



## تأثیر مدت زمان انجماد در افزایش بازدهی هیدرولیز نشاسته سیب زمینی توسط آلفا آمیلاز

الهه عابدی<sup>۱\*</sup>، کیانا پورمحمدی<sup>۱</sup>

۱- دانشیار بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فسا

## چکیده

## اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۶/۰۴/۱۴۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۸/۰۵/۱۴۰۱

به منظور دستیابی به هیدرولیز نشاسته با راندمان بالا توسط  $\alpha$ -آمیلاز، پیش تیمار انجماد نشاسته سیب زمینی در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  - در دو زمان ۴ (PF4) و ۸ روز (PF8) انجام گرفت. برای این منظور، نشاسته سیب زمینی (NPS) و پیش تیمار با انجماد با قرار گرفتن در معرض آلفا آمیلاز (0.15% w/v) برای مدت ۱۰ ساعت در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  گرم خانه گذاری شدند. خواص مورفولوژیکی، درصد هیدرولیز، درجه کریستاله شدن توسط پراش اشعه ایکس (X-ray) و خمیری شدن توسط دستگاه آر وی ای (Rapid visco analyzer; RVA) در نشاسته های طبیعی، نشاسته های پیش تیمار با انجماد و نشاسته های هیدرولیز شده توسط آمیلاز مورد مطالعه قرار گرفت. انجماد باعث آسیب به سطح گرانول نشاسته شده و طبق نتایج حاصل از مورفولوژی، خراش، تورفتگی و ترک خوردگی در سطح گرانول مشاهده شد. در نتیجه نشاسته ها به راحتی تحت هیدرولیز توسط  $\alpha$ -آمیلاز قرار گرفتند و باعث فروپاشی بیشتر گرانول های نشاسته پیش تیمار شده با انجماد نسبت به نشاسته طبیعی شد. نتایج حاصل از درصد هیدرولیز نشان داد که انجماد باعث تولید درصد جزئی در تولید نشاسته هیدرولیز شد. درصد هیدرولیز (% نشاسته طبیعی، تحت تیمار انجماد در PF4 و PF8 به ترتیب به ۱۶/۸٪، ۲۴/۱٪ و ۴۰/۸٪ افزایش یافت. علاوه بر این، درجه کریستاله شدن پس از انجماد از نشاسته طبیعی (۳۷/۷٪) به ۳۴/۸٪ در PF4 و ۳۳/۲٪ در PF8 کاهش یافت که این میزان کاهش پس از تیمار با  $\alpha$ -آمیلاز بسیار شدت یافت و در نشاسته طبیعی و پیش تیمار در ۴ روز و ۸ روز انجماد به ترتیب به ۳۴/۳٪، ۲۹/۴٪ و ۲۵/۵٪ کاهش یافت. دمای ژلاتینه شدن و حداکثر ویسکوزیته پس از تیمار با آمیلاز در تمامی نشاسته های طبیعی و تحت تیمار انجماد به صورت معناداری ( $p < 0.05$ ) کاهش یافت و روند کاهش به ترتیب  $\text{PF8} < \text{PF4} < \text{P}$  مشاهده شد که دلیل این نتایج می تواند تخریب ساختارهای گرانولی و درون مولکولی و همچنین قدرت تورم پایین باشد.

## کلمات کلیدی:

نشاسته سیب زمینی،  
پیش تیمار انجماد،  
درصد کریستاله شدن،  
خواص مورفولوژی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.128.183

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.27.2

\* مسئول مکاتبات:

e.abedi@fasau.ac.ir

## ۱- مقدمه

نشاسته مهمترین منبع انرژی ذخیره‌ای در گیاهان به شمار می‌رود که به وفور در دانه غلات (مانند گندم، ذرت، برنج و تاپوکا) و در گیاهان غده‌ای (مانند انواع سیب زمینی) یافت می‌شود. ویژگی‌های منحصر بفرد نشاسته باعث شده است تا بتوان از این ترکیب پلیمری به صورت گسترده در صنایع مختلف استفاده نمود که در این بین، صنعت غذا سهم عمده‌ای را به خود اختصاص داده است [۱]. به عنوان مثال نشاسته‌ها در تولید پودرهای نانویی و مواد بهبود دهنده پخت به عنوان پرکننده استفاده می‌شوند. در تولید انواع سس به منظور حفظ امولسیون روغن و سرکه و جلوگیری از دو فاز شدن سس کاربرد دارند. قابلیت دیگر آن‌ها بهبود بافت بیسکویت و کراکر و تردی آنها و کنترل pH است. در صنایع پخت کیک و کلوچه، در زمان قالب‌گیری، برای جلوگیری از چسبیدن خمیر به قالب از نشاسته استفاده می‌شود. همچنین از نشاسته‌ها می‌توان در سایر صنایع مانند کنسروسازی، گوشت و غذاهای منجمد استفاده نمود. ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی نشاسته و کاربردهای آن در صنایع مختلف تحت تأثیر ساختار آن از جمله میزان کریستاله بودن، نسبت آمیلوز به آمیلوپکتین، مورفولوژی گرانول و قطر گرانول‌هاست [۱-۳]. بنابراین نشاسته با دارا بودن خواص بی‌نظیری چون ژل‌سازی، قوام دهنده‌گی، پرکنندگی، در صنعت غذایی، دارویی و شیمیایی کاربرد بسیاری دارد. امروزه این خواص عملکردی نشاسته با اعمال اصلاحات شیمیایی، فیزیکی یا آنزیمی بهبود پیدا کرده است [۱-۳].

آلفا آمیلازها اغلب در صنعت نشاسته برای تولید بیواتانول، شربت با فروکتوز بالا یا گلوکز، الیگوساکاریدها و مالتوز استفاده می‌شود. از این ترکیبات عمدتاً در غذا و نوشیدنی‌های تخمیریه عنوان جایگزینی برای شکر و چربی یا به عنوان نگهدارنده‌های مصنوعی و عوامل ضد بیاتی استفاده می‌شود. علاوه بر این، این ترکیبات حاصل از هیدرولیز آلفا آمیلاز، برای تنظیم افزایش غلظت انسولین و گلوکز خون پس از صرف

غذا، و نیز تنظیم سرعت هضم نشاسته بکار می‌رود و مقادیری از آن در رژیم غذایی انسان باید به طور قطع در نظر گرفته شود. اعتقاد بر این است که کاهش نوسانات قند خون پس از غذا، اثرات خاصی بر سلامتی به‌ویژه از نظر پیشگیری و درمان دیابت دارد. مطالعات نیز حاکی از اثر آلفا آمیلازها برای کاهش خستگی، جلوگیری از یبوست و بهبود عملکرد روده گزارش کرده‌اند [۴].

انجماد به عنوان یکی از روش‌های فیزیکی برای اصلاح نشاسته شناخته شده است. هنگامی که گرانول‌های نشاسته در معرض انجماد قرار می‌گیرند، ریزساختار و خواص فیزیکی شیمیایی ممکن است به طور گسترده‌ای تغییر کند. پس از انجماد نشاسته، مولکول‌های آب در ژل‌های نشاسته به کریستال‌های یخ تبدیل می‌شوند و منجر به تجمع مولکول‌های نشاسته می‌شوند. پس از ذوب، ژل‌های نشاسته به فازهای غنی از نشاسته تقسیم می‌شوند و سینرزیس اتفاق افتاده و آب خارج می‌گردد که منجر به آسیب نشاسته می‌شود [۵].

تأثیر  $\alpha$ -آمیلاز بر ساختار نشاسته توسط محققان زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است [۶-۹]. در مطالعه‌ای توسط عابدی و همکاران (۲۰۲۲) تأثیر آلفا آمیلز بر نشاسته پیش تیمار شده با سیکل‌های مدام انجماد-ذوب مورد مطالعه قرار گرفته است اما تاکنون تأثیر  $\alpha$ -آمیلز بر نشاسته پیش تیمار شده با انجماد در زمان‌های مختلف مورد بررسی نگردیده است. در این تحقیق تأثیر دو زمان ۴ و ۸ روز انجماد در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  - به عنوان پیش تیمار بر ساختار نشاسته بررسی شد و سپس قابلیت هیدرولیز آنزیم آمیلز بر نشاسته سیب زمینی طبیعی و تغییر یافته با انجماد مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

نشاسته سیب زمینی حاوی  $13/64\%$  رطوبت،  $0/94\%$  چربی،  $11/26\%$  پروتئین و  $18/78\%$  آمیلوز از شرکت خوشه پرداز فارس خریداری شد. ترکیبات بر اساس روش آ سی سی (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شدند.

**۱-۲- نشاسته منجمد**

جهت تولید نشاسته منجمد، از روش مولینا و همکاران (۲۰۱۶) استفاده شد. سوسپانسیون حاوی نشاسته (۲۰٪ dwb) در آب مقطر در قالب قرار داده شد و سپس نمونه‌ها به مدت ۴ و ۸ روز در دمای ۲۵°C منجمد شدند [۱۰].

**۲-۲- هیدرولیز آنزیمی نشاسته**

با استفاده از بافر ۵۰ میلی مولار استات سدیم (pH 5.5)، حاوی ۰/۰۲ درصد سدیم آزید، نشاسته سیب زمینی طبیعی، نشاسته انجماد شده در ۴ روز (P4) و نشاسته انجماد شده در ۸ روز (P8) تا وزن کل ۱۰۰ گرم ترکیب شدند. پس از افزودن آلفا آمیلاز به دوغاب نشاسته در سطح ۰/۱۵ (w/w) dbg، نشاسته خشک، بطری نمونه به صورت افقی در حمام آب با دمای ۴۵°C و ۱۵۰ دور در دقیقه تکان داده شدند؛ این به منظور شروع اصلاح آنزیمی انجام شد. هیدرولیز آنزیمی به مدت ۱۰ ساعت در حال انجام بود. چهار حجم اتانول بی آب در مراحل نهایی به ترکیب اضافه شد. پس از آن، برای پایان دادن به واکنش آنزیمی، مخلوط به شدت به صورت دستی تکان داده شد. با استفاده از ۲۰۰ میلی لیتر اتانول بی آب، نشاسته که اصلاح شده بود، بارها و بارها شسته شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه از طریق سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ بر دقیقه بازیابی شد و در دمای ۴۰°C خشک شدند. درصد هیدرولیز نشاسته‌ها از معادله زیر مشخص شد:

$$100 \times \frac{\text{وزن نشاسته هیدرولیز شده} - \text{وزن نشاسته}}{\text{وزن نشاسته}} = \text{درصد هیدرولیز}$$

**۲-۳- میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۲</sup>**

مطالعه تغییرات سطحی گرانول‌های نشاسته توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی انجام شد. برای این منظور مقدار اندکی از نمونه‌ها با دانه‌بندی یکنواخت، روی پایه فلزی چسبانده و پس از پوشش دهی نمونه‌ها با لایه‌ای از طلا و به کمک عبور گاز آرگون، نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی (Leica Cambridge, UK) با بزرگنمایی حدود ۱۰۰۰

برابر و ایجاد اختلاف پتانسیل الکتریکی ۲۰ kV مورد مطالعه قرار گرفت [۲].

**۲-۴- پراش اشعه ایکس**

با استفاده از پراش سنج اشعه ایکس (مدل D8 Advance، آلمان)، الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌ها مشخص شد [۳]. درجه تبلور نشاسته با استفاده از نرم افزار (EVA، نسخه ۹،۰)، از طریق تقسیم سطح زیر قله‌ها بر سطح منحنی کل تعیین شد.

**۲-۵- خواص خمیری شدن**

جهت بررسی خصوصیات خمیری شدن نشاسته‌ها از دستگاه RVA (Newport Scientific Pty. Ltd, Warriewood, Australia) استفاده شد. به همین منظور از هر نمونه ۳/۵ گرم وزن شده و به ۲۵ گرم آب مقطر افزوده شد. پدال پلاستیکی دستگاه وارد مخزن آلومینیومی حاوی آب و نشاسته شده و سپس گدال در مدت ۱۰ ثانیه اول 960 rpm و در ادامه 160 rpm بود. جهت بررسی خصوصیات خمیری شدن نشاسته طبیعی و تیمار شده، ابتدا به مدت ۲ دقیقه روی ۵۰°C ثابت ماند. سپس با سرعت ۰/۲°C بر دقیقه، دما به ۹۰°C رسانده شد و ۳ دقیقه در همین دما باقی ماند. سپس با همان سرعت دما به روی ۵۰°C کاهش یافت و ۵ دقیقه در این دما باقی ماند [۱۱].

**۲-۶- طرح آماری**

برای انجام آنالیزهای داده‌ها و بررسی اطلاعات بدست آمده از آزمون‌های مختلف از طرح کاملا تصادفی استفاده شد. به منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (حداقل سه تکرار برای هر آزمایش)، پس از آنالیز واریانس<sup>۳</sup> از آزمون چند دامنه‌ای دانکن<sup>۴</sup> در سطح (P < ۰/۰۵) استفاده گردید. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 22 صورت گرفت.

3. Analysis of variance  
4. Test Multiple Range Duncans

2. Scanning electron microscopy (SEM)

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تأثیر فعالیت $\alpha$ -آمیلاز بر نشاسته طبیعی

##### و پیش تیمار با انجماد

همانطور که در شکل ۱ دیده می‌شود، گرانول‌های نشاسته سیب زمینی شکل گرد و چند ضلعی دارند [۱۲]. به دنبال انجماد، سطح گرانول‌های نشاسته صافی خود را از دست داده و خشن می‌گردند. علاوه بر این، پس از انجماد، تعدادی از گرانول‌ها حاوی منافذ بزرگ، خراش‌ها و ترک‌های کوچک و بزرگ قابل مشاهده روی سطح هستند زیرا با انجماد به دلیل اتصال بین منافذ و ترک‌ها، منافذ بزرگتری در گرانول ایجاد می‌گردد. شکل ۲ درجه هیدرولیز نشاسته سیب زمینی طبیعی و منجمد شده PF4 و PF8 توسط آمیلاز را نشان می‌دهد. قبل از هیدرولیز آنزیمی، فرایند انجماد باعث تولید جزئی نشاسته هیدرولیز شده در سیب زمینی شد (PF4: ۰٪ و PF8: ۱٪). پس از تیمار ۱۰ ساعت با  $\alpha$ -آمیلاز، افزایش درجه هیدرولیز نشاسته طبیعی و منجمد شده PF4 و PF8 به ترتیب به ۱۶/۸٪، ۲۴/۸٪ و ۴۰/۸٪ افزایش یافت، بنابراین، روند درجه هیدرولیز پس از انجماد به صورت زیر مشاهده گردید:  $PE < PF4E < PF8E$ . هیدرولیز نشاسته توسط آمیلاز به عوامل متعددی بستگی دارد که شامل غلظت نشاسته، منبع گیاه شناسی گرانول نشاسته، ویژگی‌های سطح (وجود منافذ و کانال‌ها)، مورفولوژی گرانول (شکل و اندازه)، ترکیب مولکولی (نسبت آمیلوز و آمیلوپکتین و طول زنجیره آمیلوز و آمیلوپکتین) می‌باشند. آمیلازها گرانول‌های نشاسته سیب زمینی را با دو روش مورد هیدرولیز قرار می‌دهد: ۱- آنزیم، گرانول‌ها را از طریق "ایجاد حفره در سطح هیدرولیز می‌کنند و گرانول‌های سیب زمینی به قطعات کوچک تقسیم می‌شوند. و در نتیجه فرآیند هیدرولیز روی سطوح نشاسته،  $\alpha$ -آمیلاز قادر به تجزیه مولکول‌های آمیلوز در مناطق بی‌شکل نشاسته است که این امر منجر به کاهش قابل توجهی در محتوای آمیلوز ظاهری می‌شود. سازوکار دیگر برای

هیدرولیز سیب زمینی، ایجاد شکاف با الگوی هیدرولیز "فرسایش سطحی" است.

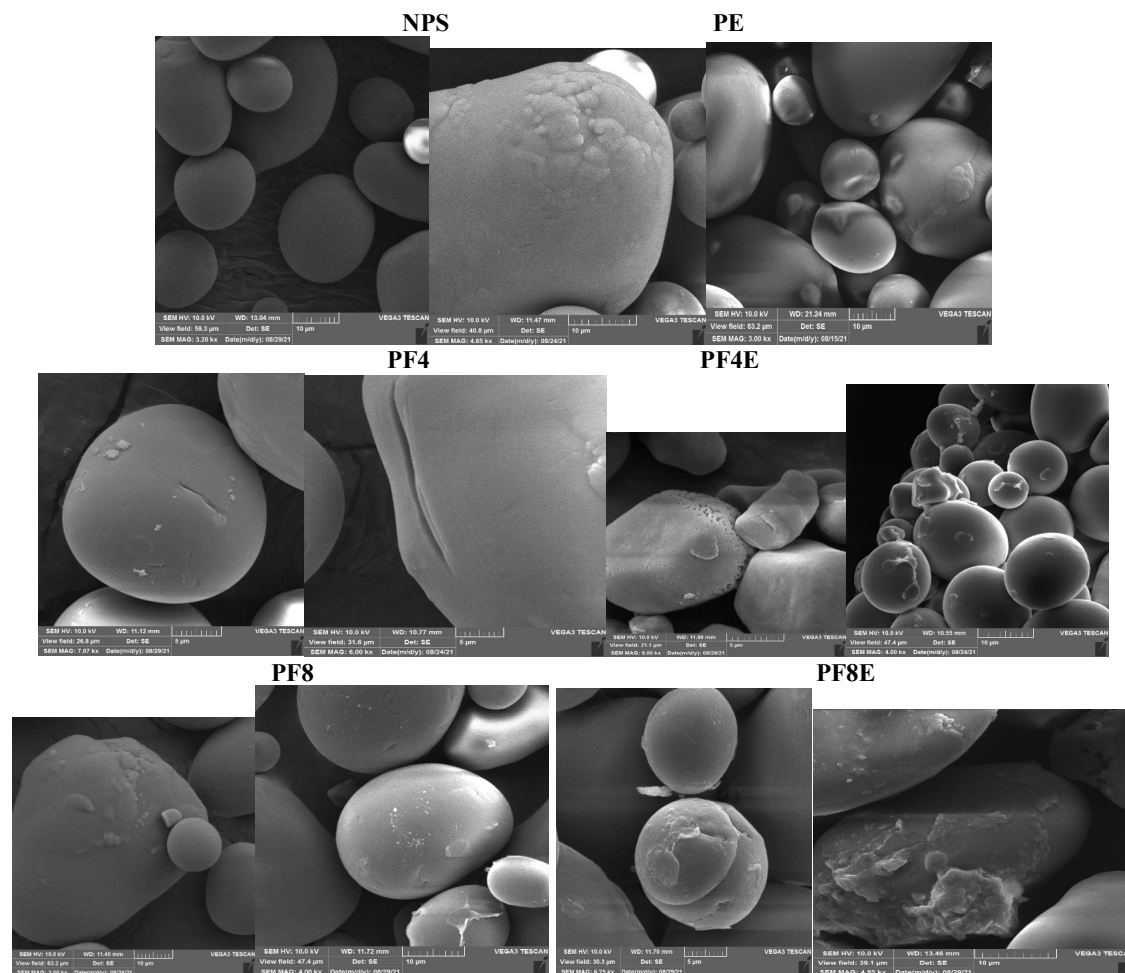
نشاسته‌های منجمد نسبت به نشاسته‌های طبیعی حساسیت بیشتری را به هیدرولیز توسط  $\alpha$ -آمیلاز نشان دادند و با افزایش زمان انجماد از ۴ روز به ۸ روز، میزان حساسیت گرانول‌های آسیب دیده به آنزیم افزایش یافت که دلایل متعددی برای آن وجود دارد. گزارش شده است که میزان هیدرولیز با ساختار بی‌نظم در گرانول‌های منجمد شده (اندازه‌گیری توسط پراش اشعه ایکس) همبستگی مثبت دارد. بنابراین، در نشاسته‌هایی با نسبت محتوای آمورف بالاتر و ساختار متخلخل، کمپلکس آنزیمی-سویسترا سریع‌تر اتفاق می‌افتد. در نشاسته منجمد دارای درجه بالایی از شکاف و حفره در سطح گرانول هست که ورود آنزیم را به داخل ساختار گرانول تسریع می‌کند. عابدی و همکاران نتایج مشابهی راجع به نشاسته تحت تیمار انجماد-ذوب به دست آوردند که با تخریب ساختار نشاسته ذرت و سیب زمینی توسط فرایند انجماد-ذوب، ساختار نشاسته مناسب برای ورود آنزیم بود [۵]. در طی فرآیند انجماد، یخ تولید شده در بخش داخلی یا خارجی گرانول، فشار قابل توجهی (نیروی مکانیکی) را به گرانول‌های نشاسته وارد می‌کند. در نتیجه فشار، گرانول‌های نشاسته فرورفته‌تر می‌گردند [۱۳ و ۱۴].

#### ۳-۲- پراش اشعه ایکس

برای بررسی ساختار کریستالی نشاسته سیب زمینی طبیعی و منجمد شده از الگوی پراش اشعه ایکس استفاده شد. در شکل ۲ پراش نشاسته سیب زمینی طبیعی، ساختار نیمه کریستالی نوع B را با پیک‌های شاخص در  $2\theta$  که شامل  $5/6^\circ$ ،  $15^\circ$ ،  $17^\circ$  و  $22^\circ$  را نشان داد می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، کریستالیتی از  $37/7\%$  (NPS) به  $34/8\%$  (PF4) و  $33/2\%$  (PF8) کاهش یافت. یخ زدن آب، گرانول را فشرده می‌کند که به آرایش کریستالی داخل گرانول نشاسته آسیب می‌رساند و برهمکنش بین ماریچ‌های دوگانه را تضعیف می-

انجماد، شکافتن زنجیره‌های آمیلوز و آمیلوپکتین را تسهیل می‌کند زیرا مسئول ایجاد ناحیه کریستالی در گرانول‌های نشاسته هستند. بنابراین، زنجیره‌های منشعب کوتاه تولید شده (بر اساس هیدرولیز شاخه‌های کوتاه آمیلوپکتین با آمیلوز) نتوانستند برهم کنش های مجدد کریستالی ایجاد کنند و در نتیجه درجه کریستالی کاهش پیدا کرد [۱۷ و ۱۸]. در مطالعات انجام شده توسط Benavent-Gil و Rosell در سال (2017a, 2017b)، نشان داده شد که هیدرولیز نشاسته‌های طبیعی ذرت، برنج، سیب زمینی و گندم به طور قابل توجهی طول زنجیره‌های آمیلوز و همچنین آمیلوپکتین را کاهش می‌دهد [۶-۹].

کند. ارتقاء منطقه بی شکل و انتقال ازحالت کریستالی به حالت آمورف بعد از انجماد، باعث تخریب بیشتر ناحیه کریستالی و کاهش درجه کریستاله شدن نشاسته منجمد شده گردید و این کاهش با افزایش زمان انجماد (زمان ۸ روز نسبت به ۴ روز) مشهودتر است. با هیدرولیز آنزیم، درجه کریستاله شدن در نشاسته PE به ۳۵/۲ و در PF4E و PF8E به ترتیب به ۲۹/۴ و ۲۵/۵ کاهش پیدا کرد. پیش تیمار انجماد به طور قابل ملاحظه‌ای پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی بین مولکول‌های آمیلوز و آمیلوپکتین را تضعیف کرد و در نتیجه انعطاف پذیری و تحرک مولکول آمیلوز و آمیلوپکتین را جهت پذیرش آنزیم هیدرولیز کننده افزایش داد [۱۵ و ۱۶]. این نتیجه را می توان از طریق این واقعیت توضیح داد که پیش تیمارهای



**Fig 1** Scanning electron micrographs of native, frozen and hydrolyzed potato starch.

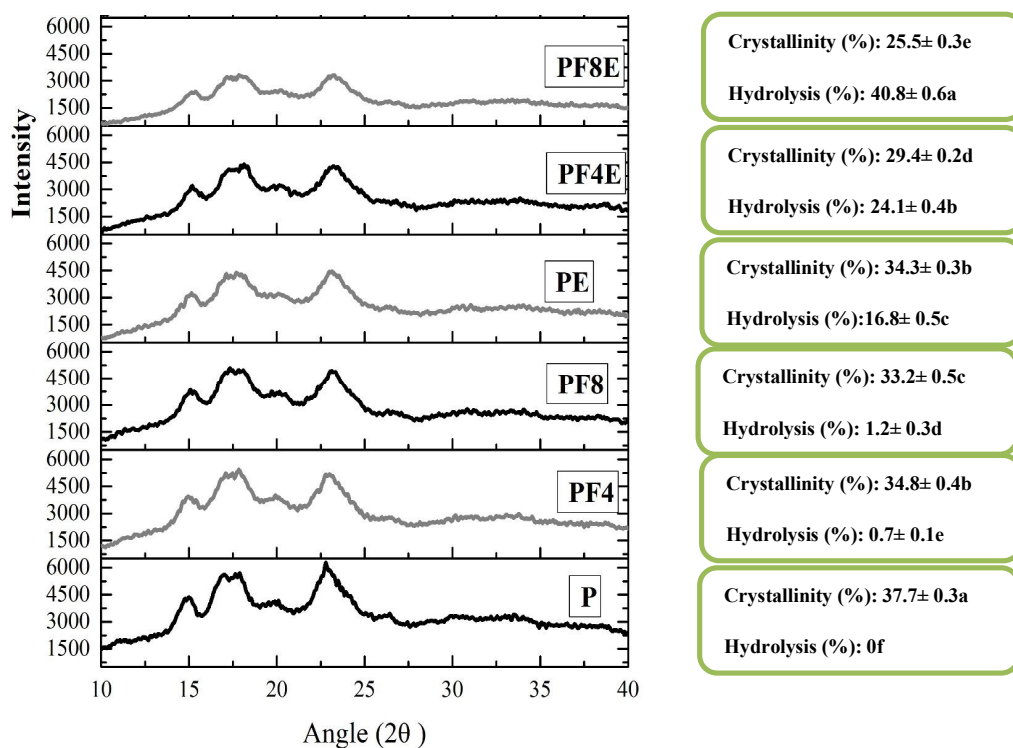


Fig. 2 X-ray diffraction patterns of native, freeze-dried and hydrolyzed potato starch.

ساختار باز (بخش X-ray و SEM) تشکیل شد و تعامل بین مولکول‌های نشاسته و آب را از طریق گروه‌های OH تسهیل کرد. همچنین، تفاوت دمای خمیری شدن بین نشاسته‌های طبیعی هیدرولیز شده و نشاسته‌های پیش تیمار شده با انجماد هیدرولیز شده، نشان دهنده ویژگی‌های (طول زنجیره و وزن ملکولی) آمیلوپکتین است. با کاهش وزن ملکولی آمیلوپکتین، کاهش دمای خمیری شدن بیشتر مشهود است.

دیگر خواص خمیری شدن شامل حداکثر ویسکوزیته (PV) و ویسکوزیته نهایی (FV) در NPS، PF4، PF8 و اشکال هیدرولیز شده آن‌ها به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت (جدول ۱). حداکثر ویسکوزیته از NPS (۳۶۷۸ cP) به PF4 در ۳۲۰۶ cP و PF8 در ۳۰۰۶ cP کاهش یافت. با تیمار انواع نشاسته‌ها به آلفا آمیلاز، حداکثر ویسکوزیته در نشاسته هیدرولیز شده طبیعی، PF4 و PF8 به ترتیب به ۳۱۱۳ cP، ۲۱۵۵ cP و ۱۹۵۶ cP کاهش پیدا کرد. مقادیر پایین‌تر PV نشاسته‌های پیش تیمار شده با انجماد در مقایسه با نشاسته طبیعی هیدرولیز شده توسط آلفا آمیلازها نشان می‌دهد که پیش تیمار انجماد به دلایل مختلف به شدت به گرانول‌های نشاسته آسیب می‌رساند و ویسکوزیته را کاهش می‌دهد: ۱- ساختار نشاسته با شکستن پیوندهای هیدروژنی و ساختار کریستالیاز

### ۳-۳- خصوصیات خمیری شدن

شکل ۳ خصوصیات خمیری شدن نشاسته طبیعی، تحت تیمار انجماد و هیدرولیز توسط  $\alpha$ -آمیلازرا نشان می‌دهد. همانطور که نشان داده شد، پیش تیمار انجماد در ۴ و ۸ روز در دمای  $25^{\circ}\text{C}$ ، به طور قابل توجهی دمای خمیری شدن (PT)، حداکثر ویسکوزیته (PV) و ویسکوزیته نهایی (FV) را کاهش داد. همانطور که در جدول ۳ مشاهده شد، دمای خمیری شدن در PF4 ( $63.7 \pm 0.3$ ) و PF8 ( $61.3 \pm 0.6$ ) در مقایسه با NPS ( $65.4 \pm 0.2$ ) به صورت قابل معناداری ( $p < 0.05$ ) کمتر بود. پارامترهای مرتبط با خمیری شدن می‌توانند تحت تأثیر عوامل متعددی مانند نسبت بخش آمورف به کریستال، طول زنجیره آمیلوپکتین، نشت آمیلوز، اصطکاک بین گرانول‌های متورم، و تورم گرانول‌ها اشاره کرد. شکستن گرانول‌های نشاسته و شکستن پیوندهای داخل و بین مولکولی هیدروژن در زنجیره‌های نشاسته در تیمار انجماد (بخش مربوط به درصد هیدرولیز و X-ray)، به آزادی این زنجیره‌ها کمک می‌کند. در نتیجه، مولکول‌های آب بیشتر به درون گرانول‌های پیش تیمار شده با انجماد نفوذ می‌کنند و آمیلوز می‌تواند از دانه‌ها خارج شود و ژلاتینه شدن را با دمای خمیری شدن کمتر تسریع کند. در نتیجه این اختلال، یک

نتایج در راستای نتایج حاصل از لی و همکاران (۲۰۲۱)، سونگ و همکاران (۲۰۲۰) و ژانگ و همکاران (۲۰۲۱) می‌باشد [۱۷، ۱۹، ۲۰].

هم گسسته می‌شود. ۲- ترک‌ها و سوراخ‌های بیشتر در سطح گرانول، منجر به پارگی نشاسته و تفکیک مولکول‌های آمیلوپکتین و آمیلوز گردیده و تشکیل دکسترین را تقویت بخشیده که در زلاتینه شدن تورم کمتری نشان می‌دهد. این

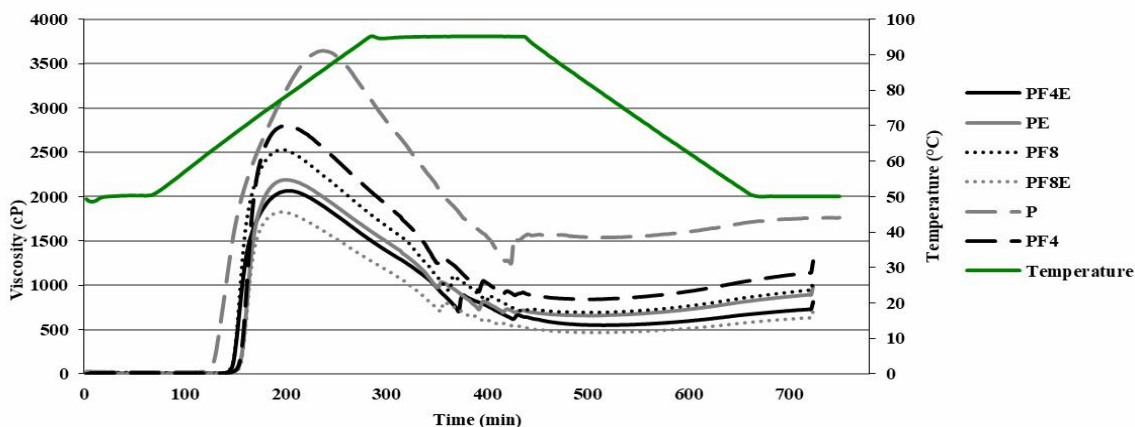


Fig 3 RVA of native, freeze-thawed and hydrolyzed potato and corn starch.

Table 1 Pasting profile and thermal properties of native, freezed and hydrolyzed potato starch

	Pasting temperature (°C)	Peak viscosity (mPa·s)	Final viscosity (mPa·s)
P	65.4± 0.2 <sup>B</sup>	3678± 23 <sup>A</sup>	1762± 15 <sup>A</sup>
PE*	65.8± 0.1 <sup>A</sup>	3113±13 <sup>C</sup>	1267±17 <sup>C</sup>
PF4	63.7± 0.3 <sup>C</sup>	3206±15 <sup>B</sup>	1367± 8 <sup>B</sup>
PF4E	57.7± 0.4 <sup>E</sup>	2155± 15 <sup>E</sup>	1008±11 <sup>E</sup>
PF8	61.3± 0.6 <sup>D</sup>	3006± 23 <sup>D</sup>	1221± 12 <sup>D</sup>
PF8E	52.6± 0.7 <sup>F</sup>	1956±17 <sup>F</sup>	971± 12 <sup>F</sup>

\*\* Different capital letters are significantly different (p < 0.05).

بیشترین حساسیت در برابر هیدرولیز از  $\alpha$ -آمیلاز متعلق به نشاسته سیب زمینی تیمار شده با انجماد بود که می‌تواند منجر به کاهش مصرف آنزیم در صنایع غذایی و مرتبط با مواد غذایی شود.

## ۵- منابع

- [1] K. Pourmohammadi, E. Abedi, The effect of pre and post-ultrasonication on the aggregation structure and physicochemical characteristics of tapioca starch containing sucrose, isomalt and maltodextrin, *Int. J. Biol. Macromol.* 163 (2020) 485–496.
- [2] E. Abedi, K. Pourmohammadi, M. Jahromi, M. Niakousari, L. Torri, The effect

## ۴- نتیجه گیری کلی

در این مقاله، اثر آمیلاز بر ویژگی‌های ساختاری و عملکردی نشاسته سیب‌زمینی طبیعی و تیمار شده با انجماد در زمان‌های مختلف بررسی شد. فرایند انجماد به طور قابل توجهی سطح ویژه و اندازه منافذ را افزایش داده و باعث افزایش حساسیت نشاسته در برابر قابلیت هضم آنزیمی می‌شود. هیدرولیز نشاسته طبیعی تیمار شده با انجماد، منجر به بیشترین بی‌نظمی در ساختار کریستالی (کاهش)، مورفولوژی (ایجاد منافذ و ترک)، دمای خمیری شدن و حداکثر ویسکوزیته (کاهش) می‌شود. تیمار نشاسته با آنزیم در گرانول‌هایی که دارای مواد آمورف بیشتر (محتوای کمتر کریستالینی) بودند، قابل توجه تر بود.



- assisted esterification, *Food Sci. Nutr.* 7 (2019). <https://doi.org/10.1002/fsn3.1115>.
- [12] X. Liu, L. Li, J. Yu, L. Copeland, S. Wang, S. Wang, In vitro digestibility of starches with different crystalline polymorphs at low  $\alpha$ -amylase activity to substrate ratio, *Food Chem.* 349 (2021) 129170.
- [13] J. Szymońska, F. Krok, E. Komorowska-Czepirska, K. Rębilas, Modification of granular potato starch by multiple deep-freezing and thawing, *Carbohydr. Polym.* 52 (2003) 1–10.
- [14] S. Yu, Y. Zhang, H. Li, Y. Wang, C. Gong, X. Liu, X. Zheng, N.K. Kopparapu, Effect of freeze-thawing treatment on the microstructure and thermal properties of non-waxy corn starch granule, *Starch/Staerke.* 67 (2015) 989–1001. <https://doi.org/10.1002/star.201500109>.
- [15] L. Guo, Y. Zhu, J. Li, Y. Gui, H. Tao, F. Zou, P. Liu, S. Janaswamy, B. Cui, The effects of wheat amylose ratios on the structural and physicochemical properties of waxy rice starch using branching enzyme and glucoamylase, *Food Hydrocoll.* 113 (2021) 106410.
- [16] X. Han, H. Wen, Y. Luo, J. Yang, W. Xiao, X. Ji, J. Xie, Effects of  $\alpha$ -amylase and glucoamylase on the characterization and function of maize porous starches, *Food Hydrocoll.* 116 (2021) 106661.
- [17] Z. Song, Y. Zhong, W. Tian, C. Zhang, A.R. Hansen, A. Blennow, W. Liang, D. Guo, Structural and functional characterizations of  $\alpha$ -amylase-treated porous popcorn starch, *Food Hydrocoll.* 108 (2020) 105606.
- [18] Y. Gui, F. Zou, J. Li, Y. Zhu, L. Guo, B. Cui, The structural and functional properties of corn starch treated with endogenous malt amylases, *Food Hydrocoll.* 117 (2021) 106722.
- [19] J. Li, L. Li, J. Zhu, Y. Ai, Utilization of maltogenic  $\alpha$ -amylase treatment to enhance the functional properties and reduce the digestibility of pulse starches, *Food Hydrocoll.* (2021) 106932.
- [20] Y. Zhong, K. Herburger, J.J.K. Kirkensgaard, B. Khakimov, A.R. Hansen, A. Blennow, Sequential maltogenic  $\alpha$ -amylase and branching enzyme treatment to modify granular corn starch, *Food Hydrocoll.* 120 (2021) 106904.
- of ultrasonic probe size for effective ultrasound-assisted pregelatinized starch, *Food Bioprocess Technol.* 12 (2019) 1852–1862.
- [3] E. Abedi, K. Pourmohammadi, Aggregation behaviors of sonicated tapioca starch with various strengths of Hofmeister salts under pre-and post-ultrasonic treatment, *Food Hydrocoll.* 105 (2020) 105826.
- [4] N. R. Jaafar, N.N. Nawawi, N.H. Abd Rahman, N.A.S. Annuar, R.A. Rahman, R.M. Illias, Synergistic action of cyclodextrin glucanotransferase and maltogenic amylase improves the bioconversion of starch to malto-oligosaccharides, *Process Biochem.* 103 (2021) 9–17.
- [5] E. Abedi, M. Sayadi, K. Pourmohammadi, Effect of freezing-thawing pre-treatment on enzymatic modification of corn and potato starch treated with activated  $\alpha$ -amylase: Investigation of functional properties, *Food Hydrocoll.* (2022) 107676.
- [6] Y. Benavent-Gil, C.M. Rosell, Comparison of porous starches obtained from different enzyme types and levels, *Carbohydr. Polym.* 157 (2017) 533–540.
- [7] Y. Benavent-Gil, C. M. Rosell, Morphological and physicochemical characterization of porous starches obtained from different botanical sources and amyolytic enzymes, *Int. J. Biol. Macromol.* 103 (2017) 587–595.
- [8] X. Chen, L. Zhang, X. Li, Y. Qiao, Y. Zhang, Y. Zhao, J. Chen, X. Ye, Y. Huang, Z. Li, Impact of maltogenic  $\alpha$ -amylase on the structure of potato starch and its retrogradation properties, *Int. J. Biol. Macromol.* 145 (2020) 325–331.
- [9] S. Delatte, L. Doran, C. Blecker, G. De Mol, O. Roiseux, S. Gofflot, P. Malumba, Effect of pilot-scale steam treatment and endogenous alpha-amylase activity on wheat flour functional properties, *J. Cereal Sci.* 88 (2019) 38–46.
- [10] M. T. Molina, A. Leiva, P. Bouchon, Examining the effect of freezing on starch gelatinization during heating at high rates using online in situ hot-stage video-microscopy and differential scanning calorimetry, *Food Bioprod. Process.* 100 (2016) 488–495.
- [11] E. Abedi, K. Pourmohammadi, S. Abbasi, Dual-frequency ultrasound for ultrasonic-





## The effect of freezing time on the efficiency yield of potato starch hydrolysis by alpha-amylase

Abedi, E. <sup>1\*</sup>, Pourmohammadi, K. <sup>1</sup>

1. Associate Professor of Food Science and Technology, School of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran.

### ABSTRACT

In order to achieve high-efficiency hydrolysis by  $\alpha$ -amylase, freezing pretreatment of potato starch was performed at  $-25^{\circ}\text{C}$  for 4 days (PF4) and 8 days (PF8). For this purpose, potato starch (NPS) and freeze pretreatment were suspended in water by exposure to alpha-amylase (0.15% w/v) for 10 hours at  $25^{\circ}\text{C}$ . Morphological properties, percentage of hydrolysis, degree of crystallinity by X-ray diffraction (X-ray) and pasting properties by rapid visco analyzer (RVA) were studied in native, frozen and hydrolyzed starches. Freezing caused surface damage of starch granule and according to the morphology results, scratches, dents and cracks were observed on the surface of the granule, and these changes were much more obvious after 8 days of freezing than after 4 days of freezing, and they were easily hydrolyzed. It was placed by  $\alpha$ -amylase and caused the disruption of starch granules. The results of the hydrolysis percentage showed that freezing produced a trace percentage in the production of hydrolyzed starch. Hydrolysis percentage (%) of natural starch increased to 16.8%, 24.1% and 40.8% after hydrolysis in P, PF4 and PF8, respectively. In addition, the relative crystallinity after freezing decreased from natural starch (37.7%) to 34.8% in PF4 and 33.2% in PF8, and this decrease was very substantial ( $p < 0.05$ ) after treatment with  $\alpha$ -amylase which decreased to 34.3%, 29.4% and 25.5% in P, 4 days and 8 days of freezing, respectively. Gelatinization temperature and pick viscosity after amylase treatment in all natural starches under freezing treatment decreased significantly ( $p < 0.05$ ) and the decreasing trend was observed in the order of PF8 > PF4 > P, which granular and intramolecular structures disruption as well as low swelling power could be the reason behind these results.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 07/ 07

Accepted 2022/ 08/ 09

#### Keywords:

Potato starch,  
Freezing pretreatment,  
Crystallinity percentage,  
Morphological properties.

DOI: 10.22034/FSCT.19.128.183

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.27.2

\*Corresponding Author E-Mail:  
e.abedi@fasau.ac.ir