استفاده از قابلیت بهینه‌سازی عددی در نرم افزار Design Expert که به صورت تابعی که مرغوبیت نامیده می‌شود، مثال‌هایی از شرایط دقیق آنزیم‌ها (ترانس‌گلوتامیناز، گلوکزاکسیداز و فسفولیپاز) بر خصوصیات خمیر (C1، C2، Stab.Time، Hydration و Gluten Index) بیان خواهد شد. درجه مرغوبیت کلی (D) یک میانگین هندسی از همه درجه مرغوبیت‌های منفرد (di) است که از صفر تا یک تغییر می‌کند.

$$D = (d_1 \times d_2 \times \ldots \times d_n)^{\frac{1}{n}} = \left(\prod_{1-2}^{n} d_i\right)^{\frac{1}{n}}$$

در فرمول فوق n تعداد پاسخ‌ها است. اگر هر یک از پاسخ‌ها در خارج از محدوده تعیین شده قرار گیرد آنگاه درجه مرغوبیت برابر با صفر می‌شود برای بهینه‌سازی همزمان، هر متغیر و پاسخ باید دارای حد بالا و پایین باشند. متغیرهای ورودی (مثل فاکتورها و مولفه‌ها) به‌طور اتوماتیک در محدوده تعیین شده و مطلوب قرار می‌گیرند.

در این تحقیق مدت زمان گسترش خمیر (C1)، پایداری گلوتن (C2)، مدت زمان پایداری خمیر، میزان جذب آب، شاخص گلوتن میزان حداکثر در نظر گرفته شد. میزان بهینه آنزیم‌ها با توجه به صفات مذکور، میزان ۳۰ پی پی ام TG و ۱۵ پی پی ام GO و ۱۳/۱۶ پی پی ام PG به دست آمد. چنین خمیری دارای C1 ۳/۴۵ نیوتن متر، C2 ۰/۴۶ نیوتن متر، مدت زمان پایداری خمیر ۶/۹۹ دقیقه، میزان جذب آب ۵۵/۹۷ درصد، شاخص گلوتن ۶۹/۳۵ درصد وزنی وزنی خواهد بود (شکل ۷).




**شکل۷- شماتیک مقادیر بهینه عوامل، پاسخ‌ها و سطوح**

## نتیجه‌گیری

در حال حاضر شاخص گلوتن یکی از معیارهای اصلی در تعیین کیفیت گلوتن گندم در کنار کمیت آن می‌باشد که معیاری از نسبت جزء گلوتنین به گلیادین در گلوتن آرد است. از آنجایی که عامل اصلی الاستیسیته خمیر به خواص عملکردی گلوتنین مربوط می‌باشد با کم بودن این شاخص، خمیر از قدرت و الاستیسیته مناسبی برخوردار نخواهد بود، جهت برطرف نمودن این ضعف در گلوتن از آنزیم‌های اکسیدکننده چون گلوکز اکسیداز استفاده گردید. آنزیم گلوکزاکسیداز از طریق کاتالیز اتصال عرضی دی‌سولفید موجب پلیمریزاسیون پروتئین‌های گندم شد و در نتیجه تجمعات پروتئینی با وزن مولکولی بالا ایجاد گردید که منجر به افزایش مقاومت در برابر نیروی گریز از مرکز سانتریفیوژ و به دنبال آن کاهش بخش نامرغوب گلوتن مرطوب و افزایش شاخص گلوتن گردید.

همچنین با افزایش آنزیم ترانس گلوتامیناز شاخص گلوتن نیز با یک رابطه مستقیم افزایش معنی‌دار ($p<0.01$) یافت. علت این امر اتصالات عرضی (کراس-لینک) بین اسیدآمینه لایزین و گلوتامین می‌باشد که باعث تبدیل گلوتن نرم با کشش زیاد به گلوتن سفت با الاستیسیته مطلوب شد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند استفاده از یک آنزیم اکسید کننده (گلوکزاکسیداز) و یک آنزیم ترانسفراز (ترانس‌گلوتامیناز) در کنار یک بیوامولسیفایر (فسفولیپاز) به صورت ترکیبی می‌تواند نقش مؤثری در جهت بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر و افزایش شاخص گلوتن در آردی با شاخص گلوتن ضعیف ایفا کند. با توجه به نتایج به دست آمده افزودن ترکیب این سه آنزیم سبب افزایش مدت زمان گسترش خمیر، افزایش میزان جذب آب، افزایش پایداری خمیر، افزایش گشتاور درجه نرم شدن گلوتن خمیر و همچنین افزایش شاخص گلوتن شد که حاکی از قوی‌تر شدن خمیر بهینه شده، نسبت به خمیر حاصل از آرد شاهد می‌باشد. میزان بهینه آنزیم‌ها با توجه به صفات مذکور، میزان ۳۰ پی پی ام TG و ۱۵ پی پی ام GO و ۱۳/۱۶ پی پی ام PG به دست آمد. چنین خمیری دارای C1 ۳/۴۵ نیوتن متر، C2 ۰/۴۶ نیوتن متر، مدت زمان پایداری خمیر ۶/۹۹ دقیقه، میزان جذب آب ۵۵/۹۷ درصد، شاخص گلوتن ۶۹/۳۵ درصد وزنی وزنی خواهد بود.

## سپاسگزاری

ضمن سپاس و ستایش به درگاه ایزد منان، بر خود لازم می‌دانم از مدیریت محترم شرکت آرد آذر گندم جناب آقای مهندس اسداله زاده و مسئولین محترم آرد زر ماکارون به ویژه جناب آقای دکتر عبدالقادر عنایتی که در طی اجرای این تحقیق، همکاری صمیمانه داشته‌اند قدردانی و تشکر نمایم.

## منابع

AACC. (1999). American Association of Cereal Chemists. approved methods (10th ed.). St. Paul, MN: AACC International.

Aja, S., Perez, G. & Rosell, C. M. (2004). Wheat damage by Aelia spp. and Eurygaster spp. Effects on gluten and water-soluble compounds released by gluten hydrolysis. Journal of Cereal Science 39, 187-193.

Autio, K., Kruus, K., Knaapila, A., Gerber, N., Flander, L. & Buchert, J. (2005). Kinetics of transglutaminase-induced cross-linking of wheat proteins in dough. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(4), 1039-1045.

Babaee-aminlouee, H. & Salehifar, M. (2015). Effect of Microbial Transglutaminase and Sodium Caseinate on Restoring Damaged Gluten Network from Insect Damaged Wheat Flour. Journal of Food Science and Technology, 14, 63-72 [In Persian].

Bonet, A., Rosell, C. M., Caballero, P. A., Gómez, M., Pérez-Munuera, I. & Lluch, M. A. (2006). Glucose oxidase effect on dough rheology and bread quality: a study from macroscopic to molecular level. Food Chemistry, 99(2), 408-415.

Bonfil, D. J. & Posner, E. S. (2012). Can bread wheat quality be determined by gluten index?. Journal of Cereal Science, 56 ,115-118.

Codina, G. G., Mironeasa, S., Bordei, D. & Leahu, A. (2010). Mixolab Versus Alveograph and Falling Number. Czech Journal of Food Science, 28,185-191.

Colakoglu, A. & Özkaya, H. (2012). Potential use of exogenous lipases for DATEM replacement to modify the rheological and thermal properties of wheat flour dough. Journal of Cereal Science, 55, 397-404.

Chaffarczyk, M., Østdal, H. & Koehler, P. (2014). Lipases in wheat breadmaking: analysis and functional effects of lipid reaction products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(32), 8229-8237.

Dhaka, V., Gulia, N. & Khatkar, B. S. (2012). Application of Mixolab to Assessthe Bread Making Quality of Wheat. Open Access Scientific Reports, 1,1-8.

Gerrard, J. A., Fayle, S. E., Wilson, A. J., Newberry, M. P., Ross, M. & Kavale, S. (1998). Dough properties and crumb strength of white pan bread as affected by microbial transglutaminase. Journal of Food Science, 63, 472-475.

Hanft, F. & Koehler, P. (2006). Studies on the effect of glucose oxidase in bread making. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(11), 1699-1704.

Huang, W. N., Yuan, Y. L., Kim, Y. S. & Chung, O. K. (2008). Effects of transglutaminase on rheology, microstructure, and baking properties of frozen dough. Cereal Chemistry, 85(3), 301-306.

Huang, W., Li, L., Wang, F., Wan, J., Tilley, M., Ren, Ch. & Wu, S. (2010). Effects of transglutaminase on the rheological and Mixolab thermomechanical characteristics of oat dough. Food Chemistry,121, 934-939.

Joye, I. J., Lagrain, B. & Delcour, J. A. (2009). Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking–a review. Journal of Cereal Science, 50(1), 11-21.

Kuraishi, C., Yamazaki, K. & Susa, Y. (2001). Transglutaminase: its utilization in the food industry. Food Reviews International, 17 (2), 221-246.

Larre, C., Denery-papini, S., Popineau, Y., Deshayes, G., Desserme, C. & Lefebvre J. (2000). Biochemical analysis and rheological properties of gluten modified by transglutaminase. Cereal Chemistry, 77, 32-38.

Leszczyńska, J., Łącka, A. & Bryszewska, M. (2006). The use of transglutaminase in the reduction of immunoreactivity of wheat flour. Food and Agricultural Immunology, 17(2), 105-113.

Miguel, Â. S. M., Martins-Meyer, T. S., da Costa Figueiredo, É. V., Lobo, B. W. P. & Dellamora-Ortiz, G. M. (2013). Enzymes in bakery: current and future trends. 287-321. DOI: 10.5772/53168

Moayedallaie, S., Mirzaei, M. & Paterson, J. (2010). Bread improvers: Comparison of a range of lipase with a traditional emulsifier. Food Chemistry,122, 495-499.

Ndayishimiye, J., Huang, W., Wang, F., Chen, Y., Letsididi, R., Duarte, P., Ndahetuye, J. & Tang, X. (2015). Rheological and functional properties of composite sweet potato – wheat dough as affected by transglutaminase and ascorbic acid. Journal of Food Science and Technology, 53, 1178-1188.

Niu, M., Hou, G. G., Kindelspire, J., Krishnan, P. & Zhao, S. (2016). Microstructural, textural, and sensory properties of whole-wheat noodle modified by enzymes and emulsifiers. Food Chemistry, 223, 16–24.

Salehifar, M. & Shafisoltani, M. & Hashemi, M. (2011). Evaluation of the effect of using glucose oxidase and xylanase enzymes on Toast bread flours characteristics. Journal of Food Science and Technology, 43,133-147 [In Persian].

Steffolani, M. E., Ribotta, P. D., Pérez, G. T. & León, A. E. (2010). Effect of glucose oxidase, transglutaminase, and pentosanase on wheat proteins: Relationship with dough properties and bread-making quality. Journal of Cereal Science, 51(3), 366-373.

Tang, L., Yang, R., Hua, X., Yu, CH., Zhang, W. & Zhao, W. (2014). Preparation of immobilized glucose oxidase and its application in improving bread making quality of commercial wheat flour. Food Chemistry, 161, 1-7.

Tebben, L., Shen, Y. & Li, Y. (2018). Improvers and functional ingredients in whole wheat bread: A review of their effects on dough properties and bread quality. Food Science & Technology, DOI: 10.1016/j.tifs.2018.08.015

Teimouri, Sh. (2016). New technologies in assessment of flour and paste rheological properties. Jahesh publication, First edition PP.59-100 [In Persian].

Tilley, K. A., Benjamin, R. E., Bagorogoza, K. E., Okot-Kotber, B. M., Prakash, O. & Kwen, H. (2001). Tyrosine cross-links: molecular basis of gluten structure and function. Journal of Agricultural and Food

Chemistry, 49(5), 2627-2632.

Whitehurst, R. & Oort, M. (2010). Enzymes in food technology. Wiley Black Well publication, Second edition, PP.119-120.

# The Effect of Enzyme-Based Improver on the Rheological Properties and Gluten Quality of Dough Obtained from Flour with Weak Gluten Index Bread

**M. Sarparast [a], B. Ghiassi Tarzi [b*]**

[a] M.Sc. Graduated of the Department of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Associate Professor of the Department of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 14 December 2018 Accepted: 3 June 2019

## Abstract

**Introduction:** In recent years, the quality of Iranian bread has been drastically reduced. One of the reasons is the poor quality of gluten that has been produced from domestic wheat flour, which should be improved by special methods**.**

**Materials and Methods:** In this research, combination of three enzymes consisting of transglutaminase, glucose oxidase and phospholipase was used. In order to select the best combination of these three enzymes, Response Surface Methodology (RSM) optimal design was applied. The rheological properties of the dough were measured by Mixolab. The gluten index response was evaluated by centrifuging wet gluten for all the samples examined.

**Results:** The results indicated that by increasing glucose oxidase and phospholipase enzymes simultaneously, the dough development time (C1) had a significant increase ($p<0.01$), which indicates the synergistic effect of these two enzymes on C1 of the samples. Also, by increasing the level of transglutaminase enzyme, the dough development time, required torque for breaking the protein network (C2) and water absorption had a significant increase ($p<0.05$) which indicates the positive effect of this enzyme on the improvement of rheological properties of the dough. Gluten index also had a significant increase with the increase of the transglutaminase ($p<0.01$) and glucose oxidase concentrations ($p<0.05$) that indicates the conversion of soft gluten with a high elasticity to tight gluten with desirable elasticity.

**Conclusion:** It is therefore concluded that the optimum concentrations of the enzymes were 30 ppm for transglutaminase, 15 ppm for glucose oxidase, and 13.16 ppm for phospholipase.

***Keywords:*** *Bread Dough, Glucose Oxidase, Gluten Index, Phospholipase, Transglutaminase.*

* Corresponding Author: babakghiassi@hotmail.com