(مقاله پژوهشی)

اثر درجه برشتگی نان تافتون بر مقدار آکریل‌آمید و مقایسه دو روش‌آنزیم آسپاراژیناز و اسید استیک بر کاهش آن

معصومه بارانی[۱]، محمدشاهدی باغ خندان[۲*]، میلاد فتحی[۳]

۱- دانش‌آموخته‌کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- استاد، گروه علوم و صنایع‌غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی‌اصفهان، اصفهان، ایران.

۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۲/۰۷ تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۳/۱۲

DOI: 10.30495/jfst.2022.1957589.1792

چکیده

غلات به واسطه دارا بودن مقادیر بالای کربوهیدرات، حین حرارت دهی دستخوش تغییراتی می‌شوند که گاهی مطلوب و گاهی نامطلوب می‌باشد. از جمله این واکنش‌ها می‌توان به میلارد اشاره کرد. و از محصولات مضر این واکنش می‌توان آکریل‌آمید را نام برد. از این رو هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر درجه برشتگی بر میزان آکریل آمید و اثر دو روش آنزیم آسپاراژیناز و اسید استیک بر کاهش آن در نان تافتون می‌باشد. برای این منظور میزان آکریل آمید در نان تافتون در حالت بدون برشتگی، برشتگی سطح یک و دو، مورد ارزیابی قرار گرفت و همان‌طور که انتظار می‌رفت با افزایش میزان برشتگی (افزایش زمان پخت)، آکریل آمید بیشتری در نان تولید می‌شود. سپس میزان آکریل آمید و خصوصیات حسی در نان‌هایی که خمیر آن‌ها تحت تیمار اسید استیک در غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد و آنزیم آسپاراژیناز در غلظت ppm ۵۰۰ و ۲۵۰ قرار گرفته بودند بررسی شد، استفاده از اسید استیک و آنزیم آسپاراژیناز به صورت ترکیبی طبق برنامه‌ریزی با نرم‌افزار Design expert 2013 صورت گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر معنی‌دار بودن اثر برشتگی بر رنگ، معنی‌دار نبودن اثر آنزیم آسپاراژیناز و اسید استیک بر رنگ و معنی‌دار بودن اثر برشتگی و آنزیم آسپاراژیناز بر محتوای آکریل‌آمیدمی‌باشد. نتایج بهینه سازی با نرم افزار Design expert13 نشان داد پخت نان در برشتگی سطح دو در حضور آنزیم آسپاراژیناز با غلظت ppm۵۰۰ و اسید استیک با غلظت ۰/۳درصد، کمترین میزان آکریل آمید، با حفظ مطلوبیت خواص ارگانولپتیکی را به همراه دارد.

واژه های کلیدی: آنزیم آسپاراژیناز، اسید استیک، فرایند پخت، غلات، واکنش میلارد.

[*]مسئول مکاتبات: mohamadshahediiii555555@gmail.com

۱-مقدمه

از سال‌های بسیار دور تا کنون، غلات و محصولات مشتق شده از آن (مانند نان) در تغذیه مردم دنیا جایگاه مهمی به خود اختصاص داده است. غلات به سبب دارا بودن مقادیر بالای کربوهیدرات و حضور اسیدهای آمینه در ساختارشان گاهی‌حین حرارت‌دهی دستخوش تغییراتی می‌شود که برای سلامت‌مصرف‌کننده‌مضر است. از جمله این تغییرات میتوان به واکنش میلارد اشاره کرد که صرف نظر از بافت، رنگ و طعم‌مطلوبی‌که به نان می‌دهد منجر به‌تولید ترکیباتی‌می‌شود که‌مشکوک‌به‌سرطانزایی‌هستند.میلارد یک واکنش شیمیایی بین قندهای احیاکننده و اسیدآمینه است که منجر به تولید برخی‌ترکیبات عامل رنگ وعطر وطعم در محصول می‌شود و این امر به خصوص در محصولات نانوایی اهمیت دارد (۲۳). اما با این‌حال‌برخی محصولات جانبی ناشی از واکنش میلاردخطرناک‌شناخته‌شده و مشکوک به‌سرطان‌زایی هستند که از جمله می‌توان به آکریل آمید اشاره کرد. البته آکریل آمید در شکل پلیمری مشکل‌ساز نیست و در صنایع شیمیایی مختلف کاربرد دارد و شکل مونومر آن دارای سمیت است (۱۳). تولید آکریل آمید در ماده غذایی از راه‌های مختلفی می‌تواندصورت‌گیردامامهم‌ترین‌آن‌واکنش‌میلارددر دماهای بالاتر از۱۲۰ درجه سلسیوس بین اسیدهای‌آمینه و به ویژه اسیدآمینه‌آسپاراژین‌و قندهای احیاکننده است (۱۱). با توجه به وزن مولکولی پایین وقطبی‌بودن آکریل‌آمید پس از ورود به بدن حیوانات و انسان به سرعت توزیع می‌شود. با این حال این احتمال وجود داردکه‌برهم‌کنش آکریل آمید با ماتریس غذایی‌نظیرپروتئین بر جذب آن تاثیر بگذارد(۶). دانشمندان به مقادیر بالای‌آکریل‌آمید در مواد غذایی پر نشاسته مانند نان و سیب‌زمینی و کم‌بودن مقدار آن درموادغذایی پروتئینی مانند گوشت پی برده‌اند(۲۲). آکریل آمید ترکیبی بالقوه سرطان‌زاست که‌دربدن‌تجزیه‌می‌شودومتابولیتی‌به نام گلاسید آمیدتولیدمی‌کند.دریافت‌آکریل‌آمیددر غلظت‌های بالامنجر به بروزاختلالات‌عصبی‌می‌شود.همچنین ایجاد سرطان توسط آکریل آمید در موش‌ها و جانوران جونده تایید شده است. البته‌آثار سمی‌آکریل‌آمیددرحضور مونومر آن بروزمی‌کند.

بنابراین با توجه به سرطان‌زا ومخاطره‌آمیز بودن آکریل آمید حتی در مقادیرکم پیداکردن راه‌هایی برای کاهش تولید و یا به دام انداختن این ترکیب ضروری است. راهکارهای مختلفی‌برای‌کاهش‌تولیدآکریل‌آمیدحین‌پخت یا سرخ‌کردن موادغذایی‌نشاسته‌ای‌وجوددارد.مانندکاهش pH،کنترل دما و زمان حرارت دهی، کنترل میزان برشتگی، کنترل رطوبت و افزایش‌فعالیت‌آبی، افزودن یون‌های چند ظرفیتی، استفاده از آنتی‌اکسیدان و استفاده از آنزیم‌آسپاراژیناز[1] می‌باشد. به نظر می‌رسد استفاده ازآنزیم‌آسپاراژیناز به سبب هدف قرار دادن عامل‌اصلی‌تشکیل‌آکریل‌آمیدیعنی‌همان‌اسیدآمینه آسپاراژین وخارج‌کردن‌آن ازواکنش‌روشی کارآمد برای کاهش تولید آکریل آمید می‌باشد. آنزیم آسپاراژیناز به عنوان کاتالیزور هیدرولیزآسپاراژین‌به‌آسپارتیک‌اسیدوآمونیاک‌عمل‌می‌کند در مطالعه‌ای مشابه زیزاک و همکاران(۲۰۰۳) اثیر تیمار آسپاراژیناز را بر پوره سیب زمینی‌که در میکروویو پخته بود ارزیابی کردند و دریافتند که استفاده از آسپاراژیناز میزان آسپاراژین را تا ۸۸ درصد و میزان آکریل آمید را تا ۹۹ درصد نسبت به روش بدون آنزیم کاهش می‌دهد (۲۶). در پژوهشی دیگر تاثیر میزان برشتگی بر محتوای آکریل آمید آن بررسی شد. و نتایج حاصل نشان دادند که در نان‌هایی که برشته نشدند و یا از دمای ۱۴۰ درجه سلسیوس برای فرآیند پخت استفاده گردید، آکریل آمید دیده نشد. اما حضور این ترکیب در نان آرد گندم پخته شده در دمای ۱۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۶ دقیقه و در نان آرد چاودار پس از ۲۲ دقیقه در همان شرایط دمایی‌گزارش‌گردید (۲۱). همچنین دیگر مطالعات این موضوع را تایید کردند که در نان حجیم زمانی که بیشترین محتوای آکریل آمید در پوسته تشکیل شود مغز نان به طور تقریبی فاقد آکریل آمید می باشد .بر این اساس هیچ آکریل آمیدی در قسمت برشته نشده نان دیده نشد. علت این موضوع عدم ایجاد واکنش میلارد در قسمت‌های‌غیربرشته می‌باشد. در دماهای بالا و مدت زمان طولانی پخت محتوای‌آکریل آمید کاهش می یابد و علت این موضوع به تجزیه حرارتی آکریل آمید،

[1]-Asparaginase

واکنش با ترکیبات دیگر و یا پلیمریزاسیون نسبت داده شده است (۴). پارکر و همکاران‌در سال۲۰۱۲ بیان‌کردند استفاده ازتکنیک آنزیم آسپاراژیناز برای کاهش تولید آکریل آمید با حفظ ویژگی‌های حسی‌موثرمی‌باشد، زیرا آسپاراژین تاثیر چندانی‌درتشکیل رنگ و طعم محصول ندارد (۱۸). پدرشی و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند دما و pH بهینه برای فعالیت آنزیم آسپاراژیناز به ترتیب۶۰ درجه سانتیگراد و ۷ می‌باشد. در این مطالعه کاهش ۶۷ درصدی محتوای آکریل آمید تولید شده در سیب زمینی سرخ شده تحت اثر تیمار آسپاراژیناز ودمای کنترل شده نسبت به روش معمول رویت شد (۱۹). آن چه از نتیجه مطالعات مشابه در این زمینه به دست آمد، بیانگر تاثیر بسزای آنزیم آسپاراژیناز بر کاهش محتوای‌آکریل‌آمید می‌باشد .بر این اساس هدف از این پژوهش بررسی تاثیر برشتگی طی فرآیند پخت نان تافتون و همچنین‌افزودن‌آنزیم‌آسپاراژینازواسیداستیک به فرمولاسیون نان بر میزان‌آکریل آمید و مقایسه اثر دو روش برای کاهش این ترکیب و پیدا کردن شرایط بهینه برای تولید نان تافتون با استفاده از طرح سطح پاسخ (RSM) آزمون باکس بنکن[1] بود.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

موادمورداستفاده برای تولید نان شامل آرد مخصوص تافتون کارخانه آرد اطلس اصفهان (ویژگی‌های آرد تافتون طبق استاندارد ملی۱۰۳: خاکستر ۱/۲۲۵-۰/۸۵۱ درصد، رطوبت حداکثر۱۴/۲درصد،پروتئین‌درصدوزنی‌بر مبنای ماده خشک حداقل۱۱)، نمک خوراکی، مخمرخشک نانوایی از شرکت فریمان تولید شده در استان خراسان رضوی(جهت حصول نتیجه‌بهتر،میزان‌مصرف‌خمیرمایه‌فریمان ۰،۵ تا ۱،۵ درصد وزن آرد مصرفی توصیه شده است، درجه حرارت مطلوب بین ۳۷ تا ۴۰ وpH بهینه بین ۴ تا ۶) می‌باشد. برای تیمارهای کاهش‌آکریل‌آمیداسید استیک وآنزیم آسپاراژیناز به ترتیب ازشرکت‌مرک[2]ساخت‌کشورآلمان‌وشرکت‌نووزیم[3] ساخت کشوردانمارک‌تهیه‌گردید.مواد مورد استفاده برای استخراج آکریل‌آمیدشامل، آب دیونیزه، اسیداستیک خالص، محلول کارز ۱و۲، بروماید پتاسیم، اسیدهیدروبرومیک، تیوسولفات سدیم۱مولار،اتیل‌استات/هگزان وسولفات سدیم برند مرک ساخت کشور آلمان تهیه گردید.

۲-۲- تهیه نان تافتون

فرمولاسیون نان (نمونه شاهد) بر اساس درصد به ازای ۱۰۰ گرم آرد شامل۶۰ تا ۶۵ درصد آب ولرم ۱ درصد نمک (طبق دستورالعمل مجاز نمک مصرفی از طرف سازمان غذا و دارو)و ۱/۵ درصد خمر خشک (طبق دستورالعمل شرکت سازنده) می‌باشد. لازم به ذکر است پیش از تهیه خمیر مواد پودری در آب حل شده سپس آرد به سایر اجزا اضافه شد. در نمونه‌ها اسید استیک در غلظت ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد به ازای وزن خمیر (کل فرمولاسیون نان پس از تخمیر کامل) در برخی از نمونه ها آنزیم آسپاراژیناز در غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm به ازای وزن آرد به فرمول افزوده شد. ذکر این نکته ضروری است که آنزیم آسپاراژیناز به همراه سایر مواد پودری در آب حل می‌شود و دمای بهینه برای فعالیت آن بین۴۰ تا ۶۰ درجه سلسیوس است. لذا دمای آب مصرفی برای حل کردن مواد پودری مشکلی در فعالیت آنزیم ایجاد نمی‌کند. سپس خمیرهای آماده پس از چونه گیری به مدت یک ساعت در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه سلسیوس انتقال یافت و مرحله تخمیر انجام شد. از آن جا که pH مطلوب برای فعالیت آنزیم بین ۵ تا ۸ می‌باشد و عمده فعالیت آنزیم در مرحله تخمیر اتفاق می‌افتد لذا در نمونه های حاوی اسید و آنزیم به منظور جلوگیری از افت pHو مداخله در فعالیت آنزیم، اسید پس از پایان مرحله تخمیر و قبل از مرحله پخت به خمیر اضافه گردید و به وسیله دست جهت اختلاط با خمیر ورز داده شد. پس از اتمام فرآیند تخمیر و آماده شدن تیمارها، چونه‌های آماده به شکل دایرهبا قطر۴۰ سانتی‌مترو ضخامت۳ الی ۴ میلی متر درآمده و سپس وارد مرحله پخت نان در تنور سنتی با شعله مستقیم شدند. نمونه‌های نان با سه

1- Box Behnken Design (BBD)
2–Merck
3–Novozymes

سطح‌برشتگی‌متفاوت تهیه شد. برشتگی سطح اول که دارای کم‌ترین سطح برشتگی بود، خمیر به مدت۶۰ ثانیه حرارت دید. برشتگی سطح دوم که برشتگی بیشتری نسبت به قبلی بود به مدت۹۰ ثانیه حرارت دید و درآخر نمونه‌هایی با برشتگی زیاد که به مدت۱۲۰ ثانیه حرارت‌دهی شد و در هر سه تیماردمای‌تنور۲۰۰درحه‌سلسیوس بود. پس از آماده‌شدن نان‌های تازه برای انجام آنالیزرنگ به آزمایشگاه انتقال یافت و نمونه‌هایی نیز به منظور آنالیز آکریل آمید، در دمای ۲۵ درجه (در محیط) خشک شد(۱۷).

۲-۳- آنالیز رنگ

۲-۳-۱- رنگ سنجی به روش هانترلب

این آزمون با استفاده از دستگاه رنگ سنج ZE6000 انجام شد. دراین‌سیستم رنگ بر مبنای سه پارامتر L^*: میزان روشنی با مقداری بین صفر تا صد، a^*: میزان سبز و قرمزی نمونه با مقدار مثبت و منفی وb^*: میزان آبی و زرد بودن نمونه با مقدار مثبت و منفی ارزیابی می‌شود. دستگاه از سه فیلتر و سه فتوسل‌که به یک گالوانومتر بسیار حساس متصل‌می باشد، تشکیل شده است. برای اندازه‌گیری رنگ نمونه قسمتی از نمونه را روی مسیر تابش نور دستگاه قرار داده و مقادیرL^*، a^* وb^* نور انعکاس یافته از جسم بر روی دستگاه نمایش داده شد و تغییرات رنگی بر اساس رابطه ۱ محاسبه گردید (۱۶).

رابطه(۱)

$$E=\sqrt{(L-L_c)^2+(a-a_c)^2+(b-b_c)^2}$$

که در این رابطهL: شاخص بعد سفیدی و سیاهی برای نمونه، Lc: شاخص بعد سفیدی و سیاهی برای نمونه شاهد، a: شاخص بعد قرمزی وسبزی برای نمونه، ac: شاخص بعد قرمزی و سبزی برای نمونه شاهد، b: شاخص زردی و آبی برای نمونه، bc: شاخص زردی وآبی برای نمونه شاهد می باشد (۱).

۲-٤- استخراج آکریل آمید

به منظورانجام‌این‌آزمون۱۵گرم‌پودرنمونه در لوله سانتریفوژ به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد و به آن ۱۵۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر شده اضافه گردید. مخلوط به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شد. یک میلی‌لیتر اسید استیک خالص به مخلوط اضافه گردید تا pH آن به ۴ تا ۵ برسد. به منظور رسوب پروتئین ها ۲میلی لیتر محلول کارز ۱ (۳۵/۸ گرم فری سیانید پتاسیم با سه ملکول آب تبلور به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) و ۲ میلی لیتر محلول کارز ۲ (۲۲/۸ گرم سولفات روی با ۷ ملکول آب تبلور به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) به مخلوط آماده شده اضافه گردید. مخلوط‌به مدت ۱۵ دقیقه با شتاب ثقل g ۱۶۰۰۰ سانتریفوژ شد و مایع‌رویی آن با عبور از پشم شیشه در بالن ۲۵۰ میلی‌لیتری صاف‌گردید (۲۰). برای کاهش قطبیت آکریل آمید و افزایش تمایل آن برای استخراج با حلال آلی، مشتق سازی روی آن انجام میگیرد و آکریل‌آمید به ۲ و ۳ دی برومو پروپینامید تبدیل میشود. بدین منظور، ۷/۵گرم بروميد پتاسیم به محلول استخراج شده اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر اسید هیدروبرومیک به آن افزوده گردید تا pH آن به۱ تا ۳ برسد .ضمن هم‌زدن، ۱۰ میلی لیتر محلول آب برم اشباع به آن اضافه گردید. درب ظرف با فویل آلومینیوم پوشانده و به مدت یک ساعت در حمام یخ قرار داده شد .پس از خروج از حمام یخ اجازه داده شد با محیط هم دماگردد. ضمن هم زدن بالن، قطره قطره محلول تیوسولفات سدیم یک مولار برای خنثی سازی برم اضافی به بالن اضافه شد تا رنگ محلول به حالت بیرنگ اولیه تبدیل‌شود(۲۰، ۲۵). محلول‌به دست‌آمده به قیف جداکننده انتقال داده شد و ۵۰ میلی لیتر اتیل استات /هگزان (۴ اتیل استات + ۱ هگزان) به آن اضافه گردید و یک دقیقه به آرامی هم زده شد .محلول حدود ۱۰ دقیقه به حال سکون نگه داشته شد تا دو فاز شود .فاز رویی از میان ۱۵گرم سولفات سدیم و پشم شیشه روی کاغذ صافی(به منظور آبگیری) عبورداده شد و به بالن ته گرد منتقل‌گردید .قیف و پشم شیشه دو مرتبه با مخلوطی از ۱۰ میلیلیتر اتیلاستات/ هگزان شستشو داده شد و به همان بالن منتقل‌گردید. ۲ و ۳ دی برومو پروپینامید با اتیلاستاتاز آب استخراج شد (۲۵).

محلول‌های استاندارد آکریل آمید با غلظت‌های ۱، ۵، ۲۰، ۷۵ و ۱۰۰ پی پی‌ام‌آماده و به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. ستون ارزیابی آکریلامید ZBWAX با طول ۳۰مترو‌قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت ۰/۲۵میکرومتر بود .حجم و دمای تزریق به ترتیب یک میکرولیتر و ۲۶۰ درجه سلسیوس بودند.گاز حامل هلیوم و سرعت خطی جریان گاز شناساگر ۶۲ سانتیمتر بر ثانیه و نوع تزریق آن غیر انشعابی تنظیم گردید. پس از تزریق استانداردهای تهیه شده با غلظت‌های ذکر شده به دستگاه، منحنی کالیبراسیون بین‌سطح‌زیرمنحنی‌وغلظت‌آکریل‌آمید(پی‌پی‌ام) محلول‌های استاندارد رسم‌گردید. سپس میزان اکریل آمید نمونه‌ها به کمک معادله خطی به دست آمده(R^2 =0/995) بر اساس وزن خشک آنها محاسبه شد (۲).

۲-۵- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی به منظور بررسی میزان بازارپسندی محصول در نمونه شاهد و نمونه بهینه صورت گرفت. نمونه‌های نان پس از سرد شدن، به منظور ارزیابی بین ۱۲داور انتخابی توزیع شد. محل داوران در طول آزمون حسی ثابت بود و زمان آزمون‌های حسی حدود ساعت ۱۱ صبح انتخاب شد (۸). آزمون حسی مطابق روش هدونیک هفت نقطه‌ای (از بسیار نامطلوب تا بسیار مطلوب) انجام گرفت و صفات عطر و طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی نان توسط داوران مورد بررسی قرار گرفت.

۲-٦- بهینه سازی

هدف از بهینه سازی، به دست آوردن تیمار بهینه به منظور تولید محصولی با کیفیت ارگانولپتیکی مطلوب و همچنین کم‌ترین میزان آکریل آمید می‌باشد. در این مرحله داده های حاصل از انجام آزمایشات به نرم افزار Design expert 13 آزمون باکس بنکن داده شد. برای یافتن نقطه بهینه کم‌ترین سطح آکریل آمید، و بالاترین سطح برای رنگ نان تعریف شد.

۲-۷- تیمارها

با استفاده از نرم افزار Design expert 2013 تیمارهای زیر جهت انجام پژوهش داده شد و از این جا به بعد در نمودارها به جای آوردن ویژگی‌های هر تیمار از شماره تیمار استفاده می‌شود.

شماره تیمار	ویژگی‌ها	شماره تیمار	ویژگی-ها
۱ (شاهد)	اسید۰، آنزیم۰، برشتگی سطح ۲	۸	اسید ۰/۱۵، آنزیم۲۵۰، برشتگی سطح۱
۲	اسید۰، آنزیم۰، برشتگی سطح ۱	۹	اسید ۰/۳، آنزیم۲۵۰، برشتگی سطح۰
۳	اسید ۰/۱۵، آنزیم۰، برشتگی سطح ۰	۱۰	اسید ۰/۳، آنزیم۲۵۰، برشتگی سطح۲
٤	اسید ۰/۱۵، آنزیم۰، برشتگی سطح۲	۱۱	اسید۰، آنزیم۵۰۰، برشتگی سطح ۱
٥	اسید ۰/۳، آنزیم۰، برشتگی سطح۱	۱۲	اسید ۰/۱۵، آنزیم۵۰۰، برشتگی سطح ۰
٦	اسید۰، آنزیم۲۵۰، برشتگی سطح ۰	۱۳	اسید ۰/۱۵، آنزیم۵۰۰، برشتگی سطح۲
۷	اسید۰، آنزیم۲۵۰، برشتگی سطح ۲	۱٤	اسید ۰/۳، آنزیم۵۰۰، برشتگی سطح۲

۳-نتایج و بحث

۳-۱- نتایج ارزیابی رنگ نان تافتون

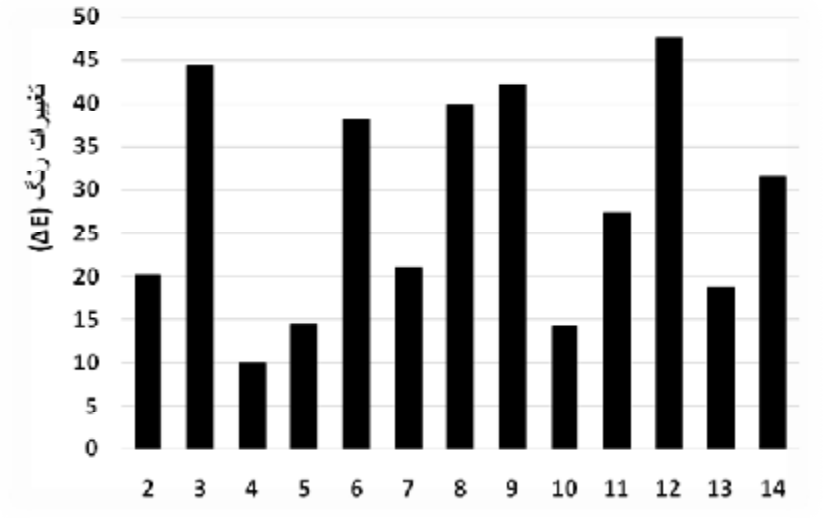
با توجه به جدول ۱ آنالیز واریانس داده ها بیانگر معنی دار بودن اثر تیمار برشتگی بر رنگ نمونه می‌باشند ($p<۰/۰۱$). آن چه از آنالیز واریانس داده ها بر رنگ به دست آمد نشان داد تاثیر افزودن اسید استیک و آنزیم آسپاراژیناز بر رنگ نان‌غیرمعنی‌داربوده است ($p>۰/۰۵$). در پژوهش‌های مشابه نیز اثر اسید حاصل از تخمیر وآنزیم آسپاراژیناز بر رنگ نان غیرمعنی‌دار بود (۵، ۱۰). هرچه میزان ΔE بیشتر باشد بیانگر روشن تر بودن رنگ و هرچه مقدار ΔE کمتر باشد بیانگر تیرگی رنگ نان می‌باشد(۱). همان‌گونه که در شکل ۱ ملاحظه‌می گردد، تیره‌ترین‌رنگ‌درتیمار حاوی ۰/۱۵ درصد اسید استیک و بیشترین میزان برشتگی با ΔE حدود ۱۰ مشاهده‌گردید. این‌درحالی بود که‌روشن‌ترین‌رنگ در تیمار

حاوی ۰/۱۵درصداسیداستیک، ppm۵۰۰ آنزیم آسپاراژیناز درآردو بدون برشتگی با ΔE حدود ۴۷/۵۸ مشاهده گردید.

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای مختلف بر رنگ نان تافتون

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات (رنگ)
مدل	۳	٥٤٢/٤٦**
نمونه شاهد با آنزیم	۱	١٦٤/٥٦ns
نمونه شاهد با اسید استیک	۱	۲/۵۰ns
برشتگی	۱	١٤٦٠/٢٤**
خطا	۹	٤٠/١٠
کل	۱۲	-
ضریب تغییرات	-	۲۲/۲۷ درصد
R^2	-	۰/۸۱۸۵

**: در سطح ۹۹ درصد اختلاف معنی دار است، ns: اختلاف معنی دار نمی‌باشد.



شکل ۱- تاثیر عوامل چندگانه آنزیم آسپاراژیناز و اسید استیک در غلظت‌های متفاوت و درجات مختلف برشتگی بر تغییرات رنگ نان تافتون

۳-۱-۱- اثر برشتگی بر رنگ

نتایج ارزیابی رنگ نشان داد که شاخص L^* با افزایش برشتگی‌وتیره‌ترشدن رنگ نان کاهش می‌یابد. شاخص‌های a^* و b^* با افزایش برشتگی و تیره تر شدن رنگ نان افزایش می‌یابد. به طوری که با ثابت در نظر گرفتن میزان اسید و آنزیم، در برشتگی زیاد نسبت به نمونه بدون برشتگی، شاخص L^*، ۲۵/۹درصدکاهش، شاخص a^*، ۳۹/۱۸ درصد افزایش وشاخص b^*، ۲۱/۴۶ درصد افزایش یافت. همچنین با افزایش‌برشتگی‌وتیره‌ترشدن رنگ نان شاخص ΔEکاهش یافت. آن چه از تجزیه واریانس داده‌ها به دست آمد بیانگر تاثیرمعنی‌دار برشتگی بر رنگ نمونه ها می‌باشد ($p< ۰/۰۱$). بدیهی است در برشتگی سطح صفر، فقط به پخت کامل نان اکتفا شد و فرصت تشکیل رنگدانه‌های قهوه‌ای ملانوئیدین حاصل‌از برشتگی به نان داده نشد. اما با افزایش زمان نگهداری در تنور و افزایش برشتگی تا سطح دورنگ نان به طور واضح تیره‌تر شد و همان طور که انتظار می‌رفت با افزایش‌برشتگی‌شاخص L^* کاهش، شاخص a^* و b^* افزایش و ΔE کاهش یافت. همچنین در نتایج مشابهی براتن و همکاران در سال ۲۰۰۵ افزایش تیرگی رنگ نان‌های مسطح در اثر دما و زمان پخت طولانی بیان کردند(۲). همچنین در پژوهش دیگر یگوکمن و همکاران در سال ۲۰۰۶ میزان تشکیل رنگ در قهوه، نان گندم و سیب زمینی را در محدوده دمایی ۱۵۰ تا ۲۲۵ درجه سلسیوس بررسی کردند. با افزایش دما تیره شدن رنگ قهوه و نان گندم و کاهش روشنی چیپس سیب زمینی مشاهده شد (۸). افزایش زمان نگهداری نان در تنور پس از پخت کامل و افزایش برشتگی نان منجر به کاهش ΔE و تیره تر شدن رنگ نان می‌شود.تا حدی که ΔE در نمونه بدون برشتگی حدود ۴۵ و در نمونه برشته حدود ۱۵ است که‌بیانگرکاهش۶۶/۶۶ درصدی ΔE با افزایش برشتگی می‌باشد.

۳-۲- نتایج آنالیز آکریل آمید

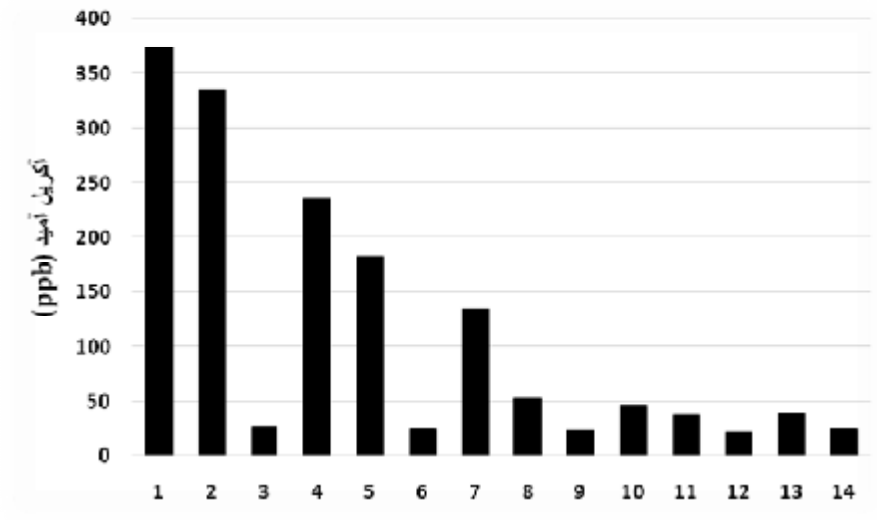
با توجه به جدول۲آنچه از آنالیز واریانس داده ها به دست آمد بیانگر معنی‌دار بودن اثرآنزیم آسپاراژیناز و برشتگی بر میزان آکریل آمید و غیرمعنی دار بودن اثر اسید استیک بر میزان آکریل آمید در محدوده این آزمایش می‌باشد. مقدار حداکثر دوز مجاز توصیه شده[1] ۲ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن به صورت روزانه می‌باشد به طور مثال یک فرد با وزن۷۰ کیلوگرم‌مجاز است کمتر از ۱۴۰ میکروگرم آکریل آمید در روز از طریق مواد غذایی‌دریافت کند(۷). در شکل ۲ تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان آکریل آمید قابل مشاهده است. بیشترین میزان آکریل آمید تولید شده در نمونه شاهد (بدون اسید استیک، بدون آنزیم آسپاراژیناز و بیشترین برشتگی) بود که حاوی ۳۷۴ میکروگرم بر کیلوگرم آکریل آمید می‌باشد و کمترین میزان آکریل آمید تولید شده در نمونه حاوی ۰/۱۵ درصد اسید استیک، ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آنزیم آسپاراژیناز و بدون برشتگی می‌باشد که حاوی حدود ۲۱/۰۶ میکروگرم در کیلوگرم آکریل آمید بود. اما از آن جا که نان بدون برشتگی و خمیری مطلوبیت چندانی برای مصرف‌کننده ندارد می‌توان با تولید نان تافتونی حاوی۰/۳درصد اسید استیک،۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم‌آنزیم آسپاراژیناز و بیشترین میزان برشتگی می‌توان به نانی با ۲۴/۲۷ میکروگرم درکیلوگرم نان، آکریل آمید رسید و این تیمار علاوه بر بافت مطلوب با حفظ برشتگی مطلوب‌ازنظرمصرف‌کننده محتوای آکریل آمید را تا ۹۳/۵۱ درصد نسبت به نمونه شاهد کاهش داد.

1-Maximum Allowable Dose Level (MADL)

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای مختلف بر آکریل‌آمید نان تافتون

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات (آکریل آمید)
مدل	۳	۲۶۰۰۷/۵۸**
نمونه شاهد با آنزیم	۱	۵۳۹۱۰/۱۴**
نمونه شاهد با اسید استیک	۱	۸۱۲۴/۳۰ns
برشتگی	۱	۱۵۹۸۸/۳۰**
خطا	۹	۴۸۴۶/۷۱
کل	۱۲	-
ضریب تغییرات	-	۷۶/۶۶ درصد
R^2	-	۰/۶۴۱۴

**: در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی دار است، ns: اختلاف معنی دار نمی‌باشد.



شکل ۲- تاثیر عوامل چندگانه آنزیم آسپاراژیناز و اسید استیک در غلظت‌های متفاوت و درجات مختلف برشتگی بر محتوای آکریل آمید نان تافتون

۳-۲-۱- تاثیر آنزیم آسپاراژیناز بر آکریل آمید

آنالیزواریانس داده ها نشان داد که افزودن آنزیم آسپاراژیناز تأثیر معنی‌داری بر میزان آکریل آمید نمونه‌های نان تولیدی داشت ($p<$ ۰/۰۱). به طوری که افزودن این ترکیب به آرد، محتوای آکریل آمید نان تافتون را تا حد چشمگیری کاهش داد. درواقع با افزودن ۵۰۰میلی گرم‌درکیلوگرم آرد، محتوای آکریل آمید نان تافتون تا بیش از ۸۵ درصد نسبت به تیمار شاهد با حفظ همان برشتگی کاهش‌یافت.زیزاک‌وهمکاران (۲۰۰۳)درمطالعه‌خودبه‌بررسی‌تأثیرافزودن آنزیم آسپاراژیناز به پوره سیب و پخت آن در مایکروویو پرداختند و گزارش نمودندکه میزان آسپاراژین و محتوای آکریل آمید به ترتیب ۸۸ و ۹۹ درصد کاهش نسبت به روش معمولی کاهش یافت(۲۶). کوکوروا نشان داد زمانی‌که ۲۱۵میلی‌گرم آنزیم آسپاراژیناززدرهرکیلوگرم آرد برای تولید رول نان‌های سرخ شده استفاده شود و نان‌ها در دمای۲۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۸ دقیقه سرخ شوند کاهش ۹۶ درصدی اسیدآمینه آسپاراژین رویت می‌شود .و مقدار کاهش آکریل آمید در حدی است که توسط دتکتور قابل اندازه‌گیری و تشخیص نیست (۱۴). هندریکسن و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر تیمار آسپاراژیناز را بر غلات و قهوه بررسی کردند آن چه از نتیجه این مطالعه به دست آمد شامل کاهش آکریل آمید در

سطوح ۹۰ درصد در چیپس تورتیلا و ۸۰-۷۰ درصد کاهش برای قهوه بود (۹).

۳-۲-۲- اثر اسید استیک بر میزان آکریل آمید

افزودن اسید استیک منجر به کاهش غیرمعنی‌دار در میزان آکریل‌آمیدنمونه‌ها گردید($p>۰/۰۵$).در همین راستا مصداق و همکاران (۲۰۰۸) عنوان داشتند که تاثیر اسید استیک و اسید لاکتیک در کاهش pH و کاهش تولید آکریل آمید در سیب زمینی نسبت به اسید سیتریک بیشتر است (۱۵).

۳-۲-۳- اثر برشتگی بر میزان آکریل آمید

آن چه از آنالیز واریانس داده ها به دست آمد نشان داد که تاثیر برشتگی بر میزان آکریل‌آمید معنی دار بود ($p< ۰/۰۱$) و با افزایش میزان برشتگی نان، مقدار آکریل‌آمید را در نمونه‌ها افزایش‌یافت. آن چه از مطالعه‌منابع مختلف به دست آمد بیانگر این مسئله است که افزایش دما و مدت زمان حرارت‌دهی، افزایش تولید آکریل‌آمید را به همراه خواهد داشت و در این پژوهش افزایش برشتگی با افزایش زمان پخت انجام شد. در نتایج مشابهی کلاوس و همکاران (۲۰۰۸) افزایش مقدارآکریل آمید را در نتیجه افزایش زمان و دمای پخت در نان گندم گزارش کردند (۶). همچنین استدلر و همکاران (۲۰۰۲)نشان دادند که میزان آکریل آمید تولید شده در سیستم‌های مدل شامل آسپاراژین و فروکتوز، گالاکتوز، لاکتوز و سوکروز در دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس بیشتر از دماهای پایین‌تر می‌باشد (۲۴).

۳-۳- نتایج ارزیابی حسی

همان‌گونه‌که ملاحظه می‌گردد بین نمونه شاهد و نمونه بهینه تفاوت‌معنی‌داری‌به لحاظ ویژگی‌های ارگانولپتیکی محصول وجود ندارد(جدول ۳). این مسئله نشان می‌دهد افزودن اسید استیک و آنزیم آسپاراژیناز با وجود اثر کاهشی که بر میزان تشکیل‌آکریل‌آمید در نان، تأثیر معنی‌داری برویژگی‌های ارگانولپتیکی و مطلوبیت و بازار پسندی نان ندارند. در پژوهش مشابهی کیتا و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند پیش تیمار اسیدی برش های سیب زمینی با اسید استیک از لحاظ کنترل تولید آکریل آمید و عدم ایجاد طعم ترش نسبت به اسیدسیتریک‌مطلوب‌تراست(۱۲). جهت‌شناسایی فرمولاسیون بهتر، به‌منظورخارج‌کردن واریانس حاصل از تفاوت داوران، هر داور به منزله یک بلوک در نظر گرفته شد و از آزمون فاکتوریل در طرح بلوک‌های کامل تصادفی استفاده گردید و نتایج حاصل توسط نرم افزار Mstatc آنالیز گردید.

جدول ٤- تجزیه واریانس ارزیابی حسی نان توسط داوران

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		بافت	عطر و طعم	رنگ	پذیرش کلی
تیمار	۱	۰/۳۷۵ ns	۰/۱۷۳ ns	۰/۳۷۵ ns	۰/۱۷۳ ns
داور (بلوک)	۱۱	۰/۷۶۹ **	۱/۱۲۱ **	۰/۴۶۵ ns	۰/۷۵۸ **
خطا	۱۱	۰/۱۹۳	۰/۲۵۷	۰/۱۹۳	۰/۲۵۷
کل	۲۳	–	–	–	–
ضریب تغییرات	–	٪۱۱/۵۸	۱۳/۹۹	٪۹/۰۳	٪۱۱/۳۸

**در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی دار است، ns: اختلاف معنی دار نمی‌باشد.

۳-٤- نتایج بهینه سازی

نتایج حاصل از بهینه سازی نشان داد چنان چه مقدار اسید حدود ۰/۳ درصد، آنزیم در سطح ppm۵۰۰ و برشتگی در بیشترین سطح انتخاب شود، می‌توان نانی با کمترین میزان آکریل آمید، بافتی نرم و رنگی طلایی تولید کرد.

٤-نتیجه گیری

آن‌چه‌این تحقیق را ازسایر پژوهش‌های مشابه متمایزمی‌کند بررسی سطح آکریل‌آمید در نان تافتون که نان سنتی ایرانی و بهره‌گیری هم زمان از عوامل تاثیرگذار برکاهش آکریل آمید مانند تخمیر، کنترل مناسب میلارد با استفاده از اسید خوراکی، کنترل محتوای آسپاراژین با استفاده از آنزیم آسپاراژیناز، بررسی‌تاثیر سطوح مختلف برشتگی بر محتوای آکریل آمید و کنترل دما و زمان پخت می‌باشد. نتایج نشان داد که محتوای آکریل آمید با افزایش برشتگی (زمان حرارت دهی) افزایش چشمگیری داشت.همچنین افزودن. آنزیم‌آسپاراژیناز در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بدون حضور اسید محتوای آکریل‌آمید را در برشتگی سطح دو تا ۸۵ درصد نسبت به نمونه فاقد آنزیم کاهش داد. اما استفاده هم‌زمان آنزیم آسپاراژینازدر غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و اسید استیک در غلظت ۰/۳ درصد محتوای آکریل‌آمید را در برشتگی سطح دو تا ۹۳/۵ درصد کاهش داد. نکته قابل توجه این است که کاهش آکریل آمید با توجه به حفظ خواص ارگانولپتیکی مطلوب انجام شد و در نتیجه تولید نانی با برشتگی مطلوب مصرف کننده با پایین ترین محتوای آکریل آمید نسبت به نوع معمول بدون تغییر درخواص ارگانولپتیکی‌انجام شد.آن‌چه در نتیجه این تحقیق و تحقیقات پیشین به دست آمده این است که استفاده از آنزیم آسپاراژیناز از سایر روش‌ها کارآمدتر بوده و تا حدود زیادی‌محتوای‌آکریل‌آمیدرا بدون تغییر طعم و رنگ کاهش می‌دهد.

۵-منابع

۱. رضوی، م. ع. و اکبری، ر، ۱۳۹۳. خواص بیوفیزیکی محصولات کشاورزی و مواد غذایی. جلد اول، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، صص.۳۰۱-۱۰۹.

۲. قائینی، ز، نیازمند، ر، شهیدی‌نوقابی،م، ۱۳۹٤. اثر مقدار مخمر، زمان تخمیر ودمای سرخ‌کردن بر میزان آکریل آمید و خصوصیات فیزیکوشیمیایی دونات. *نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی*، ٤(٤)، صص.۲۹۸-۲۸۳

3. Bråthen, E. and Knutsen, S.H., 2005. Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. *Food Chemistry*, *92*(4), pp.693-700.

4. Capuano, E., Ferrigno, A., Acampa, I., Serpen, A., Açar, Ö. Ç., Gökmen, V. and Fogliano, V., 2009. Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. *Food Research International*, *42*(9), pp. 1295-1302.

5. Ciesarová, Z. 2016. Impact of l-asparaginase on acrylamide content in fried potato and bakery products. *Acrylamide in Food [Internet]. Elsevier;[cited 2020 Mar 28]*, pp. 405-421.

6. Claus, A., Mongili, M., Weisz, G., Schieber, A. and Carle, R., 2008. Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. *Journal of cereal science*, *47*(3), pp.546-554.

7. Ghasemzadeh V, Atefi M, Homayoonfar R, Hejazi A. and Touderoosta, Z., 2012. Investigation of acrylamide formation conditions and pathways to reduce it in specific food sources. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Industry*, 7(5), pp. 957-968.

8. Gökmen, V. and Şenyuva, H. Z., 2006. Study of colour and acrylamide formation in coffee, wheat flour and potato chips during heating. *Food Chemistry*, *99*(2), pp. 238-243.

9. Hendriksen, H. V., Budolfsen, G. and Baumann, M. J., 2013. Asparaginase for acrylamide mitigation in food. *Aspects of Applied Biology*, (116), pp. 41-50.

10. Katina, K., Heiniö, R. L., Autio, K. and Poutanen, K., 2006. Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT-Food Science and Technology*, 39(10), pp.1189-1202.

11. Keramat, J., LeBail, A., Prost, C . and Jafari, M., 2011. Acrylamide in baking products: a review article. *Food and Bioprocess Technology*, *4*(4), pp. 530-543.

acrylamide formation in French fries. *Food chemistry*, 109(2), pp. 386-392.
20. pittet, A., Perisset, A. and Oberson, J.M., 2004. Trace level determination of acrylamide in cereal- based foods by gas chromatography – mass spectrometery. *Journal of Chromatography A*, 1035, pp.123-130.
21. Przygodzka, M., Piskula, M.K., Kukurová, K., Ciesarová, Z., Bednarikova, A. and Zieliński, H., 2015. Factors influencing acrylamide formation in rye, wheat and spelt Breads. *J. Cereal Sci. 65*, pp.96-102.
22. Rifai, L. and Saleh, F. A., 2020. A review on acrylamide in food: Occurrence, toxicity, and mitigation strategies. *International Journal of Toxicology*, 39(2), pp. 93-102.
23. Sarion, C., Codină, G. G. and Dabija, A., 2021. Acrylamide in bakery products: A review on health risks, legal regulations and strategies to reduce its formation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(8), pp.4332.
24. Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P. A., ... and Riediker, S., 2002. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, *419*(6906), pp. 449-450.
25. Zhang, Y., Ren, Y. and Zhao, H., 2007. Determination of acrylamide in Chinese traditional carbohydrate – rich foods using gas chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometery. *Journal of AnalyticalChemistry. Acta*, 584, pp. 322-332.
26. Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K., ...and Villagran, M. D., 2003. Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(16), pp. 4782-4787.
12. Kita, A., Bråthen, E., Knutsen, S. H. and Wicklund, T., 2004. Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisps during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(23), pp.7011-7016.
13. Krishnakumar, T. and Visvanathan, R., 2014. Acrylamide in food products: a review. *J. Food Process Tech*, *5*(7), p. 1.
14. Kukurová, K., Morales, F. J., Bednarikova, A. and Ciesarova, Z., 2009. Effect of l-asparaginase on acrylamide mitigation in a fried-dough pastry model. Molecular Nutrition & Food Research, 53(12), pp. 1532-1539.
15. Mestdagh, F., Maertens, J., Cucu, T., Delporte, K., Van Peteghem, C. and De Meulenaer, B., 2008. Impact of additives to lower the formation of acrylamide in a potato model system through pH reduction and other mechanisms. *Food Chemistry*, *107*(1), pp. 26-31.
16. Mustafa, A., R, Andersson., J, Rosén., A, Kamal-Eldin. and P, Åman., 2005. Factors influencing acrylamide content and color in rye crisp bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(15), pp. 5985-5989.
17. Negoiță, M. and Culețu, A., 2016. Application of an accurate and validated method for identification and quantification of acrylamide in bread, biscuits and other bakery products using GC-MS/MS system. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *27*, pp.1782-1791.
18. Parker, J.K., Balagiannis, D.P., Higley, J., Smith, G., Wedzicha, B.L. and Mottram, D.S., 2012. Kinetic model for the formation of acrylamide during the finish-frying of commercial French fries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(36), pp.9321-9331.
19. Pedreschi, F., Kaack, K. and Granby, K., 2008. The effect of asparaginase on

(Original Research Paper)

Effect of Degree of Toasting of Taftoon Bread on Acrylamide Content and Comparison of Two Treatments Asparaginase Enzyme and Acetic Acid to Reduce it

Masomeh Barani[1], Mohammad Shahedi Bagh Khandan[2*], Milad Fathi[3]

1-MS.c Graduated of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
2-Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
3-Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Received:27/04/2022 Accepted:02/06/2022

Abstract

Cereals, due to their high carbohydrate content, undergo changes that are sometimes desirable and sometimes undesirable during heating. One of these reactions is Millard. Including Harmful products of this reaction can be called acrylamide. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of degree of toasting on the amount of acrylamide and the effect of two methods of asparaginase enzyme and acetic acid on its reduction in Taftoonbread.For this purpose, the amount of acrylamide was evaluated in Taftoon bread in the level zero, one and two toasting, and as expected, with increasing the amount of toasting (increasing the baking time), more acrylamide was produced in the bread. Then the amount of acrylamide and sensory properties were investigated in breads whose dough was treated with acetic acid at concentrations of 0.15 and 0.3% and asparaginase at concentrations of 250 and 500 ppm.The use of acetic acid and asparaginase enzyme was done in combination according to the plan with Design expert 2013 software. Analysis of variance showed that the effect of toasting on the color was significant, the effect of asparaginase enzyme and acetic acid on the color was not significant and the effect of toasting and asparaginase enzyme on the acrylamide content was significant.The results of optimization with Design expert 2013 software showed that baking bread in level two toast in the presence of asparaginase enzyme with a concentration of 500 ppm and acetic acid with a concentration of 0.3%, the lowest amount of acrylamide, while maintaining the desirability of organoleptic properties.

Keywords: Asparaginase Enzyme, Acetic Acid, Toasting, Cereals, Millard Reaction.

*Corresponding Author: mohamadshahediiii555555@gmail.com