مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نهم، شماره 3، پاییز 1393، صفحات 62-53

اثر ترکیبی آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بر بهبود خصوصیات کیفی، رئولوژی و حسی نان بربری نیم‌پز منجمد

تکتم هجرانی[1]، زهرا شیخ الاسلامی[2]، علی مرتضوی[3]، مهدی قیافه داوودی[2]

1- نویسنده مسئول: دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، ایران پست الکترونیکی: hejrany_toktam@yahoo.com
2 - استادیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد، ایران
3- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

تاریخ دریافت: 92/11/22 تاریخ پذیرش: 93/3/15

چکیده

سابقه و هدف: یکی از روش‌های ارائه نان تازه که امروزه در اغلب نان‌های صنعتی مد نظر قرار گرفته، تولید و عرضه خمیر و نان‌های منجمد به شیوه‌های مختلف از جمله نان نیم‌پز و منجمد است. این پژوهش با هدف بررسی اثر ترکیبی آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در بهبود خصوصیات کیفی، رئولوژی و حسی نان بربری نیم‌پز منجمد انجام شده است.

مواد و روش‌ها: آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در سه سطح (صفر، 0/05و 0/07) به فرمول نان اضافه، و نان به صورت نیم‌پز تهیه شده برای 15روز در دمای $-18^{\circ}C$ در فریزر نگهداری شد، سپس پخت کامل انجام و ویژگی‌های نان مثل حجم، تخلخل، ویژگی‌های بافتی، رنگ و خصوصیات حسی آن اندازه گیری شد.

یافته‌ها: نتایج آزمون‌ها نشان داد که آنزیم آمیلاز در سطح 0/05درصد بر بهبود میزان تخلخل، شاخص b، کاهش سفتی نان و بهبود فاکتورهای حسی، و در سطح 0/07 درصد بر بهبود حجم، کشش پذیری و استفاده از آنزیم لیپاز در سطح 0/07 باعث بهبود حجم، روشنایی، شاخص b، سفتی و کشش پذیری و در غلظت 0/05 بر بهبود تخلخل مؤثر بود. استفاده از 0/07 آمیلاز و لیپاز بر بهبود ویژگی‌های رئولوژی و کیفی و ترکیب 0/07 آمیلاز و 0/05 لیپاز بر بهبود مؤلفه‌های رنگ و فاکتورهای حسی نان نیم‌پز و منجمد پس از پخت کامل مؤثر بوده است.

نتیجه‌گیری: استفاده از آنزیم‌های آمیلاز در سطح 0/07 و لیپاز در سطح 0/05 در بهبود ویژگی‌های بافتی، کیفی و حسی نان بربری در چرخه تولید به صورت نیم‌پز منجمد، پس از پخت کامل پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز، ویژگی‌های نان، نان نیم‌پز منجمد، نان بربری

• مقدمه

یکی از روش‌های ارائه نان تازه که در اغلب نان‌های صنعتی مد نظر قرار گرفته، تولید و عرضه خمیر و نان‌های منجمد به شیوه‌های مختلف از جمله نان نیم‌پز و منجمد است. تولید خمیر یا نانی که با روش انجماد می‌بایست عرضه شود شرایط متفاوتی با روش‌های معمول عرضه نان دارد، در روش‌های معمول از آنزیم‌ها، امولسیفایر و مواد کمک کننده به مخمر معمولی استفاده می‌شود. اما امروزه برای تولید نان منجمد، بهبود دهنده‌های تجاری مختلفی تولید و عرضه می‌شود که شرایط متفاوتی با روش‌های معمول دارند. در این خصوص جایگزینی امولسیفایرها با آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز و تغییر در میزان و نسبت آنزیم‌ها تأثیر بسزایی در حفظ کیفیت خمیر و نان طی انجماد خواهند داشت.

پژوهش‌های فراوانی استفاده از آنزیم‌های تجزیه کننده پلی ساکاریدها را به عنوان گزینه‌ای برای حفظ کیفیت نان و تأخیر در بیاتی، پیشنهاد کرده‌اند (1). در میان این آنزیم‌ها آلفا آمیلاز به عنوان مؤثرترین روش آنزیمی در کاهش بیاتی نان بوده است، که از طریق هیدرولیز جزئی نشاسته تولید مولکول‌هایی با وزن مولکولی کمتر می‌کند، و مانع بلوری شدن آمیلوپکتین می‌شود (2). از ویژگی‌های آلفا آمیلاز در نان، اثر آن بر تجزیه نشاسته‌های آسیب دیده آرد و تولید

دکسترین با وزن ملکولی کمترکه قابلیت تخمیر شدن به وسیله مخمر را دارد می‌باشد و درنتیجه سبب افزایش حجم و بهبود بافت نان می‌شود (5-3).

یکی دیگر از آنزیم هایی که امروزه کاربردهای فراوانی در صنعت پخت دارد، آنزیم لیپاز می‌باشد. استفاده از لیپاز در فرمولاسیون نان سبب افزایش زمان نگهداری نان، افزایش حجم نان و بهبود ساختار مغز نان می‌شود (7، 6). لیپاز از طریق تولید مونوگلسیرید تأثیر مستقیمی بر رتروگراداسیون نشاسته داشته، همچنین باعث تولید لیپیدهای قطبی شده که در تشکیل کمپلکس آمیلو پکتین- لیپید شرکت می‌کنند (9، 8). لیپاز را به عنوان جایگزینی برای امولسیفایر داتم (Datem) معرفی کرده‌اند، زیرا باعث بهبود قدرت خمیر، افزایش ورآمدن آن و در نتیجه افزایش حجم مخصوص نان می‌شود (10).

تولید نان به صورت نیم‌پز شامل دو مرحله تولید است که در مرحله اول مشابه با روش‌های معمول تولید نان، تا انجام مرحله تثبیت قبل از پخت کامل و تشکیل رنگ پوسته انجام و پس از آن نان بسته بندی شده و در دمای پایین یا اتمسفر اصلاح شده نگهداری می‌گردد و مرحله دوم آن تا تشکیل رنگ پوسته و دستیابی به ویژگی‌های بافتی مغز نان، پخت کامل انجام می‌شود (12، 11). اگر چه کیفیت نهایی نان در چرخه تولید به صورت منجمد، نگهداری و خروج از انجماد کاهش می‌یابد، که دلیل آن را تشکیل بلورهای یخ دانسته‌اند، که باعث آسیب‌های مکانیکی همچنین تضعیف قدرت مخمر و در نهایت تغییر ویژگی‌های رئولوژی و تضعیف خمیر نیز می‌شود (14، 13). به منظور کاهش این تأثیرات استفاده از انواع بهبود دهنده‌های نان، مثل انواع امولسیفایر، آنزیم‌ها، اکسیدان‌ها و هیدروکلوئیدها پیشنهاد شده است؛ که می‌توانند این تأثیرات منفی را به حداقل میزان ممکن کاهش دهند (16، 15). Rouille و همکاران تأثیر همزمان اثر اسید آسکوربیک و آلفا آمیلاز را در بهبود کیفیت خمیر منجمد فرانسوی مورد بررسی قرار دادند و نتایج پژوهش آنها نشان داد که تأثیر آلفاآمیلاز در بالاترین سطح خود (30 mg/kg) سبب افزایش کیفیت خمیر منجمد می‌شود (17). Ribotta و Le Bail نشان دادند استفاده از ترکیب آنزیم‌های آلفا آمیلاز، همی‌سلولاز و پروتئاز همراه با اسید آسکوربیک باعث کاهش ضخیم شدن پوسته در نان نیم‌پز در دوره ی منجمد کردن و پخت کامل می‌شود (18).

با توجه به زمان ماندگاری کوتاه نان‌های سنتی، تولید حجم بالای ضایعات و ایجاد هزینه‌های اقتصادی فراوان، عدم دسترسی به نان تازه در طول شبانه روز، زمان طولانی روش تولید نان‌های سنتی و استفاده از انواع بهبود دهنده‌های شیمیایی این پژوهش با رویکرد افزایش زمان ماندگاری نان به وسیله منجمد کردن، کاهش ضایعات نان، تولید پیوسته آن و حذف بهبود دهنده‌ها به وسیله جایگزینی آنزیم‌ها که از دسته مواد طبیعی محسوب می‌شوند به وسیله افزودن آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در بهبود خصوصیات کیفی، رئولوژی و حسی نان بربری نیم‌پز منجمد انجام شده است.

• مواد و روش‌ها

آرد مورد استفاده در این پژوهش از کارخانه نان رضوی تهیه شد. ترکیبات شیمیایی آرد ستاره با درجه استخراج 87% و مشخصات (گلوتن مرطوب 26/7%، پروتئین 10/8%، خاکستر 0/79%، چربی 1/76%، رطوبت 10/52%) براساس روش استاندارد (19) اندازه‌گیری شده است. مخمر از نوع خشک فعال و از کارخانه رضوی تهیه گردید. ترکیبات دیگر (نمک بدون ید، شکر، روغن) از بازار محلی خریداری و آنزیم آمیلاز با قدرت (2500 FAU/g) و آنزیم لیپاز با قدرت (25 KLU/g)، در سه سطح (صفر، 0/05 و 0/07) از شرکت Novozymes دانمارک تهیه شد.

تهیه نان: نان بربری نیمه حجیم مطابق با فرمولاسیون آرد100%، آب 55%، چربی 2%، مخمر 0/7%، نمک 1/2% و شکر 0/8تهیه شد (20) و به هر تیمار غلظت‌های متفاوتی از آنزیم‌ها اضافه شده است (جدول 1).

جدول 1. معرفی تیمارها

تیمار	A1L1	A1L2	A1L3	A2L1	A2L2	A2L3	A3L1	A3L2	A3L3
درصد آمیلاز	0	0	0	0/05	0/05	0/05	0/07	0/07	0/07
درصد لیپاز	0	0/05	0/07	0	0/05	0/07	0	0/05	0/07

پخت نان: کلیه ترکیبات نان به وسیله خمیرگیر اسپیرال آزمایشگاهی مدل M80 ساخت ایتالیا به مدت 8 دقیقه مخلوط و خمیر به مدت 30 دقیقه برای تخمیر اولیه استراحت داده شد و سپس به قطعات 250 گرم چانه گیری شد. پس از آن به شکل نان بربری در آمده و برای انجام مرحله تخمیر نهایی در انکوباتور مجهز به کنترل رطوبت در دمای 47°C با 88% رطوبت انتقال داده شد.

به منظور نیم‌پز کردن نمونه‌ها در فر آزمایشگاهی گردان (Zuccheli forni) ساخت ایتالیا با درجه حرارت 210°C به مدت 7 دقیقه تا انجام مرحله تثبیت و شکل گیری بافت مغز نان قبل از آغاز واکنش‌های تشکیل رنگ پوسته نیم پخت انجام شد. سپس در دمای محیط (25°C) نمونه‌ها سرد و در بسته‌های پلی اتیلنی بسته بندی گردید و در دمای 26°C- منجمد در بلاست فریزر (Munze) مدل R507A ساخت آلمان و به مدت 15روز در فریزر با دمای 18°C- نگهداری شد . پس از این مدت نمونه از فریزر خارج و یخ زدایی در درجه حرارت محیط در اتاقک بسته در شرایط تمیز انجام و پخت کامل در دمای 260°C و زمان 8 دقیقه انجام گردید. تمامی آزمون‌ها 2 ساعت پس از پخت کامل ارزیابی گردید.

حجم: برای اندازه‌گیری حجم از روش جایگزینی دانه ارزن استفاده شد که برای انجام آن یک قطعه 5*5 از وسط نان برش داده شد (21).

تخلخل: برای اندازه‌گیری تخلخل مغز نان از روش پردازش تصویر استفاده شد. بدین منظور قطعه 5*5 از قسمت میانی مغز نان بریده شد، عکس آن به وسیله اسکنر (HP 48/50 ساخت چین) تهیه شد و در کامپیوتر ذخیره و به وسیله نرم‌افزار imagej و با فعال کردن قسمت 8 بیت، به صورت تصاویر خاکستری درآمده و سپس با فعال کردن گزینه دودویی نرم افزار تصویر به صورت نقاط تیره و روشن درآمد که محاسبه نسبت نقاط روشن به نقاط تیره به عنوان شاخص میزان تخلخل نان برآورده شد (22).

آنالیز بافت: آزمون بافت سنجی با استفاده از دستگاه بافت سنج CNS farnell مدل Universal ساخت انگلیس که متصل به کامپیوتر بود با نرم‌افزار texture prob انجام گردید. این دستگاه متصل به یک پروب استوانه‌ای با قطر 10میلی‌متر است. برای محاسبه آزمون فشردگی نمونه تهیه شده زیر پروب بر روی یک صفحه سوراخ‌دار قرار گرفت و نیروی لازم برای سوراخ کردن خمیر به عنوان سفتی و طول کش آمدن خمیر تا پاره شدن به عنوان میزان کشش پذیری محاسبه شد. سرعت حرکت کاوشگر 30 میلی‌متر در دقیقه و نقطه شروع 0/5 N بود (23).

بررسی رنگ: آنالیز رنگ نان از طریق ارزیابی 3 شاخص L*،a*،b* صورت پذیرفت. این روش برای تعریف کیفیت نان استفاده می‌شود. شاخص L میزان روشنایی نمونه می‌باشد و بین(صفر سیاه خالص، تا 100 سفید خالص) متغیر است. شاخص a میزان نزدیکی رنگ نمونه به سبز و قرمز و شاخص b میزان نزدیکی به رنگ آبی و زرد است و دامنه شاخص a و b بین 120- تا 120+ متفاوت است. برای انجام آزمون رنگ، یک برش به وسیله چاقوی اره ای از سطح نان جدا شده به وسیله دستگاه اسکنر (HP 48/50 ساخت کشور چین) که به کامپیوتر متصل بود از سطح نان عکس گرفته شد؛ عکس تهیه شده با فرمت jpg ذخیره و به وسیله نرم‌افزار imagej با فعال کردن گزینه plugging شاخص‌های L،a،b اندازه‌گیری شد (24).

ارزیابی ویژگی‌های حسی نان: خصوصیات حسی نان از قبیل ظاهر عمومی، بافت، رنگ مغز و پوسته، ظاهر پوسته، طعم و بو توسط 10 پانلیست آموزش دیده به روش آزمون هدونیک 5 نقطه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. طی آزمون از پانلیست‌ها که از آزمون مثلثی مطابق با روش گاسولا (25) انتخاب شده بودند، خواسته شد تا ضمن بررسی نمونه‌ها به فاکتورهای مورد بررسی، بهترین امتیاز 5 و به بدترین امتیاز 1 بدهند (26).

تجزیه تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از طرح کامل تصادفی در قالب فاکتوریل دو عامله با سه سطح انجام شد و فاکتور اول آنزیم آمیلاز و فاکتور دوم آنزیم لیپاز بود که در 3 سطح 0، 0/05 و 0/07 بر حسب آرد مصرفی اضافه شدند. برای آنالیز واریانس و مقایسه میانگین نرم افزار SPSS نسخه 17 استفاده شد، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح $p<0/05$ انجام گرفت .کلیه آزمون‌ها پس از پخت کامل و در دو تکرار انجام شده است.

• یافته‌ها

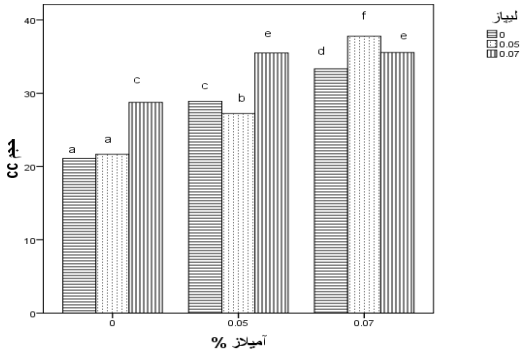
حجم: افزودن هر یک از آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بیشترین افزایش حجم نان بربری نیم‌پز منجمد را پس از پخت کامل در غلظت 0/07 خود نشان داده اند. مقایسه نان‌های تهیه شده از آنزیم آمیلاز با لیپاز نشان داد که نان حاوی آمیلاز حجم بیشتری نسبت به نان حاوی لیپاز داشته است (جدول 2).

جدول 2. اثر مستقل آنزیم‌های آمیلاز ولیپاز بر حجم نمونه‌ها

سطح آنزیم‌ها (درصد)	حجم نمونه‌های حاوی آمیلاز (cc)	حجم نمونه‌های حاوی لیپاز (cc)
0	25/18[a]	27/59[a]
0/05	30/92[b]	31/66[b]
0/07	36/66[c]	33/51[b]

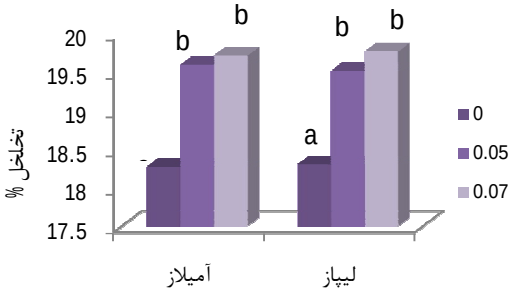
*میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌دار ندارد.

بررسی نتایج اثر همزمان ترکیب آنزیم‌ها با هم (شکل1) نشان می‌دهد که، نمونه حاوی A3L2 و پس از نمونه حاوی A2L3 و A3L3 سبب افزایش چشمگیر حجم نسبت به نمونه شاهد شده اند، کمترین حجم نیز مربوط به نمونه‌های حاوی سطح 0/05 لیپاز و نمونه شاهد بود. مطابق با نتایج می‌توان چنین بیان کرد که استفاده از آنزیم آمیلاز در سطح 0/07 و لیپاز در سطح 0/05 می‌تواند میزان حجم نان بربری نیم‌پز منجمد را پس از پخت کامل بهبود بخشد.



شکل1. اثر متقابل آمیلاز و لیپاز بر حجم نان نیم‌پز منجمد
*میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌دار ندارد.

تخلخل: نتایج آزمون تخلخل نشان داد که افزودن آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز تخلخل نان را نسبت به نمونه شاهد افزایش داده است. اما بین سطح‌های 0/05 و 0/07 تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل 2).



شکل2. اثر آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بر تخلخل
*میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌دار ندارد.

بررسی نتایج به دست آمده از اثر متقابل آمیلاز و لیپاز، نشان می‌دهد که در تمامی نمونه‌های حاوی آنزیم‌ها تخلخل نسبت به نمونه شاهد بیشتر شده است، اما در غلظت‌های متفاوت استفاده شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. مطابق با نتایج به دست آمده از آزمون تخلخل و با توجه به هزینه‌های اقتصادی آن می‌توان نتیجه گرفت افزودن غلظت 0/05 از آنزیم آمیلاز و لیپاز سبب بهبود میزان تخلخل در نان بربری نیم‌پز منجمد پس از پخت کامل می‌شود.

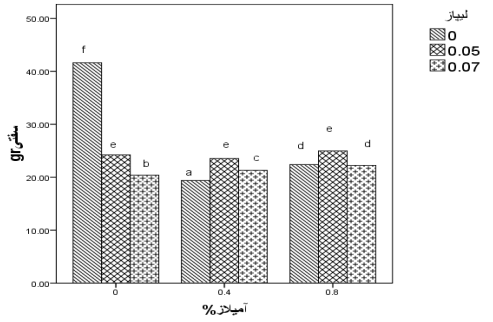
نتایج بافت سنجی: سفتی: همان طور که در جدول 3 مشاهده می‌شود، آنزیم آمیلاز میزان سفتی را نسبت به نمونه شاهد کاهش داده است و بین غلظت‌های استفاده شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. آنزیم لیپاز در سطح 0/07 باعث کاهش سفتی نان پس از پخت کامل شده است.

جدول 3. اثر مستقل آمیلاز و لیپاز برسفتی نان بربری نیم‌پز منجمد

	سفتی با حاوی آمیلاز (N)	سفتی با حاوی لیپاز (N)
سطح1	32/10a	33/59a
سطح 2	25/91b	27/96b
سطح3	25/16b	21/63c

*میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌دار ندارد.

بررسی نتایج به دست آمده از ترکیب آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز نشان می‌دهد که نمونه حاوی A2L1 کمترین میزان سفتی و پس از آن 0/07 لیپاز با 0 آمیلاز و 0/05 آمیلاز و 0/07 لیپاز نرم‌ترین بافت را داشته اند. نمونه شاهد بیشترین میزان سفتی را نشان داد (شکل3).

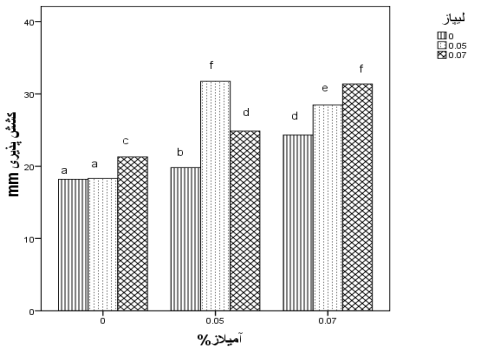


شکل3. اثر متقابل آمیلاز و لیپاز بر کاهش سفتی نان بربری نیم‌پز منجمد
*میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌دار ندارد.

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون سفتی نشان می‌دهد که افزودن آمیلاز در سطح 0/05 می‌تواند میزان سفتی را در نان بربری نیم‌پز منجمد کاهش می‌دهد، تأثیر آنزیم لیپاز در سطح 0/07 بیشتر بوده است.

کشش‌پذیری: بررسی نتایج افزودن آنزیم آمیلاز و لیپاز به نان نشان داد که این دو آنزیم در غلظت 0/07 خود، بیشترین میزان کشش‌پذیری را داشته اند.

نتایج به دست آمده از اثر متقابل آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بر کشش پذیری نشان می‌دهد که نمونه‌های حاوی A2L2 و A3L3 بیشترین میزان کشش پذیری را دارند (شکل4). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که افزودن آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در سطح 0/07 قابلیت کشش پذیری نان را افزایش می‌دهند، همچنین ترکیب این دو آنزیم با هم اثر سینرژیستی بر افزایش کشش‌پذیری داشته است.



شکل4. اثر متقابل آمیلاز و لیپاز بر کشش پذیری

*میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون دانکن در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌دار ندارد.

بررسی رنگ: بررسی نتایج به دست آمده از آزمون رنگ نشان می‌دهد که افزودن آنزیم آمیلاز روشنایی نان را در مقایسه با نان شاهد افزایش داده است. افزودن آمیلاز در غلظت 0/07 باعث افزایش شاخص b شد و غلظت 0/05 آن با نمونه شاهد تفاوتی ایجاد نکرد. استفاده از آنزیم لیپاز در سطح 0/07روشنایی نان را در نمونه با نان شاهد افزایش داد، ولی میزان روشنایی سطح 0/05 آن با نمونه شاهد تفاوتی نداشت. همچنین آنزیم لیپاز شاخص b را در سطح 0/07 خود نسبت به نمونه شاهد افزایش داد و سبب بهبود رنگ نان شد. اثر افزودن مستقل آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بر تغییر میزان شاخص a تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد.

اثر متقابل آمیلاز، لیپاز بر افزایش روشنایی پوسته نان بیشترین تأثیر را در غلظت 0/07آمیلاز، 0/07 لیپاز و پس از آن نمونه حاوی 0/07 آمیلاز و 0/05 لیپاز بود. در مورد شاخص a هرچه این میزان کمتر باشد، بهتر است که کمترین میزان در نمونه حاوی 0/05 لیپاز و همچنین نمونه حاوی 0/05آمیلاز و 0/05 لیپاز مشاهده شد. در اثر متقابل آمیلاز و لیپاز بیشترین میزان b در غلظت 0/07 آمیلاز و 0/05 لیپاز و نمونه حاوی سطح‌های 0/07 آمیلاز و 0/07 لیپاز بدون تفاوت معنی‌داری دیده شد، کمترین میزان این مولفه نیز در نمونه شاهد بود. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان چنین بیان کرد زمانی که از آنزیم‌ها به طور مستقل استفاده شود آنزیم آمیلاز و لیپاز در سطح 0/07 شاخص b و روشنایی را بهبود می‌دهند. همچنین در اثر متقابل آنها مشاهده می‌شود نانی که حاوی غلظت‌های 0/07 آمیلاز و 0/05 لیپاز می‌باشد در هر مولفه l و b از امتیاز خوبی برخوردار بودند و در مولفه a اثر آنزیم لیپاز در سطح 0/05 به تنهایی چشمگیرتر بود و بیشتر شدن آنزیم آمیلاز سبب بیشتر شدن این مولفه شده است که در نان بربری مطلوب نبوده است.

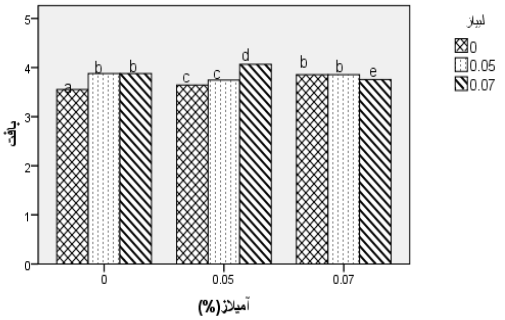
نتایج آزمون حسی: بررسی نتایج آزمون حسی که شامل ظاهر عمومی، رنگ پوسته، رنگ مغز، بافت، بو، ظاهر پوسته و طعم بود، نشان داد که افزودن آنزیم آمیلاز به نان بربری نیم‌پز منجمد در سطح 0/05 خود باعث افزایش امتیاز در فاکتورهای حسی رنگ پوسته و طعم شد و در غلظت 0/07 سبب بهبود امتیاز فاکتور حسی بو و بر بهبود فاکتورهای حسی ظاهر عمومی، رنگ مغز، بافت و ظاهر پوسته تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد.

نتایج اثر مستقل لیپاز بر خصوصیات حسی نشان می‌دهد که افزودن لیپاز تنها بر افزایش امتیاز بافت نسبت به نمونه شاهد مؤثر بوده است، همچنین بین غلظت‌های اضافه شده آن تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، و بر بهبود سایر فاکتورهای حسی تأثیری نداشت.

جدول 4-اثر متقابل آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بر شاخص‌های b، l و a

آمیلاز	لیپاز	رنگ پوسته		
		l	a	b
0	0	67/80a	4/39b	21/56a
	0/05	68/64b	30/98a	22/67b
	0/07	69/74c	4/60b	22/78b
0/05	0	68/73b	4/13a	22/14b
	0/05	68/57b	4/02a	22/86b
	0/07	69/35c	5/04c	22/53b
0/07	0	68/88b	5/33d	22/95b
	0/05	70/91d	4/28a	23/56c
	0/07	71/37c	4/21a	23/50c

ترکیب همزمان آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بر بهبود خصوصیات حسی نان بربری نیم‌پز و منجمد پس از نگهداری و پخت تنها بر افزایش امتیاز بافت مؤثر بوده است، بیشترین امتیاز در نمونه حاوی A2L3 دیده می‌شود، همچنین کمترین امتیاز مربوط به نمونه شاهد بود. با توجه به نتایج به دست آمده از ترکیب همزمان این دو آنزیم می‌توان بیان کرد که آنزیم آمیلاز در سطح 0/05 و لیپاز در سطح 0/07 خود باعث افزایش امتیاز بافت در فاکتور حسی بافت می‌شوند. البته باید ذکر شود که تمامی نمونه‌های حاوی آنزیم‌ها از امتیاز بالاتری نسبت به نمونه شاهد داشته اند.



شکل 5. اثر متقابل آمیلاز و لیپاز بر بافت

• بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که آنزیم‌ها سبب افزایش میزان حجم نان نیم‌پز منجمد پس از پخت کامل می‌شوند، اثر لیپاز بیشتر بر شبکه گلوتن و تأثیر آنزیم آمیلاز بر تجزیه نشاسته به دکسترین‌ها با وزن مولکولی کمتر می‌باشد که این ترکیب به عنوان قند قابل تخمیر مورداستفاده مخمر قرار می‌گیرد و باعث افزایش تولید CO_2 به وسیله ی مخمر می شود، همچنین توزیع یکنواخت سلول‌های گاز و ایجاد بافت نرمتر به دلیل تولید دکسترین‌های محلول از پلیمریزاسیون نشاسته است و در نهایت باعث افزایش تخلخل نان می‌شوند (28، 27). محققان افزایش حجم با استفاده از آنزیم لیپاز را به دلیل تأثیر این آنزیم بر افزایش پایداری و تقویت خمیر نسبت داده‌اند که سبب افزایش توانایی خمیر برای حفظ الاستیسیته و افزایش حجم در طول دوره تخمیر و پخت می‌شود؛ مکانیزم این عمل بدلیل اثر لیپاز برتولید ترکیبات فعال سطحی از لیپیدهای داخلی می‌باشد، که این مواد فعال سطحی، خاصیت امولسیون کنندگی دارند و می‌توانند با پروتئین‌های شبکه گلوتن واکنش داده و سبب تغییر یا اصلاح آن شوند و قدرت خمیر را افزایش دهند همچنین مونوگلسیریدها باعث لغزندگی بهتر مولکول‌های گلوتن می‌شوند که در نتیجه سبب بهبود بافت و نگهداری سلول‌های گازدر شبکه گلوتن می‌شوند و در نهایت تخلخل نان را نیز بهبود می‌بخشند (29، 9) در تحقیقات Roulli و همکاران و Almedia و Chang و نتایج مشابهی از افزایش حجم با استفاده از آنزیم‌ها در نان منجمد نشان داده شده است (30، 17).

اثر آمیلاز بر کاهش سفتی در اثر تجزیه پیوندهای گلیکوزیدی موجود در نشاسته به دکسترین‌ها با وزن مولکولی کمتر است که این هیدرولیز نشاسته باعث تاخیر در تشکیل زنجیره دو گانه آمیلوپکتین شده و مانع پیوند مولکول‌های آمیلوپکتین باهم می‌شود و در نتیجه تشکیل شبکه 3 بعدی آن را تضعیف می‌کند و در نهایت با عث کاهش سفتی نان می‌شود (5). در مطالعات Caballero و

همکاران و Lugrian و همکاران نتایج مشابهی از افزودن آنزیم آمیلاز بر کاهش سفتی نان منجمد نشان داده شده است (31، 13).

اثر لیپاز بر کاهش سفتی به دلیل اثر آن بر کاهش رتروگرداسیون نشاسته از طریق هیدرولیز دی و تری گلیسیریدها به مونوگلیسیریدها است که تأثیر ضد بیاتی دارند، می‌باشد(9). Purhagen و همکاران کاهش نرمی نان را در اثر استفاده از لیپاز بدلیل تشکیل کمپلکس لیپید با آمیلوز و آمیلو پکتین دانستند (32). علت افزایش قابلیت کشش پذیری همراه با افزایش غلظت آنزیم آمیلاز و لیپاز را به علت افزایش تبخیر آب از مغز نان و درنتیجه تشکیل ساختار متخلخل دانسته اند(33).

Sahlstrom و Brathen بیان می‌کنند که افزودن آمیلاز باعث بهبود رنگ پوسته می‌شود که دلیل آن را بخاطر افزایش تشکیل قندهای ساده، همچنین اثر آن بر تجزیه ساختمان پروتیئن‌ها و تولید گروه‌های NH_2 دانستند که این مواد در واکنش میلارد شرکت می‌کنند و سبب بهبود رنگ پوسته نان می‌شود، تأثیر ریزتر شدن اندازه ذرات در افزایش مؤلفه *L را می‌توان به میزان بیشتر حفرات و نظم آن‌ها نسبت داد که هرچه بیشتر باشد رنگ محصول روشن‌تر است. مثال واضح آن تأثیر امولسیفایرها (مثل منو گلیسیریدها که در اثر تجزیه آنزیم لیپاز بوجود می‌آیند) در کیک است که وقتی در اثر وجود امولسیفایر در کیک بافت ریزتر و حفرات منظم‌تر و بیشتر می‌شوند رنگ محصول روشن‌تر می‌گردد، همچنین این واکنش‌ها باعث تولید ترکیبات مؤثر بر عطر، طعم و رنگ می‌شوند در نتیجه این فاکتورها را بهبود می‌بخشد (34). نتایج پژوهش HSING-I LIN نشان داد که استفاده از آنزیم آمیلاز باعث افزایش شاخص b در نان باگت منجمد شد (35).

آنزیم لیپاز باعث افزایش واکنش‌های اکسیداسیونی شده و تولید اسیدهای چرب غیراشباع می‌کند که این ترکیبات با لیپوکسیژناز موجود در آرد گندم واکنش داده و سبب سفیدتر شدن نان می‌شود. آنزیم لیپاز تأثیری بر قهوه‌ای‌تر شدن رنگ پوسته ندارد، زیرا دلیل ایجاد رنگ واکنش‌های غیر آنزیمی (میلارد) که بین آمینو اسیدها و قندهای ساده است، می‌باشد که لیپاز در تشکیل این مواد اثری ندارد (36). Moayedallaie و همکاران بیان می‌کنند که در نان‌های فرموله شده با لیپاز تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها از نظر ویژگی‌های حسی ایجاد نشد (10).

ارزیابی نتایج به دست آمده از افزودن آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بر بهبود خصوصیات کیفی، رئولوژی و حسی در نان بربری نیم‌پز و منجمد نشان می‌دهد که افزودن آنزیم آمیلاز در سطح 0/05 بر بهبود میزان تخلخل، شاخص a، کاهش سفتی نان و فاکتورهای حسی رنگ پوسته و طعم، همچنین در سطح 0/07 خود بر بهبود حجم، کشش پذیری و فاکتور حسی بو، مؤثر بوده است. استفاده از آنزیم لیپاز در سطح 0/07 باعث بهبود حجم، روشنایی، کشش پذیری و کاهش سفتی و در غلظت 0/05 بر بهبود تخلخل، شاخص و a مؤثر بوده است. استفاده از ترکیب همزمان آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز بر بهبود حجم، تخلخل، سفتی، کشش‌پذیری و مؤلفه‌های رنگی اثر سینرژیستی داشته است، در مجموع می‌توان چنین بیان کرد که استفاده از غلظت 0/07 آمیلاز و لیپاز بر بهبود ویژگی‌های رئولوژی و کیفی و ترکیب 0/07 آمیلاز و 0/05 لیپاز بر بهبود مولفه‌های رنگ و فاکتورهای حسی نان نیم‌پز و منجمد پس از پخت کامل می‌شود.

• References

1.Bollaı´n C, & Collar C. Dough viscoelastic response of hydrocolloid/enzyme/surfactant blends assessed by uni- and bi-axial extension measurements. Journal of Food Hydrocolloid. 2004;18(3): 499–507.

2. Gray JA, and Bemiller J N. Bread Staling: Molecular Basis and Control. Institu of Food Tech, 2003. Vol. 2: 1–21

3. Maarel M J E C, Veen B, Uitdehaag J C M, Leemhuis H, Dijkhuizen L. Properties and applications of starch-converting enzymes of the ά amylase family. J of Biotech, 2002;94: 137–155.

4. Van Dam H W, and Hille D R. Yeast and Enzymes in Bread Making. HUHDO RRGV: RUOG, 1992; 3: 245-251.

5. Goesaert H, Slade L, Levine H, Delcour J A. Amylases and bread firming – an integrated view. J of Cer Sci, 2009; 50: 345–352.

6. Povlsen I L, Soe J, & Kappelman D. Effect and functionality of lipase with galactolipase activity in dough and bread. 2005. AACC Annual Meeting, Orlando.

7. Hasan F, Shah A A, Hameed A. Industrial applications of microbial lipases. Enz and Micr Tech, 2006; 39: 235–251.

8. Heflich L W. A Baker's perspective. In R. E. Hebeda, & H. F. Zobel (Eds.), Baked goods freshness e Technology, evaluation, and inhibition of staling. 1996. MarcelDekker, Inc.

9. Castello P. Potus J. Baret J L. Nicolas J. Effects of mixing conditions and wheat flour dough composition on lipid hydrolysis and oxidation levels in the presence of exogenous lipase. Cer Chem, 1999, 76: 476-482.

10. Moayedallaie S, Mirzaei M, Paterson J. Bread improvers: Comparison of a range of lipases with a traditional emulsifier .Fo Chem, 2010; 122: 495–499.

11. .Lagrain B, Leman P, Goesaert H, Delcour J A. Impact of thermostable amylases during bread making on wheat bread crumb structure and texture. Food Research International, 2008; 41: 819–827

12. Bárcenas M E, & Rosell C M. Different approaches for increasing the shelf life of partially baked bread: low temperatures and hydrocolloid addition. Fo Chem, 2007; 100/4: 1594–1601.

13. Ribotta P, Leon A, Anon M C. Effect of freezing and frozen storage of dough on bread quality. Journal of Agri and chem, 2001; 44,913-918.

14. Inoue Y, Sapirstein H D, Bushuk W. Studies on Frozen Dough's. IV. Effect of Shortening Systems on Baking and Rheological Properties. Cerical Chem, 1995; 72(2):221−226.

15. Kim Y S, Huang W, Du G, ZPan Z, Chung O. Effects of trehalose, transglutaminase, and gum on rheological, fermentation, and baking properties of frozen dough. Food Res Inter, 2008; 41: 903–908.

16. Barcenas M E, Haros M, Beneditob C, Rosell C. M. Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. Fo Res Inter, 2003; 36: 863–869.

17.Matuda T G, Para D F, Lugão A B, Tadini C C. Influence of vegetable shortening and emulsifiers on the unfrozen water content and textural properties of frozen French bread dough. LWT 2005; 38, 275_280.

18. Rouill J, Le Bail E A, Courcoux P. Influence of formulation and mixing conditions on bread making qualities of French frozen dough. J of Food Eng, 2000; 43: 197-203.

19. Ribotta P D, Le Bail A. Thermo-physical and thermo-mechanical assessment of partially baked bread during chilling and freezing process. Impact of selected enzymes on crumb contraction to prevent crust flaking. J of Fo Eng, 2007; 78 :913–921.

20. AACC. Approved methods of the American Association of Cereal chemist, 2000. 10th Edition.

21. Purfarzad A, Karimi M, Ghiyafe Davoodi M, Hematiyan Sorki A F, and Razavi Zadegan J H. Effect of Hurdle Technology on quality and shelf life of Barbari bread. Elec J Fo Produc and Preser 1388; Vol. 1 (2): 17-32. In Persian.

22. Turabi E, GulumSumnu Sahin S. Quantitative analysis of macro and micro-structure of gluten-free rice cakes containing different types of gums baked in different ovens. Food Hydrocolloid. 2010; 24: 755_762.

23. Gujral S H, and Pathak A. Effect of composite flours and additives on the texture of chapatti. Journal of Food Eng, 2002;55: 173–179.

24. Fathi M, Mohebbi M, and Razavi S M A. Application of image analysis and artificial neural network to predict mass transfer kinetics and color changes of osmotic ally dehydrated kiwifruit. Foand Biop Tech, 2009; DOI: 10.1007/s11947-009-0222-y.

25.Gacula J R, and Singh. Statistical methods in food and consumer research. Academic press Inc. U.S.A. 1984, 23: 360-366.

26. Larmond E. Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food. Minister of Supply and Services Canada, Ottawa, 1982; pp. 56–57.

27. Almeida E L, Chang Y K. Effect of the addition of enzymes on the quality of frozen pre-baked French bread substituted with whole wheat flour. LWT - Fo Sci and Tech, 2012; 49: 64-72.

28. Cauvain S P, Chambmberlain N. The Bread Improving Effect of Fungal a-amylase. *J of Cer Sci*, 198; 8: 239-248.

29. Hebeda R E, Boeles L K, Teague W m. Development in enzymes for retarding stalling of bread goods. Cer fo wor, 1990;35: 453-457.

30. Primo-Martı´n C, de Beukelaer H, Hamer R J, Van Vliet T. Fracture behavior of bread crust: Effect of ingredient modification. J of Cer Sci, 2008;48:604–612.

31. Caballero P A, Gomez M, Rosell C M. Bread quality and dough rheology of enzyme-supplemented wheat flour. Eur Fo Res and Tech, 2006; doi: 10.1007/s00217-006-0311-3.

32. Caballero PA, Gomez M, Rosell C M. Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf life by enzymes combination. J of Fo Eng, 2007; 81 (1): 42–53.

33. Purhagen J K, Malin S E, Eliasson, A C. Starch affecting anti-staling agents and their function in freestanding and pan-baked bread. Fo Hyd, 2011;25: 1656-1666.

34. Sahlstriim S, and Brathen E. Effects of enzyme preparations for baking, mixing time and resting time on bread quality and bread staling. Fo Chem, 1997; Vol. 58: pp. 75-80.

35. Hsing L. Using enzymes to improve frozen dough bread quality. Dep of Grain Sci and Industry Coe of Agri, 2008 . A THESIS

36. Kent N L, Evers A D. An introduction for students of food science and agriculture. Technology of cereals: 1994. Oxford, New York: Pergamon.

The Combination Effect of Amylase and Lipase on Improving the Quality, and Rheological and Sensory Properties of Partially Baked Frozen Barbari Bread

Hejrani T[*1], *Sheikholeslami Z*[2], *Mortazavi A*[3], *Ghiyafe Davoodi M*[2]

*1- *Corresponding Author: Student of M.Sc. of Department of Food Science & Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran, Email: Hejrany_toktam@yahoo.com*

2- AssistantProf, Agriculture and Natural Resources Research Center of Khorasan Razavi, Mashhad, Iran

3- Prof, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

Received 11 Feb, 2014 **Accepted 5 Jun, 2014**

Background and objective: One method to providing fresh bread, often considered in industrial breads, is production of partially baked and frozen bread and dough. This study aims to use a combination of amylase and Lipase enzymes on improving the quality, as well as the rheological and sensory properties of partially baked frozen Barbari bread.

Materials and methods: Amylase and lipase at 3 levels (0, 0.05 and 0.07) were added to the formulation, and the bread was prepared as partially baked and stored frosen in the refrigerator for 15 days. Then the samples were thawed and fully baked. After full baking, the samples' moisture content, volume, porosity, textural properties and sensory characteristics were evaluated.

Results: The results showed that the addition of amylase in %0.05 concentration improved texture, porosity, B index, reduced firmness, and sensory properties, and in %0.07 level, it was effective on volume and tensile capacity of the prepared breads. Also lipase in %0.07 level improved volume, lightness, B index, and tensile capacity, and in %0.05 concentration, it was effective on porosity. Using combination of amylase and lipase had no significant effect on improving reduced firmness, volume and tensile capacity; however, in %0.05 level, this combination improved porosity, and in %0.05 level of amylase and %0.07 concentration of lipase, it was effective on lightness and B index.

Conclusion: Using amylase at 0.07 and lipase at 0.05 levels is suggested, as it improves the quality, as well as the rheological and sensory properties of Barbari bread in the production cycle when first partially baked and stored frozen, and then fully baked.

Keywords: Amylase, Lipase, Rheological and sensory properties, Partially baked frozen, Barbari bread