نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۶ شماره ۴/ سال ۱۳۹۵

مشروط کردن گندم با آب نمک و ارزیابی اثرات آن بر فعالیت آمیلاز، لیپاز و لیپوکسیژناز در آرد حاصل از آن

بابک موسوی[۱*] و مهدی کدیور[۲]

تاریخ دریافت: ۹٤/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۳

[۱] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان
[۲] استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان
[*] مسئول مکاتبه: Email: b.mousavi@ag.iut.ac.ir

چکیده

از مراحل تولید آرد گندم مرحله‌ی نم‌زنی یا مشروط کردن از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است، گندم ورودی جهت آسیاب شدن بایستی دارای رطوبت مناسبی باشد تا سبب تسهیل جدا شدن پوسته از آندوسپرم و آرد شدن هرچه بهتر آندوسپرم شود. فعالیت آنزیم‌ها در غلات نقش تعیین کننده‌ای دارد. آنزیم آمیلاز به سبب آمیلولیتیک بودن، آنزیم لیپوکسیژناز به سبب اثر بر خواص اکسیداسیون-احیا و آنزیم لیپاز نیز به سبب اثر بر اسیدهای چرب مورد توجه هستند. در این پژوهش گندم، با سه غلظت ۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد محلول آب‌نمک به مدت ۲٤ساعت در دمای اتاق عملیات مشروط شد. سپس گندم تا ۸۸ درصد استخراج آسیاب شد و در ادامه فعالیت سه آنزیم آمیلاز، لیپوکسیزناز و لیپاز در این نمونه‌ها با روش اسپکتروفوتومتری (کمی) سنجیده شد. نتایج حاصل حاکی از آن است که نمک اثر منفی بر فعالیت آمیلازدارد و سبب کاهش این آنزیم کم مقدار در گندم‌های ایران می‌شود ($P<۰/۰۰۱$). فعالیت آنزیم لیپاز نیز با افزایش درصد نمک، کاهش پیدا خواهد کرد و پیامد مثبتی بر کیفیت خمیر دارد ($P<۰/۰۰۱$). افزایش فعالیت لیپوکسیزناز با افزایش درصد نمک اثرات مثبت اکسیداسیون گروه‌های تیول پروتئین به گروه‌های دی سولفید خواهد داشت ($P<۰/۰۵$). داده‌های حاصل از کروماتوگرافی گازی نیز موید این حقیقت بود که لینولئیک‌اسید افزایش یافته است که بدلیل افزایش فعالیت لیپوکسیژنازی می باشد. داده‌های رنگ سنجی نیز حاکی از افزایش معنی‌دار آماری شاخص L است ($P<۰/۰۵$) و این امر بیان‌گر روشن‌تر شدن آرد به سبب افزایش اکسیداسیون کارتنوئیدها می‌باشد.

واژگان کلیدی: اسپکتروفوتومتری، آمیلاز، گندم، لیپاز، لیپوکسیژناز

مقدمه

قبل از اینکه دانه فرایند آسیاب‌کردن را طی نماید یا جهت خردکردن و تبدیل به آرد وارد غلتک آسیاب‌کردن گردد، باید شسته شده یا آن را نم‌زده و حالت داد. به عبارت دیگر دانه را باید مشروط نمود. مشروط‌کردن در درجه اول برای تعدیل مقدار رطوبت و پخش یکنواخت آن در تمام سطح دانه، بهبود ویژگی‌های فیزیکی دانه هنگام آسیاب‌کردن وسهولت جداشدن

پوسته از آندوسپرم صورت می پذیرد اما همزمان با این کار، گاهی ویژگی‌های پخت محصول هم بهبود می‌یابد (خدابنده ۱۳۸۲). هنگامی که مشروطکردن در شرایط مطلوب انجام گیرد پوسته گندم سفت، محکم و الاستیک می‌شود ولی اتصال آن به آندوسپرم سست می‌گردد و بعلاوه جداشدن پوسته از دانه سریع‌تر و راحت‌تر صورت می‌گیرد، از سوی دیگر سفت‌شدن و محکم‌شدن پوسته موجب کاهش شکنندگی آن می‌شود و در نتیجه از خرد شدن ذرات جلوگیری شده و این امر سبب می‌شود که ذرات پوسته به راحتی از ذرات آندوسپرم جدا شده وآرد با رنگ سفیدتر و خاکستر کمتر حاصل گردد (حسنی ۱۹۸٦.)

در سیستم بیولوژیکی، موادی که واکنش‌های شیمیایی را کاتالیز می‌کنند، آنزیم ها هستند (شهیدی و همکاران ۱۳۸۲). دانه های غلات سیستم های بیولوژیکی پیچیده‌ای هستند و فعالیت آنزیم ها در غلات بسیار مهم بوده و می‌تواند تعیین‌کننده‌ی کیفیت نهایی محصول باشد. آرد گندم با کیفیت خوب دارای آنزیم‌های گوناگونی است که از جمله می‌توان به آمیلاز (هیدرولیز کننده نشاسته) ، لیپاز و لیپوکسیژناز (آنزیم‌های مرتبط با لیپیدها) اشاره نمود. در حین آسیاب، آنزیم‌ها به طور نابرابر در بخش‌های مختلف توزیع می‌شوند. آلفا و بتا آمیلاز مهمترین آنزیم‌های آمیلولیتیک در گندم و آرد هستند که به طور عمده در جوانه قرار دارند و به مجموع آنها آنزیم‌های دیاستاتیک می‌گویند. آمیلاز غلات، آنزیمی است که پیوندهای گلیکوزیدی موجود در اجزای سازنده‌ی نشاسته (آمیلوز و آمیلوپکتین) رابه طور می‌شکندو در نتیجه انواع دکسترین با وزن مولکولی کم پدید می‌آید (کروگر وهمکاران ۱۹۸۷). مقدار آمیلاز در گندم به ویژه در مناطق آب و هوای خشک کم است که در حین جوانه زنی دانه زیاد می‌گردد. دامنه pH بهینه آمیلاز های غلات در دامنه ۵/۵ – ٤/۵ می باشد (خدلبنده ۱۳۸۲).

لیپازها به عنوان استرگلیسرول هیدرولازها معرفی می‌شوند که تری، دی و منوگلیسیریدهای موجود در سطح حد فاصل بین روغن- آب را هیدرولیز می‌کنند. لیپاز از نظر تقسیم بندی در گروه هیدورلازها قرار می گیرد و در واقع می توان آن را یک استراز دانست زیرا در اثر فعالیت خود قادر است گلیسیریدها را به گلیسیرین و اسیدهای چرب تجزیه نماید. سرعت واکنش و تبدیل چربی به گلیسیرین و اسیدهای چرب بستگی به طول زنجیره های اسیدچرب، pHمحیط و حرارت دارد. سرعت آبکافت به میزان رطوبت یا فعالیت‌آبی نیز بستگی دارد، زیرا آب یک عامل حمل‌کننده برای انتقال سوبسترا می‌باشد (فابیون و همکاران ۱۹۸۱ و حسنی ۱۹۸٦). حداکثر تراکم لیپاز در غلات در سلولهای آلروون و جوانه است. دامنه pH بهینه این قسمت از لیپاز ۷/٤ و دمای بهینه ی آن ۳۸ درجه سانتی‌گراد است. فعالیت لیپاز بستگی به مراحل مختلف رسیدن دانه و میزان رطوبت دارد. هر چه دانه بیشتر برسد، فعالیت لیپاز کمتر می شود (بهرامی وهمکاران ۱۳۸۱).

آنزیم لیپواکسیژناز از دسته اکسیدوردوکتازها و یک نوع آنزیم دی‌اکسیژناز است. این آنزیم فوق‌العاده اختصاصی عمل می‌کند، به این معنی که سوبسترای مورد نیاز آن باید دارای خصوصیات ویژه‌ای باشد. به عبارت دیگر لیپواکسیژنازها گروهی از آنزیم ها هستند که دی اکسیژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه دارای سیستم سیس، سیس -۱و٤ پنتا دی ان را به مشتقات هیدروپرکسی سیس- ترانس دی ان کاتالیز می‌کنند (آنتون وهمکاران ۲۰۰۱، فابیون و همکاران ۱۹۸۱ ، ملاکیان و همکاران ۲۰۰۰). اغلب سوبستراهای خاص این آنزیم ایزومرهای از سه اسیدچرب ضروری یعنی اسید لینولئیک، اسید لینولنیک و اسیدآراشیدونیک هستند. دامنه pH بهینه برای ایزوآنزیم های این آنزیم حدود ۵/۵ می باشد (ملاکیان و همکاران ۲۰۰۰).

اکثر محققان در پی این مهم بوده‌اند که با تغییر و یا افزودن ترکیبی به آب در حین مشروطکردن از اثرات نامطلوب احتمالی در خمیر و نان تولیدی جلوگیری به

عمل آورند. آنها در ابتدا از تیمارهای حرارتی بهره گرفتند که به سبب پرهزینه بودن و اثرات نامطلوب بر محصول نهایی کاربرد چندانی پیدا نکرد. (مونشی[۱] و همکاران ۱۹۹۳) طی تحقیقی برای کاهش اثر لیپاز بر لیپیدها و اسید چرب آزاد تولیدی، محلول $Fecl_3$ و $Nicl_2$ را بر پوسته خام برنج اسپری کردند که به سبب پرهزینه بودن و افزایش رطوبت این روش هم مورد استقبال قرار نگرفت، (سنول[۲] و همکاران ۲۰۰۱) از آب اوزون زده بهره گرفتند واثر این تیمار را بر آرد و خمیر تولیدی بررسی کردند. آنها در این مطالعه از مقدارهای مختلف اوزون (۱/۵ – ۱۱/۵mg/L) بهره گرفته شد، نتایج نشان داد که آب اوزون زده شده اثر مهمی بر خواص فیزیکی شیمیایی و رئولوژیکی آرد و خمیرآن ندارد ولی اثر قابل توجهی در کاهش تعداد کل باکتریها و قارچها دارد. شبیه به این کار را (دیلون و همکاران ۲۰۰۹) انجام دادند ، آنها ازآب اوزون زده با غلظتهای مختلف همراه با اسید استیک ۱ درصد استفاده کردند که در نهایت کاهش بار میکروبی قابل توجهی نتیجه گیری شد. جدیدترین تحقیق انجام شده مربوط می شود به (آندرس و همکاران ۲۰۱۳) بر روی دو رقم گندم سخت سفید بهاره وسخت قرمز زمستانه فرآیند مشروط کردن ودر پی آن آسیاب کردن را انجام دادند. آنها در این تحقیق ابتدا گندم رابا آب دارای نمک ۱درصد و آب حاوی یونهای فلزی مختلف با غلظتهای مختلف واجد شرایط کردند. آنها اثر این تیمار را بر فعالیت آنزیم لیپاز و اثر بخشی این تیمار را بر حجم نان تولیدی و ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر مورد بررسی قرار دادند. گندم قرمز زمستانه به طور ذاتی دارای فعالیت لیپاز بالاتری نسبت به گندم سفید بهاره است. نتایج نشان داد که در هر دوآرد کامل گندم سخت قرمز زمستانه و سخت سفید بهاره زمستانه یونها و نمکهای FeNa-EDT A و KCl و NaCl فعالیت لیپاز را کاهش می‌دهند، در حالیکه یون کلسیم پروپیونات فعالیت لیپاز را افزایش می‌دهد (آندرس و همکاران ۲۰۱۳).

هدف از تحقیق حاضر پی بردن به بررسی احتمالی تاثیر نحوه مشروط کردن بر فعالیت آنزیمهای موثر بر کیفیت آرد گندم بود. میزان نمک مصرفی جهت تولید خمیر ۲– ۰/۵درصد می‌باشد وبا توجه به عوارض مصرف نمک بر سلامتی، نظر به کاهش هرچه بیشتر نمک مصرفی بوده است و نظر به اینکه اکثر آردهای گندم ایران از نظر فعالیت آمیلازی در سطح پایینی قرار دارند، اثر غلظت های مختلف آب‌نمک بر آن بطور خاص مورد مطالعه قرار گرفت. در این بین لیپاز و لیپوکسیژناز به دلیل تاثیرشان بر روی چربی و اسیدهای چرب نیز مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش ها

این تحقیق در آزمایشگاه های گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. رقم گندم سپاهان از سیلوی مرکز پشتیبانی کشاورزی و مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی اصفهان تهیه شد و با ۱۲ درصد سبوس گیری با آسیاب غلتکی آسیاب گردید.

آزمون های شیمیایی آرد

آزمون های شیمیایی روی نمونه های آرد بر اساس روش های مصوب AACC شامل رطوبت (٤٤–١٦)، خاکستر (٠٨–٠١)، پروتئین (٤٦–١٢)، شاخص گلوتن (٣٨–١٢) و اسیدیته (١٠٣ استاندارد ملی ایران) انجام شدند. شاخص فالینگ نامبر بر اساس روش IACC (انون ١٩٦٠) بوسیله یک نوع دستگاه فالینگ نامبر ١٥٠٠ تعیین شد (AACC 1983).

اندازه گیری فعالیت آنزیمی

اندازه گیری فعالیت آمیلاز

الف) تهیه‌ی محلول سوبسترا: جهت تولید محلول سوبسترا ابتدا ۱ گرم از نشاسته محلول (ترجیحاً مرک)

۱- Munshi
۲- Senol

را در ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات با pH= ۷ حاوی ۰/۰۱ مولار $Cacl_2$ حل گردید.

ب) استخراج پروتئین محلول کل : ابتدا ۱۰ گرم از آرد را با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و به مدت زمان ۳۰ دقیقه ظرف محتوی را روی هم‌زن مغناطیسی قرار داده و پس از مخلوط شدن کامل، مخلوط را در ٦۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ٤°C و به مدت زمان ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده و پس از این عمل مایع فوقانی حاصل را جدا کرده و با آب مقطر ۱۰ برابر رقیق شد.

ج) روش اندازه گیری: ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی را با۰/۵ میلی‌لیتر از سوبسترا و ۰/٤ میلی‌لیتر آب‌مقطر در لوله آزمایش به مدت ۵ دقیقه در۳۷°C انکوبه نموده و پس از این مدت زمان ۱ میلی‌لیتر از محلول DNS را به این لوله آزمایش ریخته تا واکنش متوقف شود. در ادامه به مدت ۵ دقیقه درحمام آب‌جوش نگهداری شده وپس از طی شدن این مدت زمان سریعاًتیوب را بیرون آورده و با آب یخ سرد گردید. در این موقع رنگ محلول قهوه‌ای خواهدشد که در ادامه ۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر به آن افزوده و به هم زده شد و سپس جذب نور در ٥٤٦ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد با مالتوز رسم گردید(بری وهمکاران ۲۰۰۲، کارابان و همکاران ۲۰۱۲، جانسون و همکاران ۲۰۰۷، سیدنی وهمکاران ۱۹۵۵).

اندازه گیری فعالیت لیپاز

الف) استخراج پروتئین محلول کل: ابتدا بایستی نمونه به صورت جزئی چربی‌گیری شودکه بدین سبب مقداری از نمونه راوزن کرده و با ۳ حجم هگزان مخلوط کرده و به مدت زمان ۳۰ دقیقه در اوربیتال شیکر با ۱٤۰ دور بر دقیقه مخلوط گردید. نمونه حاصل پس از این عمل مدت زمان حدوداً ۱۰ دقیقه دردمای اتاق قرار داده شد تا مقداری از هگزان تبخیر شود. در ادامه ۱ گرم از نمونه‌ی چربی گیری شده را وزن کرده و در لوله آزمایش ریخته شد. ۰/٦ میلی‌لیتر روغن زیتون به ازای هر گرم نمونه و ۰/۱۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر به ازای هر گرم نمونه به تیوب افزوده و مخلوط گردید. در ادامه لوله به مدت زمان ٤ ساعت در دمای ٤۰°C انکوبه شد، پس از این مدت زمان ۵ میلی‌لیتر هگزان به مخلوط در لوله آزمایش اضافه و به هم زده شدو سپس مخلوط حاصل را در ظرف ته گرد دستگاه سانتریفوژ ریخته و به مدت زمان ۳ دقیقه و در ۱۰۰۰ g سانتریقوژ کرده که پس از این مرحله مایع فوقانی (هگزان) را در ظرف دیگری ریخته و این عملیات مجددا تکرار گردید. در نهایت هگزان جمع‌آوری شده و سپس در دستگاه تبخیرکننده تحت خلاء چرخان در دمای٤٥°C تبخیر گردید و محلول باقیمانده‌اش در ٤ میلی‌لیتر ایزواوکتان حل شد.

ب) روش اندازه گیری: ابتدا استات مس ۵ درصد (حجمی/ وزنی) تهیه گردید و با پیریدین pH آن روی ٦/۱ تنظیم شد. سپس آن را با کاغذ صافی واتمن صاف کرده و درادامه ۱ میلی‌لیتر از این محلول آبی‌رنگ به تیوب حاوی نمونه افزوده و به شدت هم زده شد وسپس به مدت زمان ۱ دقیقه در ۱۰۰۰ g سانتریفوژ گردید و در نهایت جذب نوری در ۷۱۵ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد نیز با اسید اولئیک استاندارد در ایزواوکتان (۱۰mM – ۱) بدست آمد (آندرس و همکاران ۲۰۱۳، باروس و همکاران ۲۰۱۰، هسان و همکاران ۲۰۰۹ ، کیون و همکاران ۱۹۸٦، رز و همکاران ۲۰۰٦).

اندازه گیری فعالیت لیپوکسیژناز

الف) تهیه‌ی محلول سوبسترا: به دلیل حساسیت بالای اسید لینولئیک به اکسیژن، تهیه‌ی محلول سوبسترا بایستی تحت اتمسفر نیتروژن باشد. برای تهیه محلول سوبسترا ۱۵۷/۲ میکرولیتر (µL) اسید لینولئیک خالص را به صورت قطره قطره به مخلوطی از ۰/۵ میلی‌لیتر توئین۲۰ و ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات با pH = ٦/۵ که در حال هم خوردن بوده، اضافه کرده تا اینکه کاملاً حل شود. به منظور شفاف شدن به محلول ۱ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید (۱مولار) اضافه شد. پس از حل شدن کامل اسید لینولئیک محلول حاصل با بافر به حجم نهایی ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد.

ب) استخراج پروتئین محلول کل: برای استخراج آنزیم لیپوکسیژناز از بافر فسفات (pH = ٦/٥) استفاده شد. برای این منظور مقدار ۱۰ گرم آرد را به ۵۰ میلی‌لیتر بافر سرد (دما در حدود ۳°C تا ٥) اضافه کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای پایین (یخچال)٤°C هموژن کرده و یا با شیکر یخچال‌دار عمل استخراج را انجام می‌دهیم. در ادامه سوسپانسیون بدست آمده به تیوب منتقل شده و در ۱۲۰۰۰ g و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژگردید و سپس مایع فوقانی ویال ها را جدا واز میکروفیلترهای با قطر ۰/۲ میکرون عبور داده تا محلول شفافی بدست آید که از این محلول به عنوان منبع لیپوکسیژناز استفاده شد. در تمام طول زمان اندازه‌گیری فعالیت لیپوکسیژناز، عصاره آنزیمی در یخ و در دمای زیر صفر نگهداری شد.

ج) روش اندازه گیری: فعالیت لیپوکسیژناز از طریق اندازه‌گیری افزایش در مقدار جذب در طول موج ۲۳٤ نانومتر در دمای محیط تعیین شد. بدین منظور ۲۹/۹ میلی‌لیتر محلول سوبسترا (لینولئیک) به یک فلاسک ۱۰۰ میلی‌لیتری در بن ماری با دمای کنترل شده‌ی۳۰°C انتقال داده شد. سپس به مدت ۲ دقیقه با پمپ هوا، هوادهی گردید. واکنش با افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیم استخراج شده به فلاسک آغاز می‌شود و سپس در فواصل زمانی ۰/٥ تا ٥ دقیقه هر ۳۰ ثانیه ۱ میلی‌لیتر از محیط واکنش را به تیوب‌های حاوی ٤ میلی‌لیتری سود ۰/۱ نرمال انتقال داده و تغییر در طول موج ۲۳٤ نانومتر، به مدت ٥ دقیقه ثبت شد. هر واحد فعالیت آنزیمی (U) معادل با افزایش یک واحد جذب در طول موج ۲۳٤ nm در دقیقه است. در این تحقیق مقدار جذب در دقیقه، به عنوان فعالیت آنزیمی لیپوکسیژناز در نظرگرفته شد. منحنی استاندارد با استفاده از سرم آلبومین گاوی در غلظت (۵۰ -۱۰۰۰μg/mL) رسم شد (آنتون و همکاران ۲۰۰۱، فناما و همکاران۲۰۰۷، گوکمن و همکاران ۲۰۰۲ ، ملکیان و همکاران۲۰۰۰).

آنالیز رنگ

رنگ آردها با استفاده از یک کالریمتر هانترلب اندازه گیری شدند (AACC 1983).

نتایج آماری

داده های آماری بوسیله آنالیز واریانس ANOVAدر قالب طرح بلوک کاملا تصادفی وکمترین اختلاف معنی داری (LSD) در سطح ٥ درصد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS رسم نمودار ها با نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی آرد

مقایسه میانگین مربوط به اندازه گیری فعالیت آنزیمی انجام شده در جدول ۱ نشان داده شده است. فعالیت بیش از حد آنزیم ها موجب عدم مطلوبیت گندم جهت مصارف نانوایی شده و نیز فعالیت بسیار کم آنزیم ها منجر به تولید فرآورده‌هایی با کیفیت پایین می شود. مقایسه میانگین فعالیت سه آنزیم آمیلاز، لیپاز و لیپوکسیزناز را در آردهایی که با سه تیمار ۰/٥، ۱، ۱/٥ درصد مشروط شده‌اند در جدول ۱ نشان داده شده است.

اثر محلول آب نمک بر فعالیت آنزیمی آمیلاز

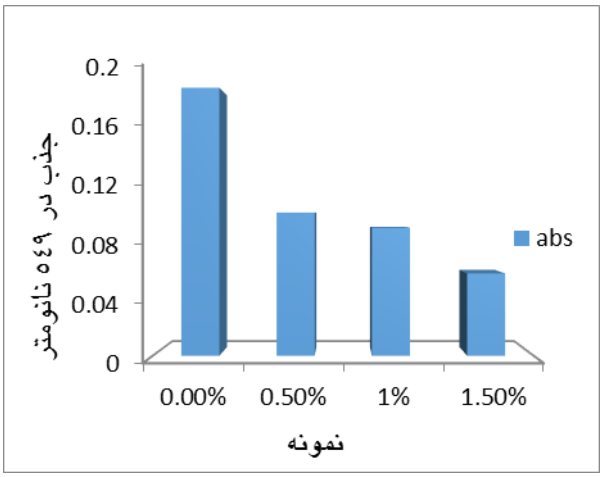
نتایج نشان داد که آردهای تیمارشده‌ی مورد بررسی اختلاف معنی‌داری (p< ۰/۰۰۱) از لحاظ میزان جذب خوانده شده در ٥٤۹ نانومتر(فعالیت آمیلازی) و درصد نمک داشته‌اند (شکل۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان می‌دهد که آرد گندم مشروط‌شده با آب‌نمک ۱/٥ درصد (تیمار شماره ٤) دارای کمترین فعالیت آنزیمی است. این بدان معنی است که ظرفیت آمیلازی آرد مشروط شده با آب معمولی در مقابل آردهای با درصدهای مختلف آب‌نمک بیشتر بوده و نمک موجب کاهش فعالیت آنزیمی شده است (جدول۱). واقعیت آن است که فعالیت آمیلاز در گندم برداشتی از ایران پایین بوده و این نتایج با نتایج (حجتی ۱۳۸۳)، (فروزان‌تبار ۱۳۸٤) و (محرمی ۱۳۸٥) که بر روی سه رقم گندم

فعالیت آمیلازی را اندازه‌گیری نمودند، مطابقت دارد (رجب زاده ، محرمی و همکاران ۱۳۸۸). توهور و همکاران (۲۰۰٤) در تحقیق خود نتیجه گرفت که خواص ویسکوالاستیک خمیر، توانایی حفظ گاز در طول تخمیر و حفظ شکل نان تحت تاثیر فعالیت آلفا آمیلازی قرار دارد به‌طوریکه خمیر حاصل از گندم‌های با فعالیت بالای آمیلاز سیال بوده و قندهای قابل تخمیر به میزان زیادی تشکیل شده و بدین سبب رنگ نان حاصل تیره و سطح نان نامنظم و غیریکنواخت بوده، تردی و پوکی خود را از دست می‌دهد وقابلیت تولید نان مرغوب را نداشته است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در گندم های دارای فعالیت آمیلازی بالا (گندم های جوانه زده)، این نوع تیمارها می تواند نقش تعدیل کننده بسیار خوبی بشمار آید .

جدول ۱- مقایسه میانگین تیمارها بر فعالیت آنزیم‌ها

تیمار	آمیلاز	لیپوکسیژناز	لیپاز
۱	۰/۱۸۹ ^{a}۰±/۰۲۱	۰/۰۰٦۹ ^{b} ۰±/۰۱٦۹	۰/۰۱٤ ^{a}۰±/۰۰۷۲
۲	۰/۱۰۱ ^{b}۰±/۰۱	۰/۰۱۸۹ ^{ab}۰±/۰۰۱۵	۰/۰۰۸۷ ^{b} ۰±/۰۰۰۲۳
۳	۰/۰۹۰۳ ^{bc}۰±/۰۰۵۵	۰/۰۳۵ ^{ab}۰±/۰۲۳۲	۰/۰۰۷۵ ^{b}۰±/۰۰۰۷۸
۴	۰/۰۵۸ ^{c}۰±/۰۳۱	۰/۰٤۹٦ ^{a} ۰±/۰۲٦۱۳	۰/۰۰٤۲ ^{c} ۰±/۰۰۰۵۳

حروف a-c حروف غیرمشابه درهر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال P<۰/۰۵. آرد حاصل از گندم مشروط شده با آب نمک ۰/۰ درصد، ۰/۵ درصد، ۱ درصد، ۱/۵ درصد به ترتیب شماره ۱، ۲، ۳، ٤.



شکل ۱-فعالیت آنزیم آمیلاز در تیمارها

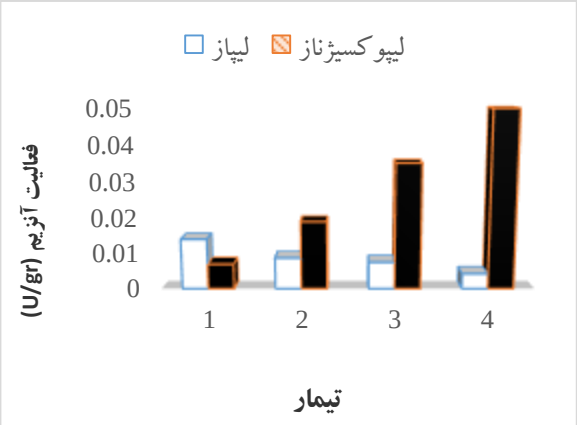
اثر محلول آب نمک بر فعالیت آنزیمی لیپاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که محلول آب‌نمک تاثیر معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) بر میزان فعالیت لیپاز داشته است. همانطور که در جدول و نتایج مقایسه میانگین‌ها مشخص شده است، می توان دریافت که آرد معمولی(تیمار ۱) دارای فعالیت لیپاز بیشتری نسبت به نمونه‌های تیمار شده با آب نمک می‌باشد و این بدان معنی می‌باشد که فعالیت آنزیم با درصد نمک کاهش می‌یابد (شکل ۲). نمک مصرفی موجب می‌شود که تجمع اسید های‌چرب استریفیته‌نشده و دی‌ان‌های‌مزدوج درآرد کمتر تشکیل شود و این بیانگر کاهش فعالیت لیپاز می‌باشد. این نتایج با نتایج آندرس و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد. همه‌ی غلات دارای فعالیت لیپازی بوده اما فعالیت آن به طور گسترده‌ای بین غلات متفاوت است. باروزو همکاران (۲۰۱۰) طی تحقیق نشان داد که نمک اثر کاهنده بر آنزیم لیپاز دارد. بر اساس بررسی های درو و همکاران (۱۹۷۲) فعالیت لیپاز در گندم دارای رطوبت ۱۵ درصد در مقایسه با گندمی که دارای رطوبت ۹درصد می‌باشد حدود ۵ برابر بیشتر است. ماتسودا و همکاران (۱۹۷۹) طی تحقیقی که بر روی برنج انجام داده بود نشان داد که فعالیت آنزیم لیپاز با افزایش درصد نمک کاهش چشمگیری خواهد داشت (محرمی وهمکاران ۱۳۸۸). در آرد و فراورده‌های

آردی، لیپولیز یا تجزیه‌ی چربی سریعتر از دانه‌ی سالم غلات صورت می‌پذیرد. به همین دلیل قابلیت نگهداری فراورده‌های آردی در مقایسه با غلات کم و به میزان لیپید و شرایط نگهداری بستگی دارد. وجود فعالیت لیپازی هم از لحاظ اقتصادی و هم از لحاظ تغذیه‌ای اهمیت داشته و برای این آنزیم درآغاز واکنش‌های اکسیداسیونی نقش دارد و باعث کاهش کیفیت آرد می‌شود.آنزیم‌های لیپولیتیکی مثل لیپازها قادرند پیوندهای استری راشکسته و تجزیه نمایند. تری‌گلیسیریدها توسط لیپازها مرحله به مرحله به گلیسیرین و اسیدچرب تجزیه می‌شود. در گندم مشخص شده است که کاهش کیفیت به وسیله‌ی هیدرولیز لیپازی تری‌گلیسیریدها به اسیدهای چرب غیر اشباع آزاد (حساس به تندشدن اکسایشی) شروع می‌شود. این هیدرولیز سرعت کمی داشته و با افزایش زمان نگهداری، منجر به تجمع اسیدهای چرب غیراشباع می‌شود. بر اساس تحقیقات مشخص شده است که لیپاز در سبوس دانه قرار دارد از این‌رو درجه‌ی استخراج آرد بر میزان لیپاز آرد می‌تواند موثر باشد (اوکونر و همکاران ۱۹۹۲).

اثر محلول آب نمک بر فعالیت آنزیمی لیپوکسیژناز

نتایج تجزیه‌ی واریانس داده‌ها نشان داده است که محلول آب‌نمک اثر معنی‌داری (P< ۰/۰۵) بر فعالیت این آنزیم دارد. آزمون مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد که بین فعالیت لیپوکسیژناز و آب‌نمک یک اثر معنی‌داری دارد وتیمار ٤ دارای بیشترین فعالیت آنزیمی می‌باشد و این بدان معنی است که آب نمک موجب افزایش فعالیت این آنزیم شده‌است و نتایج داده‌های GC نیز بیانگر صحت این موضوع می‌باشد (شکل ۲). کوبیک و همکاران (۲۰۰۰) دامنه‌ی تغییرات فعالیت ویژه‌ی لیپوکسیژناز گندم را بین ٦/٠٦ تا ۹/۰۲ (واحد در میلی‌گرم پروتئین) و در جو تغییرات فعالیت لیپوکسیژناز بین ۱/۰۳ تا ۳/۸۹ در طی جوانه‌زنی بیان نمودند. در تحقیقات آنها نیز فعالیت لیپوکسیژناز از یک روند صرف افزایشی پیروی نمی‌کند که این موضوع با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. لیپوکسیژنازها گروهی از آنزیم‌ها هستندکه اکسیداسیون اسیدهای‌چرب غیراشباع چندگانه را به مشتقات هیدروپراکسی کاتالیز می‌کنند (آنتون و همکاران ۲۰۰۱، فنامنا و همکاران ۲۰۰۷). اهمیت لیپوکسیژنازها در تهیه‌ی خمیر ونان این است که این آنزیم‌ها اسیدهای‌چرب را به هیدروپرکسید تبدیل کرده و در نتیجه هیدروپراکسیدها قادر هستند گروه‌های تیول پروتئین دانه را به گروه‌های دی‌سولفید اکسید کند. در این صورت ساختار خمیر ثبات پیدا کرده و مقاومت خمیر افزایش می‌یابد. علاوه بر این لیپوکسیژناز اثر سفیدکنندگی دارد که این خود در تهیه‌ی برخی نان‌ها حائز اهمیت بسیار است. این آنزیم باعث می‌شود رنگ زرد بتاکاروتن در اثر اکسیداسیون از بین رفته و سفید گردد. هیچ شواهدی برای رنگبری رنگدانه‌ها که به طور خاص در ارتباط با آنزیم باشد وجود ندارد. به نظر می‌رسد که رنگبری از طریق فعل‌وانفعالات رادیکال‌های هیدروپراکسی یا اپوکسی با رنگدانه‌ها صورت می‌گیرد (رجب زاده ، استافر و همکاران ۱۹۸۷).



شکل۲- فعالیت آنزیم لیپاز و لیپوکسیژناز در تیمارها

ارزیابی رنگ آرد

نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان می‌دهد که افزایش درصد نمک در مشروط‌کردن گندم اثر معنی‌داری (P<۰/۰۵) بر میزان شاخص L , a , b داشته است. آزمون مقایسه

میانگین نیز نشان داد که آرد با ۱/۵ درصد نمک دارای بیشترین مقدارL نسبت به سایر تیمارها می‌باشد. افزایش شاخصL با افزایش درصد نمک بدان معنی است که آرد روشن‌تر شده است که این را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز و انجام عمل اکسیداسیون رنگدانه نسبت داد. اکسیداسیون لیپیدها به صورت غیرآنزیمی توسط اکسیژن و به صورت آنزیمی توسط آنزیم لیپوکسیژناز انجام می‌پذیرد (خدابنده ۱۳۸۲). با توجه به جدول ۲، افزایش شاخص a به نظر می‌رسد به دلیل اکسایش بیشتر رنگیزه‌های سبز رنگ طی گذشت زمان تحت تاثیر اکسیژن، سایر عوامل اکسیدکننده و نور خورشیدباشد. همانطور که انتظار می‌رفت، شاخصb کاهش معناداری یافت که دلیل آن به سبب افزایش فعالیت لیپوکسیژناز و انجام عمل اکسیداسیون بر کاروتنوئیدها می‌باشد (ملکیان ۲۰۰۰).

جدول ۲- نتایج سه فاکتور b, a, L در تیمارها

تیمار	L	a	b
۱	۸٦/۸٤ ab۰±/۰٦۸۱	۱/٥٤ b ۰±/۰۲۷	۱۰/۹۷ a۰±/۰٤۹
۲	۸٦/۷۷ b۰±/۱۳۱	۱/۷۱ ab ۰±/۱۹۹	۱۰/۷۸ b۰±/۰۳۲
۳	۸۷/۳۹ a ۰±/۰٥۷۷	۱/۷۳ ab۰±/۱۷٥	۱۰/٥۰ c۰±/۱۲۹
۴	۸۷/۲۱ ab۰±/۰۹۲	۱/۹۱ a۰±/۳۱	۱۰/٤۷ c۰±/۱٥۸

حروف a-c حروف غیرمشابه درهر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال P<۰/۰٥.

نتایج پروفیل اسیدهای چرب

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که بین تیمارها و مقدار پالمیتیک اسید رابطه معناداری وجود ندارد و این بدان معنی می‌باشد که اثر نمک در فرایند مشروط‌کردن گندم اثری بر اسیدهای چرب اشباع ندارد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها که در جدول۳ قابل مشاهده است نشان می‌دهدکه تیمار اثر معنا داری بر اسیدهای چرب لینولئیک اسید داشته است. همانطور که قبلا ذکر شد اسیدچرب لینولئیک سوبسترای آنزیم لیپوکسیژناز می‌باشد و در پی افزایش درصد نمک، فعالیت این آنزیم افزایش یافت و اثرگذاری و دی‌اکسیژناسیون اسیدهای‌چرب غیراشباع چندگانه که دارای سیستم سیس، سیس -۱،٤پنتا دی ان می‌باشند را به مشتقات هیدروپرکسی سیس-ترانس‌دی‌ان کاتالیزمی کندوسبب دی‌اکسیژناسیون لینولئیک اسید شده که این ترکیبات به عنوان محصولات اولیه واکنش بوده و دارای ساختار کنژوگه هستند. اغلب سوبستراهای خاص این آنزیم ایزومرهای از سه اسیدچرب ضروری یعنی اسید لینولئیک، اسید لینولنیک، اسیدآراشیدونیک هستند (گلی وهمکاران ۲۰۰۸). اما در موردکاهش اسید چرب اولئیک اسید می‌توان این مطلب را مطرح کرد که آنزیم لیپاز یک آنزیم عام می‌باشد و یک نوکلئوفیلیک کاتالیز است و بر طیف گسترده‌ای از تری‌گلیسیریدها اثر گذار است و آن عمل اختصاصی لیپوکسیژناز را ندارد. تصور می شود لیپاز، آنزیمی است که تری گلیسیریدها را می شکند، با این حال تفکیک فعالیت آن از فعالیت دیگر استرازها مشکل است. لیپازها به عنوان استرگلیسرول هیدرولازها معرفی می‌شوند که تری، دی و منوگلیسیریدهای موجود در سطح حد فاصل بین روغن- آب را هیدرولیز می‌کنند. در اثر فعالیت لیپاز اسیدهای چرب یکباره تشکیل نمی گردند، بلکه ابتدا دی گلیسیریدها و سپس منوگلیسیرید بوجود می‌آید. یکی از مشخصات لیپاز تأثیر نسبی ویژه ای آن می‌باشد یعنی علاوه بر اینکه قادر است گلیسیریدها را هیدرولیز نماید،

می توانند استرها را نیز هیدرولیز کند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت لیپازهای مختلف مراحل تجزیه متفاوتی(بر روی استرهای اسیدچرب با زنجیره‌های متفاوت) دارند. ویژگی خاص لیپازها در این است که اساساً در سطح میان امولسیون آب و چربی اثر خود را ظاهر می‌سازند به این ترتیب هر عملی یا شرایطی که باعث افزایش سطح میان آب و چربی در یک سیستم امولیسونی شود، افزایش فعالیت لیپاز را به همراه دارد. دلیل کاهش شدید اسید اولئیک مربوط به کاهش فعالیت آنزیم لیپاز می باشد که با کاهش فعالیت این آنزیم تجزیه تری‌گلیسیریدها مانند تری‌اولئین نیز کاهش یافته و تولید اسید اولئیک نیز کمتر خواهد بود (محرمی وهمکاران ۱۳۸۸، فنامنا ۲۰۰۷، خان وهمکاران ۲۰۰۹).

جدول ۳- مقایسه میانگین تیمارها بر اسیدهای چرب اولئیک اسید و لینولئیک اسید

تیمار	لینولئیک اسید	اولئیک اسید
۱	۵۶/۸۰ a	۱۷/۲۵ a
۲	۵۶/۰۶ b	۱۶/۸۱ a
۳	۵۵/۹۴ c	ND b
۴	۵۰/۸۱ d	ND b

حروف a-c حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال (P<۰/۰۵)

نتایج عدد فالینگ

نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد فالینگ بیان می کند که تمام تیمارها دارای فعالیت پایین آمیلازی می‌باشند و با افزایش درصد نمک در تیمار مشروط‌کردن از فعالیت بسیار کم آنزیم ها باز هم کاسته شده است. در طی این اندازه گیری ۹۳۰، ۱۰۶۸، ۱۱۲۸، ۱۳۴۹ ثانیه برای تیمارها به ترتیب ۱، ۲، ۳، ٤ ثبت شد. بدیهی است هر قدر مقدار و فعالیت آنزیم بیشتر باشد، این عمل در در مدت زمان کمتر و هرقدر مقدار و فعالیت آنزیم کمتر باشد در مدت زمان طولانی‌تری انجام می‌شود و لذا می توان فعالیت تقریبی آنزیم را تخمین زد. عدد فالینگ پایین تر از ۱۵۰ ثانیه بیانگر فعالیت بالای آمیلاز، ۱۵۰ تا ۲۵۰ ثانیه فعالیت طبیعی و مطلوب و بیشتر از ۲۵۰ ثانیه نشانگر فعالیت پایین آمیلاز می‌باشد (بهرامی و همکاران ۱۳۸۱، حسنی وهمکاران ۱۹۸٦).

نتیجه گیری

با توجه به اینکه آرد مورد استفاده در تولید نان مهمترین تاثیر را بر کیفیت نهایی محصولات تولیدی دارد، از این‌رو توجه به ویژگیهای آرد به خصوص اجزاء تشکیل دهنده‌ی آرد و درک صحیح از آنها ما را در تولید یک محصول مناسب کمک خواهد کرد. مرحله-ای که بسیار با اهمیت می‌باشد و می‌توان با دستکاری کردن آب مصرفی و افزودن نمک‌های متفاوت، اثر-گذاری نمک‌ها را بر آنزیم‌ها و در پی آن بر خواص خمیر مشاهده کرد و می‌توان کمک بسیار بزرگی در کاهش ضایعات انجام داد . فعالیت خیلی کم آنزیم‌ها مشکلات فراوانی را در فرآیند تولید به همراه خواهد داشت و فعالیت بیش از حد آنزیم‌ها نیز منجر به تولید فرآورده‌های با کیفیت پایین خواهد شد. تمایل به تنظیم فعالیت آنزیمی و بهینه‌سازی سطح آنزیم‌های درون‌زای گندم به کمک سایر منابع آنزیمی نقطه‌ی آغاز و مبنای به‌کارگیری آنزیم‌ها در صنعت نانوایی است.

با توجه به آزمایشات صورت گرفته می‌توان نتیجه گرفت که اثر نمک بر دو آنزیم لیپاز و لیپواکسیژناز مثبت تلقی می‌شود. در این میان فعالیت آمیلاز کاهش نشان می‌دهد که البته می‌توان برای آن تمهیداتی اندیشید. نتایج بدست آمده از دستگاه رنگ‌سنج بیانگر افزایش معنا دار شاخص L بود که به معنای روشن‌تر شدن آرد می‌باشد. همچنین شاخص a نیز افزایش معنی‌داری داشت. شاخص b نیز کاهش یافت که معنادار نبود. نتایج حاصله از دستگاه کروماتوگرافی گازی نیز نشان داد که افزایش نمک اثری بر اسیدهای چرب اشباع

بلندزنجیر نداشته است ولی بر اسیدهای چرب غیراشباع بلندزنجیر اثر گذار است و سبب کاهش اسید چرب لینولئیک‌اسید و اولئیک‌اسید شده است. با توجه به کاهش فعالیت آنزیم آمیلاز پیشنهاد می‌شود از سایر منابع این آنزیم مانند منابع قارچی، باکتریایی، مالت جهت افزایش و بهینه‌نمودن فعالیت این آنزیم استفاده شود و با توجه به اینکه نان در کشور ما به صورت کارگاههای کوچک تولید می‌شود و کنترل و آزمودن فعالیت آنزیم و بهینه‌سازی آن کار دشواری است لذا پیشنهاد می‌شود که بهینه‌سازی فعالیت آنزیم‌ها در گندم در اداره غله با حضور افراد متخصص صورت گیرد همچنین تولید خمیر و نان از ٤ تیمار مورد آزمون در این تحقیق و بررسی فاکتورهایی مانند جذب‌آب، کشش-پذیری، آزمون بیاتی، خواص رئولوزیکی، ارزیابی حسی و حجم و طعم نان تولیدی نیز می تواند موضوع قابل توجهی برای محققان این صنعت باشد.

منابع مورد استفاده

خدابنده ن، ۱۳۸۲، *غلات*، انتشارات دانشگاه تهران.

شهیدی م، حسینی نژاد م، ۱۳۸۲، آنزیم‌ها در صنایع غذایی(ترجمه)، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

محرمی الف، شاهدی م، کدیور م، ۱۳۸۸، بررسی فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز، لیپوکسیژناز در گندم و تغییر فعالیت آنها در قبل و بعد از دوره جوانه‌زنی، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ٤٧ (۱)، ۱-۱۳.

American Association of Cereal Chemists. 1983. Approved Methods of the AACC. St. Paul, MN.

Andres F, Doblado M, Elizabeth A and Devin J, 2013. Effect of Salt solutions applied during wheat conditioning on lipase activity and lipase stability of whole wheat flour. Journal of Food Chemistry 140: 204-209.

Anton G, Barrett M, 2001. Colorimetric method for the determination of lipoxygenase. Journal of Agriculture Food Chemistry 49: 32-37.

Barros M, Fleuri L, Macedo G, 2010. Seed lipases: sources, applications and properties- a review. Brazilian Journal of Chemical Engineering 27: 15-29.

Barry V, Cleary M, Mcnally M and Monaghan D, 2002. Measurement of alpha-Amylase Activity in White Wheat Flour, Milled Malt, and Microbial Enzyme Preparations, Using the Ceralpha Assay: Collaborative Study. Journal of AOAC International 85:5.

Caraban A, Vasilica P, Eugen M, Sanda F, 2012. Spectrophotometric studies about amylase activity in starch hydrolysis reaction. European Regional Development Fund 121:2.

Faubion j and Hoseney C, 1981. Lipoxygenase: Its biochemistry and role in bread making. Journal of Cereal Chemistry 58: 175-180.

Fennema O, Damodaran S, Parkin K, 2007. Fennemas Food Chemistry 4th ed. CRC Press.

Gokmen V, Serpen A, Atli A, Koksel H, 2007. A practical spectrophotometric approach for the determination of lipoxygenase activity of durum wheat. Journal of Cereal Chemistry 84(3): 290-293.

Gokmen V, Bahceci S, Acar J, 2002. Characterization of crude lipoxygenase extract from green pea using a modified spectrophotometric method. Europian Food Research Technology 215: 42-45.

Goli A, Kadivar M, Keramat J and Fazilati M, 2008. Conjugated linoleic acid (CLA) production and lipase catalyze di enteresterification of purified CLA with canola oil. European Journal of Lipid Science and Technology 11: 400-404.

Hasan F, Shah A, Hameed A, 2009. Methods for detection and characterization of lipases: a comprehensive review. Biotechnology Advances 27: 782- 798.

Hoseney R, 1986. Principles of Cereal and Technology. AACC. St. Paul. MN.

Johnson R, 2007. Measuring amylase activity in cereal grains. Research Methods 09: 11-13.

Khan KH, Shewry P, 2009. Wheat: Chemistry and Technology. 4th ed. Approved Methods of the AACC.

Kruger J and Linback R, 1987. Carbohydrate-degrading Enzymes in Cereals 117-139.

Kwon D, Rhee J, 1986. A simple and rapid colorimetric method for determination of free fatty acids for lipase assay. Journal of the American Oil Chemists Society 63(1): 89-92.

Marcier M and Gelinas P, 2000. Effect of lipid oxidation on dough bleaching. Journal of Cereal Chemistry 78(1): 36-38.

Oconner J, Perry J and Harwood L, 1992. A comparison lipase activity in various cereal grains. Journal of Cereal Science 16:153-163.

Rose D, Pike A, 2006. A Simple Method to Measure Lipase Activity in Wheat and Wheat Bran as an Estimation of Storage Quality. Journal of the American Oil Chemists Society 83: 415-419.

Sidney P, Kaplam O, 1955. Methods in Enzymology. Academic press.

Evaluation and effect of salt added to wheat conditioning water on lipase, amylase, lipoxygenase activity and their stability in whole wheat flour

B Mousavi*[1] and M Kadivar[2]

Received: November 16, 2015 Accepted: May 23, 2016
[1]MSc Student, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
[2]Professor, Department of Food Science, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
*Corresponding author: E mail: b.mousavi@ag.iut.ac.ir

Abstract
Among the pretreatment process, conditioning is of great importance as input to grind wheat should be a good moisture to facilitate separation of the bran from the endosperm and flour is getting better. Enzymes is importance recognition and activity because its determine quality of their work is the how to grinding of grain. Amylase enzyme due to amylolytic properties, lipoxygenase enzyme is effective nutritive value due to oxidation-reduction properties. lipase also hydrolyzed fatty acids and their side effects commonly affected. In this study, first the wheat conditioned with concentrations of 0.5, 1, 1.5 percent brine For 24 hours at room temperature and the wheat was milled to 88% extraction and more determined activity of the enzyme amylase, lipase and lipoxygenase by spectrophotometer assay (quantitatively). The results suggest that salt has a negative effect on amylase activity and a cause significant decrease ($P< 0.001$). Lipase activity by increasing the percentage of salt, a significant reduction will decreased and has a positive impact on dough quality ($P< 0.001$). Significant increase lipoxygenase activity with the increase of salt percent, has a positive effect such as oxidation thiol protein group to di sulfide ($P<0.05$). This fact was also confirmed by gas chromatography data what linoleic acid was increased. Colorimetric data also showed an increase L index and this represents an increase in the oxidation of carotenoids is to clarify flour ($P < 0.05$).

Key Words: Amylase, Lipase, Lipoxygenase, Spectrophotometric, Wheat