

تأثير استخدام انزيم L-Asparaginase في خفض نسبة الاكريلاميد في البسكويت

مكارم علي موسى

أنفال خالد فيصل

حميد عبود جبر

استاذ مساعد

مدرس مساعد

استاذ مساعد

Makaremal37@yahoo.com

dr_hameedm59@yahoo.com

قسم علوم الاغذية-كلية الزراعة- جامعة بغداد

المستخلص هدفت هذه الدراسة الى معرفة كفاءة انزيم الاسبارجيناز المنتج من عزلة محلية من بكتريا *Erwinia spp.* والمنقى جزئيا في خفض نسبة الاكريلاميد المتكونة في البسكويت . حضراربع انواع من البسكويت من طحين الحنطة هي(T₄,T₃,T₂,T₁) وكانت المعاملة T1 هي معاملة السيطرة. استخدمت تقنية كروماتوغرافي السائل العالي الاداء (HPLC) High performance liquid chromatography لتقدير نسبة الاكريلاميد في البسكويت، كما تم دراسة تأثيرأضافة الانزيم على بعض الصفات الكيميائية والريولوجيه للطحين مثل سلوكية العجينة والامتصاص المائي والنسبة المئوية لكلوتين الطحين ونشاط انزيمات الاميليز كما تم تقييم البسكويت المنتج حسيا، أوضحت النتائج ان اضافة الانزيم بفعالية نوعية 20.5 وحدة / ملغم وينسبة 1 % من وزن الطحين ادى الى خفض نسبة تكون الاكريلاميد الى 89 % مقارنة بأنموذج السيطرة الخالي من الانزيم. وكان لاضافة الحامض الاميني الاسبارجين بنسبة 0.1 % من وزن الطحين الى الخلطة مع جود الانزيم تأثيرا سلبيا على كفاءة انزيم الاسبارجيناز في خفض نسبة الاكريلاميد في المنتج، إذ بلغت نسبة الانخفاض 57.7 %، في حين ارتفعت نسبة الاكريلاميد في المنتج الى 233 % عنداضافة الاسبارجين الى الخلطة بغياب انزيم الاسبارجيناز. أن اضافة الانزيم الى الطحين لم تؤثرعلى النسبة المئوية لكلوتين بل ادت الى زيادة قيمة استقرارية العجينة، كما ادت ايضا الى ارتفاع في نشاط انزيمات الاميليز ، تبين من خلال التقييم الحسي ان اضافة الانزيم لم تؤثر على نوعية المنتج او على صفاته الحسية.

الكلمات المفتاحية: طحين الحنطة، الاسبارجين، تفاعل ميلارد.

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 47(4):1030-1038, 2016

Jebur & et al.

EFFECT OF USING L-ASPARAGINASE IN REDUCING ACRYLAMIDE PERCENTAGE IN BISICUT

H. A. Jebur

A. K. Fasil

M. A. Mousa

Assist. Prof.

Assist. Lecturer

Assist. Prof.

dr_hameedm59@yahoo.com

Makaremal37@yahoo.com

Dept. of food Sciences - Coll. of Agri. -Univ. of Baghdad

ABSTRACT

This study was aimed to know the efficiency of partially purified L- asparaginase produced from local isolate from *Erwinia spp.* to reduce the percentage of acrylamide formed in Biscuit. Four types of biscuit from wheat flour were prepared (T1, T2, T3, T4),and T1 as control. High performance liquid chromatography technique was used to estimate acrylamide ratio in biscuit , Effect of enzyme addition on flour chemical and rheological properties was studied, also dough behavior ,gluten percentage, water absorption and amylase enzyme activity was estimated. The results revealed that the addition of experimental asparaginase (specific activity 20.5 unite mg⁻¹) with 1% of flour weight lead to reduce in acrylamide formation in Biscuit to 89 % compared to control sample (in absence of enzyme) . Moreover, the addition of Asparagine to flour at 0.1 % of its weight, where L- asparaginase was available caused a negative effect on enzyme efficiency in reducing the acrylamide in biscuit. So the level of acrylamide was reduced to 57.7 % . In the other hand , the percentage of acryl amide in biscuit was increased to 233 % when the asparagine was added to mixture in absence of L- asparaginase .Addition of the enzyme to flour have no effect on the percentage value of gluten but improved the stability of dough .The enzyme addition also led to increase amylases activities. Addition of experimental enzyme had no effect on quality and sensory evaluation of biscuit.

Key words: Wheat flour, Asparagine, Maillard reaction Research is part of MSc. Thesis of second auther.

المقدمة

يُعد الاكريلامايد مركباً ذا خطورة تراكمية فهو يتشكل في الاغذية المقلية أو المخبوزة الغنية بالمواد الكربوهيدراتية والحاوية على نسبة من البروتين نتيجة لتعرضها للمعاملات الحرارية الجافة الشديدة (6 و29). وقد أولت الجهات والمنظمات الدولية ذات الصلة بصحة الانسان اهمية كبيرة لمادة الاكريلامايد لذا فقد اجريت دراسات السمية لهذا المركب وعلى وفق نتائجها صنفته الوكالة الدولية لبحوث السرطان International Agency for Research on Cancer (IARC) في عام 1994 على انه مركب ذو قدرة كبيرة على احداث السرطان عند الانسان، كما اثبتت البحوث تاثيراته السمية على اعصاب الانسان وقدرته المحتملة على احداث السرطان (16). وقد وضعت منظمة الغذاء والصحة الدولية عام 1996 حداً اعلى لتركيزه في مياه الشرب عند 0.5 مايكروغرام/لتر⁻¹ (25)، في حين قام الاتحاد الاوربي Europe Union في عام 2002 بخفض هذا الحد الى 0.1 مايكروغرام/لتر . كان لاكتشاف الاكريلامايد في الاغذية النشوية التي تتعرض لدرجات حرارة مرتفعة من قبل ادارة الغذاء السويدية وجامعة ستوكهولم (2002) Swedish national Food Administration بمثابة صدمة كبيرة لكثير من الباحثين، بعدها تكثفت البحوث للوقوف على مستويات الاكريلامايد في الانواع المختلفة من الاغذية وآليات تشكله وإيجاد الحلول المناسبة لخفض مستوياته. إن ميكانيكية تكون الاكريلامايد في الاغذية النشوية starchy food اثناء المعاملات الحرارية العالية تعتمد على تفاعل الحامض الاميني الاسبارجين مع السكريات المختزلة ولاسيما الكلوكلوز إذ تتميز تلك الاغذية بكونها غنية بهما، وتدعى مثل هذه التفاعلات بتفاعلات ميلارد Maillard reaction (27) و(29). ومن الوسائل المستخدمة في خفض نسبة الاكريلامايد في الاغذية النشوية هو اضافة انزيم الاسبارجيناز L- Asparaginase قبل المعاملات الحرارية، فهو يقوم بتحويل الحامض الاميني الاسبارجين الى الحامض الاميني الاسبارتيك والامونيا ومن ثم فهو يؤدي الى خفض اومنع تكون الاكريلامايد في هذه الاغذية (12 و23). يعد البسكويت احد منتجات الخبز المعروفة بانتشارها وذلك لتعدد انواعه واشكاله وهو يلاقي اقبالا واسعا من قبل

المستهلكين ويتناول من فئات عمرية مختلفة، ان هذا المنتج يتميز بارتفاع نسبة السكر في محتوياته اضافة الى ان الحليب يكون احد مكوناته في اغلب الاحيان مما يشجع على تفاعلات ميلارد المرغوبة في المنتج لاعطاء اللون والنكهة له لذلك كان الهدف هو دراسة امكانية خفض نسبة الاكريلامايد في هذا المنتج عن طريق استخدام انزيم الاسبرجيناز.

المواد وطرائق الفحوص الكيميائية والريولوجية

استعمل طحين الحنطة التركي نوع بسلا المجهز من الاسواق المحلية واجريت عليه الفحوصات الاتية:
الرتوية: تم تقدير الرطوبة في الطحين حسب الطريقة، 40.01-44 المذكورة في AACC (1) بتجفيف كمية موزونة من الانموذج في فرن كهربائي على درجة حرارة 130 م حتى ثبات الوزن، تم احتساب الفرق في الوزن قبل وبعد التجفيف ومنها تم احتساب النسبة المئوية للرطوبة. نسبة الكلوتين الرطب: قدرت نسبة الكلوتين الرطب في أنموذج الطحين باستعمال الطريقة القياسية ، المذكورة في AACC (1) باستعمال جهاز Glutomatic gluten المجهز من شركة Perten.

اختبار الفارينوغراف Farinograph: اجري اختبار الفارينوغراف لطحين الحنطة باستعمال الطريقة القياسية (21- 54) المذكورة في AACC (1) باستخدام جهاز الفارينوغراف IDNTNO.72002 المجهز من شركة برايندر الألمانية وتمت دراسة المؤشرات الاتية من منحني الفارينوغراف:

أ. النسبة المئوية للامتصاص المائي Water absorption percentage للطحين على مستوى رطوبة 14 % .
ب- وقت نضج العجينة (دقيقة) Dough development time .

ج - الاستقرار (دقيقة) Dough stability .

تقدير نشاط انزيم الفا أميليز : قدرت فعالية أنزيم الألفا أميليز باستعمال الطريقة القياسية رقم (07-22) المذكورة في AACC (1) بواسطة استخدام جهاز رقم السقوط Falling number 1-700 المجهز من شركة Perten السويدية.

T₃ / أنموذج يحتوي على الاسبارجين (بنسبة 0.1%) فقط. معاملة سيطرة لـ T₄

T₄ / أنموذج يحتوي على الانزيم والحامض الاميني الاسبارجين. وبعد مزج الخليط ترك لمدة 30 دقيقة على حرارة 4 م بعدها نشرت العجينة على شكل طبقة رقيقة بسمك 0.3 cm ، ثم قطعت بقطر 7cm وتركت فترة راحة على حرارة 30 م مدة تراوحت ما بين 10 - 30 دقيقة، ثم جرت عملية الشوي وبأستخدام تيار هواء ساخن في فرن بدرجة حرارة 200م.

التقييم الحسي: اجري تقييم نماذج البسكويت على وفق أستمارة التقييم الحسي من قبل مجموعة من المقيمين طبقاً للدرجات المحددة في استمارة المذكورة في AACC (1) كما في (جدول 1). وتم اجراء مقارنة متوسطات القيم بتحليلها احصائياً باستخدام التصميم العشوائي التام وتحديد قيم اقل فرق معنوي LSD على مستوى معنوية 0.05 (24).

جدول 1. استمارة التقييم الحسي لنموذج البسكويت

عناصر النوعية	النسجة	الطراوة	الوزن	الطعم	الحجم النوعي	المجموع	نسبة الانتشار
حدود الدرجة T ₁ T ₂	10-1	10-1	20-1	20-1	40-1	100	10-1

المخلخل وبدرجة حرارة 80 م ، تم ترشيح الناتج من خلال مرشحات غشائية Millipore Membrane filters بقطر 0.45 مايكرومتر وذلك قبل حقنة في جهاز كروموتوكرافيا السائل عالي الأداء High (HPLC) performance liquid chromatography من شركة Shimatzu اليابانية وكانت ظروف الفصلة 1. نوع العمود water Spherose orb, ODS2
2- ابعاد العمود (250 X2mm)
3- معدل الجريان Flow rate : 0.1 ml/min
4- الطور المتحرك Mobile phase : مكون من خليط Formic . Methanol 1% H₂O 98.9 %::(v/v/v) . acid 0.1%
5- درجة حرارة الفصل : 30 م .
6- Detector type : Uv-light .
7- Wave length : 205 nm .
5- تحضير المحلول القياسي لـ Acrylamide

تحضير البسكويت : تم تحضير اقراص البسكويت على وفق الطريقة المذكورة في Anese وآخرون (4)، حيث تضمنت الخلطة المكونات التالية: مارجرين 40% ، سكروز 35%، ماء 20%، كلوكوز 5%، ملح الطعام 0.7%، مسحوق الخبيز Baking powder 0.5% من وزن الطحين. أضيف مستخلص انزيم الاسبارجين المنقى جزئياً ذو فعالية نوعية 20.5 وحدة / ملغم الذي تم الحصول عليه من دراسة سابقة (13) وبنسبة 1% من وزن الطحين الى المعاملة التي تحوي الانزيم (المعاملة T₂, T₄)، علماً بأن المستخلص الانزيمي اضيف الى الماء أولاً ثم أضيف الاخير الى العجينة لضمان توزيع الانزيم على اجزاء العجينة كلها، حضرتت المعاملات الاتية:

T₁ / أنموذج خالي من الانزيم و الاسبارجين (معاملة سيطرة للمعاملة T₂ وللمعاملة T₃).
T₂ / أنموذج يحتوي على الانزيم فقط.

تحديد نسبة الانتشار لاقراص البسكويت

اتبعت الطريقة القياسية المذكورة في AACC (1) لتحديد نسبة الانتشار لاقراص البسكت، وتم استخراجها من المعادلة الاتية:

معدل القطر لاقراص البسكويت

نسبة الانتشار = معدل السمك لاقراص البسكويت / معدل السمك لاقراص البسكويت
معدل السمك لاقراص البسكويت تحضير أنموذج البسكويت لتحليل الاكريلاميد اتبعت الطريقة التي ذكرها (Anese وآخرون) لتحضير أنموذج البسكويت لتحديد محتواه من الاكريلاميد، إذ اضيف 15 مل من الماء المنزوع الايونات الى 1غم من أنموذج البسكويت المطحون والموضوع في بيكر سعة 100ml وبعد التحريك على درجة حرارة 60 م مدة 30 دقيقة بأستخدام مازج مغناطيسي اجريت عملية نبد مركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة مدة 15 دقيقة وبدرجة حرارة 4 م. سحب 10مل من الرائق وتم اختزال الحجم الى 2- 1.5مل بواسطة المبخر الدوار تحت الضغط

كما تم احتساب نسبة الانخفاض في الاكريلاميد في نماذج المعاملات قيد الدراسة باتباع المعادلة التالية:

كمية الاكريلاميد بالانموذج القياسي

نسبة تخفيض (T1) - كمية الاكريلاميد بالانموذج

الاکريلاميد % =

في الانموذج كمية الاكريلاميد في الانموذج

القياسي (T1)

النتائج والمناقشة

1- تأثير اضافة مستخلص انزيم الاسبارجينز على الصفات الفيزيوكيميائية والريولوجية لطحين وعجينة البسكويت. درس تأثير اضافة انزيم الاسبارجينز ذو فعالية نوعية 20.5 وحدة/ملغم و بنسبة 1% من وزن الطحين على الصفات الفيزيوكيميائية للطحين والعجينة المعدّة لصناعة البسكويت وقد اظهرت النتائج (جدول 3)، ان نسبة الرطوبة في طحين معاملة السيطرة (المعاملة T₁)، والمعاملة التي اضيف اليها الانزيم بنسبة 1% (المعاملة T₂) كانت 12.7% وتعدّ هذه النسب ضمن حدود نسبة الرطوبة الاعتيادية في الطحين درجة اولى والتي تتراوح نسبة الرطوبة فيه بين 10.1-16.5% (28). ويذكر ان المحتوى الرطوبي للطحين لا يؤدي دوراً مهماً في تحديد جودته الا انه يعد عاملاً مهماً في قابلية حفظه في اثناء عملية الخزن، إذ كلما ارتفع المحتوى الرطوبي كلما قلت مدة خزنه.

جدول 3. الفحوصات الفيزيوكيميائية والريولوجية للطحين

والعجينة

الفحص	T ₁ معاملة السيطرة	T ₂ الحاوي على الانزيم 1%
رطوبة %	12.7	12.7
كلوتين %	27	27
رقم السقوط (ثا)	389	326
معايير اختبار الفارينوكراف		
الامتصاص المائي %	57.7	57.5
وقت النضج (دقيقة)	2.2	2
الاستقرارية (دقيقة)	3.4	5

كما اظهرت النتائج ان نسبة الكلوتين في الطحين كانت % 27 في كلا المعاملتين T₁ و T₂ اي انها لم تتأثر باضافة المستخلص الانزيمي وتعدّ هذه النسبة مقاربة لما ذكره موسى

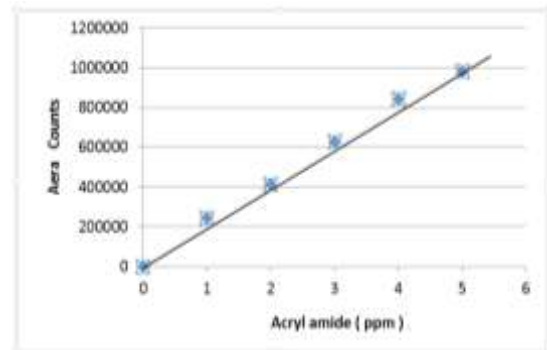
1-5 حضر محلول الاكريلاميد القياسي Stock solution بتركيز 0.05 mg/ml أو ما يعادل 50 ppm حسب ما ذكر في (22) من اذابة 0.05 gm. من مادة الاكريلاميد النقي المجهز من شركة BDH الانكليزية في كمية من الماء المقطر الخالي من الايونات Deionized water وبعد المزج التام اكمل الحجم الى 1000 ml بالماء المقطر الخالي من الايونات Deionized water وحفظ المحلول بدرجة حرارة م.

تحضير ال-Working solutions: حضرت محاليل الاكريلاميد بتركيز تراوحت من 1-5 جزء بالمليون من محلول الاكريلاميد الاساسي وحسب الجدول 2.

جدول 2. تراكيز المحاليل القياسية لمحلول الاكريلاميد

المحلول الخزين بتركيز (50ppm) ml	ماء منزوع الايونات (ml)	الحجم النهائي (ml)	التركيز النهائي لمحلول الاكريلاميد (ppm)
0.2	9.8	10	1
0.4	9.6	10	2
0.6	9.4	10	3
0.8	9.2	10	4
1.0	9.0	10	5

تم حقن حجوم مناسبة من هذه المحاليل بجهاز HPLC وتحت الظروف المذكورة آنفاً، وقد تم احتساب وقت الاحتجاز Retention time للاكريلاميد في المحاليل القياسية ومنه تم الاستدلال على احتواء النماذج قيد الدراسة على الاكريلاميد ، كما تم عمل منحنى قياسي يربط العلاقة بين تركيز الاكريلاميد والمساحة تحت القمة للاستفادة منها في حساب تركيز الاكريلاميد في نماذج البسكويت المستخدمة في هذه الدراسة، شكل (1).



شكل 1: المنحنى القياسي لتراكيز الاكريلاميد (ppm)

وعلاقتها بمساحة القمة وحسب نتائج التحليل بجهاز

الكروموتوغرافيا عالي الاداء (HPLC) High performance liquid chromatography.

والكلوتينين وهو يشير الى قوة الطحين وقابلية الشبكة الكلوتينية على تحمل عملية العجن (5). أما وقت الاستقرار لمعاملة السيطرة T_1 فقد كان 3.4 دقيقة وان اضافة المستخلص الانزيمي ادت الى ارتفاع وقت الاستقرار للعجينة الى 5 دقيقة. وتعد قيم الاستقرار العالية مؤشراً للطحين القوي اذ تبلغ قيم الاستقرار للطحين الملائم لتصنيع الخبز بين 5-11 دقيقة (28) وان اضافة المستخلص الانزيمي بنسبة 1% ادت الى تغيير في بعض معايير الجودة للطحين مثل زيادة في استقرار العجينة وتحسين في نشاط انزيمات الاميليز، وهذا يؤيد ما ذكره Claus وآخرون (10) ان وجود بعض المستخلصات الانزيمية وخاصة الاميليزو لامييلوكوسايديز Amyloglucosidase وبدرجة اقل البروتيز (Proteases) في خلطة المخبوزات تؤدي الى تحسن صفات المخبوزات دون ان تؤثر على مستويات الاكريلامايد في تلك المنتجات على الرغم من زيادة نسبة السكريات المختزلة نتيجة لوجود هذه الانزيمات.

التقييم الحسي للبسكويت ونسبة الانتشار: أظهرت النتائج ان نسبة الانتشار في المعاملة التي أضيف فيها الانزيم بنسبة 1% (T_2) زادت بنسبة طفيفة اذ بلغت 7 مقارنة بمعاملة السيطرة T_1 التي كانت فيها نسبة الانتشار 6.8 (الجدول 4).

وآخرون (20) الذي اشار الى ان نسبة الكلوتين في طحين الحنطة تعدّ من المؤشرات المهمة في تحديد الخواص الريولوجية للعجينة، وأن نوعية الكلوتين تعد الحد الفاصل في تحديد الجودة للطحين. كما بلغ رقم السقوط في معاملة السيطرة T_1 الى 389 ثانية وانخفض في المعاملة T_2 الى 326 ثانية مما يشير الى ان اضافة المستخلص الانزيمي أدت الى ارتفاع نشاط انزيمات الالفا اميليزو قد يعود السبب الى كون المسخلص الانزيمي منقى جزئياً وعليه قد يكون محتوياً على نسبة من انزيمات الالفا اميليز التي تساعد في خفض رقم السقوط، ويذكر ان الحدود المثالية لرقم السقوط في طحين الحنطة المعد لصناعة الخبز يتراوح بين 300-200 ثانية (8) كما اشارت نتائج الفارينوكراف لطحين الحنطة المعد لصناعة الخبز الحاوي على الانزيم بنسبة 1% الى أنه لم يحصل تغيير في قيم الامتصاص المائي إذ بلغت 57.5 و 57.7% لكل من المعاملة T_1 (معاملة السيطرة) و T_2 (المعاملة الحاوية على الانزيم 1%) جدول 3. كما ان وقت النضج للعجينة بلغ 2.2 دقيقة في معاملة السيطرة T_1 وهي مقاربة للحدود التي ذكرها Zain alabaden (28) والتي كانت تتراوح بين 2-4 دقيقة لطحين الحنطة درجة اولى. وحصل انخفاض طفيف في قيمة وقت النضج في المعاملة الحاوية على الانزيم 1% اذ بلغت 2.0 دقيقة. ان وقت النضج له علاقة بمحتوى الطحين من الكلايدين

جدول 4. التقييم الحسي للبسكويت ونسبة الانتشار

عناصر النوعية	النسجة	الطراوة	اللون	الطعم	الحجم النوعي	المجموع	نسبة الانتشار
حدود الدرجة	10-1	10-1	20-1	20-1	40-1	100	10-1
T_1	6	7	17	16	34	80 a	6.8 a
T_2	7	8	18	16	35	84 a	7.0 a

الطحين لم تؤثر على قابلية البسكويت للتكسروتحسن من صفاته الحسية مثل اللون والطعم على الرغم أن تأثيره على نسبة الانتشار كان غير معنوياً. كما يؤيد ذلك ما ذكره kumar وآخرون (17) الذي اشار الى ان اضافة انزيم الاسبارجينيز بتركيز 5-300 وحدة/كغم طحين لم تؤثر على الصفات الريولوجية للعجينة كما انها لم تؤثر على الصفات الفيزيائية والحسية للخبز الناتج. ومن جهة اخرى فقد اشارت النتائج التي حصل عليها kukurova وآخرون (16) انه لاتوجد فروقات معنوية بين المعاملات التي اضيف اليها انزيم

كما تشير نتائج التقييم الحسي لمنتج البسكويت (الجدول 4) ايضاً الى ان مجموع عناصر النوعية بلغت 80 و 84% لكل من المعاملة T_1 , T_2 على التوالي، كما اشارت نتائج التحليل الاحصائي بانه لاتوجد فروقات معنوية بين عناصر النوعية في المنتج بوجود او بغياب الانزيم اي في المعاملة T_2 مقارنة بمعاملة السيطرة T_1 على التوالي ايضاً، وتتفق هذه النتائج مع ما وجدته Anese وآخرون (4) الذي اشار الى ان استعمال انزيم الاسبارجينيز في خلطة البسكويت وينسب مختلفة (250، 500، 750، 1000) وحدة/كغم

نتيجة مقارنة عند اضافة انزيم الاسبارجينيز الى البطاطا المسلوقة بمقدار 1000 وحدة انزيمية/كغم على درجة 50 م مدة 20 دقيقة، إذ وجد أن معدل اختزال الاكريلامايد كان مساويا الى 90 %. وقد فسر ذلك بان عملية السلق اسهمت بتغيير التركيب البنائي لانسجة البطاطا مما سهل من انتشار الانزيم بشكل اوسع وادى الى زيادة فرص تحطم الاسبارجين من قبل الانزيم ومن تثبيط تكون الاكريلامايد.

2-5 تأثير اضافة الحامض الاميني L-Asparagine

لمعرفة دور الحامض الاميني الاسبارجين في تكون الاكريلامايد، اضيف هذا الحامض الى خلطة عجيبة البسكويت بنسبة 0.1 % دون استخدام انزيم L-Asparaginase المعاملة T₃ وتم مقارنتها مع المعاملة القياسية الخالية من الانزيم T₁، اظهرت نتائج HPLC (جدول 5) ان اضافة الحامض الاميني الاسبارجين الى عجيبة البسكويت المعاملة T₃ ادت الى زيادة تكون الاكريلامايد بمقدار 233% مقارنة بالمعاملة القياسية T₁، إذ كانت كمية الاكريلامايد المتكونة في تلك المعاملات هي 3.031 ppm و 0.91 ppm على التوالي. وقد يعود سبب ارتفاع الاكريلامايد الى الارتفاع في نسبة الاسبارجين المضافة الى كمية الاسبارجين الموجودة اصلا في الطحين والتي تتراوح بين 8.7-24.9 ملغم/ كغم حسب ما ذكره Taeymans وآخرون (25)، مما يشير الى دور هذا الحامض في تشجيع تكون الاكريلامايد في ظروف المعاملات الحرارية العالية لاعداد هذا المنتج . وهذا يؤيد ما ذكره Zyzak وآخرون (29) و Amrein وآخرون (3) الذي اشار الى الدور المهم الذي يؤديه الحامض الاميني الاسبارجين في تكون المركبات الوسطية لتفاعلات ميلارد والتي تساهم بالتالي في رفع نسبة الاكريلامايد في الاغذية النشوية. كما اشار Claus وآخرون (11) الى أن تحرر بعض الاحماض الامينية مثل الاسبارجين في طحين الحنطة والشيلم نتيجة لازدياد فعالية الانزيمات المحللة للبروتينات وزيادة تركيزه من 13.7 الى 48.5 ملغم / 100 غم يؤدي الى زيادة تكون الاكريلامايد بنسبة 250 % في المنتجات المخبوزة التي يستخدم فيها هذا النوع من الطحين، لذلك لاينصح باستخدام هذا النوع من الطحين في صناعة المخبوزات حتى اذا تم خلطه بانواع اخرى من الطحين. في

الاسبارجينيز بتركيز 100-500 وحدة/كغم من وزن الطحين والمعاملات التي لم يضاف اليها الانزيم من حيث الصفات الحسية مثل ظهور اسمرار اللون browning أو تكون المركبات التي تدلل على حدوث تفاعلات ميلارد مثل مركب

Hydroxy methyl furfural

تأثير اضافة انزيم L-Asparaginase على نسبة الاكريلامايد المتكونة في البسكويت 1-5 تأثير اضافة

L-Asparaginase الانزيم

اظهرت نتائج HPLC أن اضافة انزيم L-Asparaginase وبتركيز 1% أدت الى خفض نسبة الاكريلامايد بنسبة 89% المعاملة (T₂ مقارنة بالأنموذج القياسي للبسكويت والمحضر بنفس الظروف السابقة المعاملة (T₁) إذ كانت كمية الاكريلامايد المتكونة في المعاملة T₂ هي 0.1 ppm في حين كانت كمية الاكريلامايد في المعاملة القياسية (T₁) هي 0.91 ppm (جدول 5)، مما يشير الى ان اضافة الانزيم أدت الى تحطيم الحامض الاميني الاسبارجين الموجود اصلاً في عجيبة البسكويت خلال فترة اعداد العجيبة وبالتالي فقد ساهم الانزيم في تقليل فرصة تكون الاكريلامايد.

جدول 5 . تأثير اضافة الاسبارجينيز في مستوى الاكريلامايد

المعاملات	كمية الاكريلامايد ppm	سبة الانخفاض او الزيادة في الاكريلامايد نسبة لمعاملة السيطرة %
T1	0.91	
T2	0.10	89
T3	3.031	233
T4	0.385	57.7

وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره Mario وآخرون (19) الذي اشار الى ان اضافة انزيم الاسبارجينيز الى المعجنات المخبوزة ادى الى تخفيض في نسبة الاكريلامايد المتكونة الى 90%. وجد Kukurova وآخرون (16) أن اضافة انزيم الاسبارجينيز بمعدل (100 - 500 وحدة /كغم طحين) الى خلطة العجيبة ادت الى تحويل 96-97% من الاسبارجين الى حامض الاسبارتيك الامر الذي ادى الى خفض نسبة تكون الاكريلامايد بنسبة 90 %، في حين وجد Ciesarova وآخرون (9) أن اضافة أنزيم الاسبارجينيز بتركيز 1 وحدة / غم على درجة 37 م مدة 30 دقيقة ادت الى خفض نسبة الاكريلامايد في لبطاطا الى 97% بعد تعريضها الى حرارة 180 م مدة 20 دقيقة. حصل Franco وآخرون (14) على

الى تقليل الفرصة امام الاسبارجين للتفاعل بها ومن ثم تخفيض او منع تكون الاكريلاميد. وفي دراسة اشار Levine & Smith (18) الى ان للاحماض الامينية الكبريتيدية مثل السستين والمثيونين دورا مشابها للكلايسين في منافسة الاسبارجين في تخفيض نسبة الاكريلاميد، حيث ادت اضافة السستين والمثيونين الى عجينة البسكويت الى خفض نسبة تكون الاكريلاميد بما يعادل 50%. ونستنتج من هذا أن لوجود الحامض الاميني الاسبارجين دورا فعالا في تكون الاكريلاميد، كما ان لاضافة انزيم الاسبارجينيز دوراً مهماً في خفض نسبة الاكريلاميد التي تتكون في البسكويت، لذلك توصي هذه الدراسة الى تثبيت استخدام مستخلص انزيم-L- asparaginase المنتج من العزلة محلية من بكتريا *Erwinia spp.* في اعداد انواع البسكويت لغرض خفض نسبة الاكريلاميد المتكونة فيه الى ادنى حد ممكن، الى جانب الطرائق الاخرى المستخدمة لنفس الغرض اعلاه والمتعلقة بالتحكم بالظروف التصنيعية لانتاج البسكويت أو الاغذية النشوية الاخرى.

REFERENCES

- 1.AACC. 2000. Approved Methods of Analysis: Methods: 44-40.01, 38-77, 54-21, 22-07. The American Association of Cereal Chemist., St. paul, Minesota, U.S.A
- 2.AACC .1984. Approved Method of Analysis: Method: 10-31 the American Association of Cereal Chemist. , St. paul , Minesota , U.S.A.
- 3.Amrein, T., B. Schoenbaechler , F. Esch - erand and R. Amadò. 2005. Acrylamide in ginger bread: critical factors for formation and possible ways for reduction. Journal of Agricultural and Food Chemistry , 52:4282-4288.
- 4.Anese, M., B. Quarta and J. Frias 2011 . Modelling the effect of asparaginase in reducing acrylamide formation in biscuits. Food chemistry, 126 (2) : 435 - 440.
- 5.Awad, A. 2000. Study Relationship Between Physical and Chemical Properties with Quality Properties for some Iraqi Wheat varieties.MSc Thesis,Agri college, Baghdad univ pp:18-22.
- 6.Becalski, A- Lau, B. P. Lewis and D. Seaman. 2003. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51. pp. 802-808.

حين وجد Muttucumaru وآخرون (21) ان نسبة الاكريلاميد تقل بمقدار 80% في الطحين المعامل حراريا اذا انخفضت كمية الاسبارجين من 92.1 ملي مول/كغم الى 4.62 ملي مول/كغم في طحين الحنطة التي اضيف اليها السماد الكبريتي. كما اكد Claus وآخرون (11) لغرض تخفيض نسبة الاكريلاميد في منتجات الحبوب ينبغي استخدام طحين ذا محتوى منخفض من الاسبارجين مع مراعاة الظروف التصنيعية. تشير نتائج هذه الدراسات فضلا عن الدراسة الحالية الى الدور المهم الذي يؤديه الاسبارجين في رفع نسبة الاكريلاميد في المنتجات التي يتم اعدادها باستخدام المعاملات الحرارية العالية.

3-5 تأثير اضافة انزيم الـ L- Asparaginase بوجود

الحامض الاميني L- Asparagine

لمعرفة كفاءة انزيم L-Asparaginase المنقى جزئياً والمنتج من عزلة محلية من بكتريا *Erwinia carotovora AH88* بوجود الحامض الاميني Asparagine فقد اضيف الانزيم والحامض الاميني Asparagine الى عجينة البسكويت T₄ بالنسب نفسها السابقة وتمت مقارنتها بالمعاملة القياسية T₁ الخالية من الانزيم والحامض. أظهرت النتائج HPLC (جدول 5) بأن نسبة الاكريلاميد في المعاملة T₄ قد ارتفعت بمقدار 57.7% مقارنة بمعاملة السيطرة T₁، إذ بلغت كمية الاكريلاميد 0.385 جزء بالمليون في المعاملة T₄، في حين بلغت 0.91 جزء بالمليون في المعاملة T₁. وعند مقارنة هذه النتيجة بالنتائج السابقة فأنها تؤكد مرة اخرى دورالحامض الاميني Asparagine في رفع نسبة الاكريلاميد لدرجة انعكس ذلك سلباً على كفاءة الانزيم، حيث انخفضت كفاءة الانزيم في خفض نسبة تكون الاكريلاميد بنسبة حوالي 35% مقارنة مع المعاملة التي استخدم فيها الانزيم عند عدم وجود الحامض الاميني الاسبارجين T₂. وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره Brathen وآخرون (7) إذ درس تأثير اضافة عدة احماض امينية الى خلطة المعجنات على نسبة تكون الاكريلاميد فقد وجد ان اضافة الكلايسين بنسبة 1.5- 3.5% من وزن الطحين تؤدي الى خفض نسبة تكون الاكريلاميد بنسبة 80% لانه في هذه الحالة يحصل تنافس بين الكلايسين والاسبارجين للتفاعل مع السكريات المختزلة فيؤدي تفاعل الكلايسين مع تلك السكريات

7. Brathen, E., A. Kita and S. Knutsen . 2005. Addition of glycine reduce the content of acrylamide in cereal and potato product . Journal of Agri. Food Chemistry ,53: 3259- 3264.
8. Carl, L. G. 2006. Understanding the Falling Number Wheat Quality Test . <http://www.udel.edu/FREC/PUBS/ER06-02.pdf>.
9. Ciesarová, Z., E. Kiss and P. Boegl, P. 2006. Impact of L-asparaginase on acrylamide content in potato products. Journal of Food Nutrition and Research , 45 (4) : 141-146.
10. Claus, A., M. Mongili, G. Weisz , A. Schieber and R. Carle. 2008. Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. Journal of Cereal Science, 47 (3): 546–554.
11. Claus, A., P. Schreiter, A. Weber, S. Graeff, W. W. Claupein, and R. Carle. 2006. Influence of agronomic factors and extraction rate on the acrylamide contents in yeast-leavened breads. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54:8968–8976.
12. El-shafei, A. M. , M.M. Hassan , M.A. Abouzeid , D.A. Mahmoud and D.H. Elghonemy. 2012. Purification , Characterization and Antitumor Activity of L-asparaginase from *Penicillium brevicompactum* NRC829. British Microbiology Research Journal . 2(3):158-174.
13. Faisal, A .2014. Production of L-Asparaginase from Local Isolate of *Erwinia Spp.* and Studying its Effect on Acrylamide Reduction. Msc Thesis, College of Agriculture. Baghdad. Uni. Iraq.
14. Franco. P., S. Mariotti ; K. Granby and J. Risum. 2011 . Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with conventional blanching . Food Science and Technology, 44(6) : 1343-1554.
15. JEFCA. 2007. Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives. Compendium of Food Additive Specifications. No. 4 FAO JECFA Monographs, Joint FAO/ WHO Expert Commotte on Food Additives. www.fao.org/ag/jefca-additives/specs/monograph4/additive-498-m4.pdf
16. Kukurova, K ., F. Morales , A. Bednar - ikova and Z. Ciesarova. 2009. Effect of L-asparaginase on acrylamide mitigation in a fried dough pastry model . Molecular Nutrition & Food Research, 53(12): 1532–1539.
17. Kumar, K. , S. S. Punia and V. Neelam. 2012 Media optimization for the production of anti-leukemic enzyme L- Asparaginase from *E. coli* K-12. Annals of Biological Research. 3 (10):4828-4837.
18. Levine, R.A. and R.E. Smith. 2005. Sources of variability of acrylamide levels in a cracker model. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 4410–4416.
19. Mario, S., K. Sandra and I. Polikarpov. 2007. Structure, substrate complexation and reaction mechanism of bacterial asparaginases. Current Chemical Biology, 1: 75-86.
20. Mousa. M., A.E.Ktheir. and T.H. Ahmad. 2010. Study the important of assessing gluten content as a guide in predicting the quality of wheat flour and their suitability for the preparation of bread .Food Industrial and Biotechnology Conference .Al Baath Univ.
21. Muttucumaru , N., N. Halford, , S. Elmore, A. Dodson, M. Parry, P. Shewry, and D. Mottram. 2006 . Formation of high levels of acrylamide during the processing of flour derived from sulfate-deprived wheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 8951–8955.
22. Paleologos, E. K. and M. G. Kontominas. 2005. Determination of Acrylamide and methacrylamide by normal phase high performance liquid chromatography and UV detection. J. Chromatogr. A. 1077: 135–128.
23. Sevitri, N. A. and W. Azmi. 2003 .Department of Biotechnology , Himachal Pradesh university summer.hill, Shimla 171
24. Steel, R.G. and J.M. Torri 1989. Principles and Procedures of Statistics: A biometrical approach McGraw-Hill International Book Co. U.S.A. p: 481
25. Taeymans, D., J. Wood , P. Ashby, I. Blank, A. Studer , R. Stadler and D. Silvan . 2004 . A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control. Critical Reviews in Food Science and Nutrition , 44: 323–347.
26. WHO/FAO.2002.FAO/WHO consultation on the health implications of acrylamide in food. Food and Agriculture Organization of

the United NationWorld Health Organization ,
Geneve .June 25-27.

27.Yaylayan, V.A., A. Wnorowski and C. L.
Perez. 2003 .Why Asparagines needs carboh -
ydrates to generate acrylamide. Journal of
Agricultural and Food Chemistry 51: 1753–
1757.

28.Zain Alabaden, M.W. 1979 . Study Instill
the Standard Properties for Iraqi Bread and

Samoon Flour . MSc Thesis. Agriculture
College .Baghdad. Univ.

29.Zyzak, D., R.Sanders , M. Stojanovic , G.
Rizzi, and M. Villagran. 2003. Acrylamide
formation mechanism in heated foods. Journal
of Agricultural and Food Chemistry, 51: 4782-
478.