



## اثر میکروکپسولاسیون آنزیم فیتاز و آلفا آمیلاز بر ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی، میکروبی و حسی نان

### تست سبوس دار

زکریا حسینچی قره آغاج<sup>۱</sup>، محمد حسین عزیزی تبریززاد<sup>۲\*</sup>، غلامحسن اسدی<sup>۳</sup>، رضا عزیزی نژاد<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۴- استادیار، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

#### تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۱

#### کلمات کلیدی:

آنزیم آمیلاز،

آنزیم فیتاز،

فرآیند ریزپوشانی،

نان تست حاوی سبوس.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.79

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.15.2

\* مسئول مکاتبات:

azizit\_m@modares.ac.ir

با توجه به اهمیت نان در سبد غذایی مردم جهان، توجه به افزایش خواص تغذیه‌ای این فرآورده از اهمیت بالایی برخوردار است. با هدف کاهش محتوای فیتیک اسید و افزایش مدت زمان ماندگاری، در این پژوهش تلاش شد که تاثیر فرآیند ریزپوشانی آنزیم‌های آمیلاز و فیتاز در نان بررسی شود. خواص شیمیایی، فیزیکی، میکروبی و حسی نمونه‌های نان تست حاوی سبوس و آنزیم آزاد و آنزیم ریزپوشانی شده با نمونه کنترل (نان تست سبوس دار و فاقد آنزیم) مقایسه شد و نتایج نشان داد که نمونه‌های حاوی آنزیم آزاد و نمونه‌های حاوی آنزیم ریزپوشانی شده، میزان فیتیک اسید کمتری را نسبت به نمونه کنترل داشته است ( $p \leq 0/05$ ). میزان حجم مخصوص و تخلخل نمونه‌های حاوی آنزیم آزاد و ریزپوشانی شده بیشتر و میزان ویسکوزیته آن‌ها کمتر از نمونه کنترل بوده است ( $p \leq 0/05$ ). نمونه‌های حاوی آنزیم کمترین میزان روشنایی و بیشترین میزان پارامترهای قرمزی و زردی را نسبت به کنترل داشته است ( $p \leq 0/05$ ). نمونه‌های کنترل میزان باکتری‌های مزوفیل و کپک و مخمر کمتری را داشته است و نمونه حاوی آنزیم ریزپوشانی شده بیشترین امتیاز حسی را تا روز پنجم آزمون نشان داده است ( $p \leq 0/05$ ). نتایج نشان داد که استفاده از آنزیم ریزپوشانی شده نسبت به نمونه حاوی آنزیم آزاد میزان فیتیک اسید بیشتری را داشته است اما در سایر نتایج تفاوت بین نمونه حاوی آنزیم ریزپوشانی شده و آنزیم آزاد وجود نداشته است و استفاده از آنزیم ریزپوشانی شده در مدت زمان نگهداری امتیاز خواص حسی بالاتری را نسبت به نمونه‌های دیگر داشته است و می‌توان از آن در افزایش بهبود کیفیت نان تست حاوی سبوس استفاده کرد.

## ۱- مقدمه

نان یکی از مواد غذایی اصلی در سراسر جهان به ویژه در کشورهای خاورمیانه است. با وجود توسعه و رقابت در زمینه تولید انواع مواد غذایی در جهان، نان هنوز هم نقش کلیدی در جیره غذایی دارد [۱].

به علت جداسازی سبوس از گندم مشکل کمبود فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی در نان وجود دارد و از طرف دیگر آردهای سبوس‌دار به علت داشتن اسید فیتیک بالا شرایط نامناسبی از نظر جذب عناصری چون آهن، روی و کلسیم ایجاد می‌کند. این موضوع می‌تواند زمینه ساز بسیاری از بیماری‌ها گردد. افزایش ترکیبات مفید به آرد و تولید نان از آن موجب تقویت کیفیت تغذیه‌ای نان می‌شود. نان‌های صنعتی ضایعات بسیار ناچیزی در مقابل سایر نان‌ها داشته و به دلیل کیفیت بالای پخت، تنوع گسترده محصول، ماندگاری مناسب و انجام مرحله کامل تخمیر خمیر از جایگاه غذایی مناسبی برخوردار هستند. از مهم‌ترین انواع نان‌های صنعتی، می‌توان به نان تست اشاره نمود که یکی از نان‌های پرمصرف در جهان، به خصوص در کشورهای اروپایی و آمریکایی می‌باشد [۲].

مطالعات فراوانی استفاده از آنزیم‌های تجزیه کننده پلی ساکاریدها را به عنوان گزینه‌ای برای حفظ کیفیت نان و تأخیر در بیبیتی، پیشنهاد کرده اند [۳]. در میان این آنزیم‌ها آلفا آمیلاز به عنوان مؤثرترین روش آنزیمی در کاهش بیبیتی نان بوده است، که از طریق هیدرولیز جزئی نشاسته، تولید مولکول‌هایی با وزن مولکولی کمتر می‌کند و مانع بلوری شدن آمیلوپکتین می‌شود [۴]. از ویژگی‌های آلفا آمیلاز در نان، اثر آن بر تجزیه نشاسته‌های آسیب دیده آرد و تولید دکسترین با وزن مولکولی کمتر که قابلیت تخمیر شدن به وسیله مخمر را دارد می‌باشد و در نتیجه سبب افزایش حجم و بهبود بافت نان می‌شود [۵]. آنزیم فیتاز نیز به عنوان یک بهبود دهنده عالی در تهیه نان استفاده می‌شود. علاوه بر کاهش محتوای فیتات در خمیرها و نان‌های تازه، زمان تخمیر با افزودن فیتاز بدون تأثیر بر pH خمیر کوتاه‌تر می‌شود. همچنین، افزایش حجم نان و بهبود بافت خرده نیز مشاهده می‌شود، بنابراین خرده‌های نرم‌تری با مکمل فیتاز بدست می‌آید و پارامترهای دیگر بافت مانند چسبندگی نیز کاهش می‌یابد. پیشنهاد شده است که این تغییرات در کیفیت نان با تأثیر غیرمستقیم فیتاز بر فعالیت آمیلاز همراه باشد. این آنزیم، یون‌های کلسیم را که

برای فعالیت آمیلاز ضروری هستند، از کمپلکس‌های فیتات کلسیم آزاد می‌کند. در نان‌های نهایی فعالیت فیتاز قابل تشخیص نیست. بنابراین فیتازهای ذاتی و همچنین فیتازهای میکروبی افزوده شده در حین پخت غیرفعال می‌شوند [۶]. تثبیت آنزیم با تکنیک‌هایی مانند میکروکپسولاسیون موجب افزایش پایداری و زیست دسترس پذیری آن شده و اثر استرس‌های محیطی نظیر دما، pH، قدرت یونی و غلظت سوبسترا بر آنزیم را کاهش می‌دهد [۷ و ۸]. همچنین مصرف بیش از اندازه آلفا آمیلاز در طول آماده سازی خمیر از طریق ایجاد مالتو دکسترین‌های منشعب با درجه پلیمریزاسیون ۱۰۰-۲۰، می‌تواند موجب آدامسی شدن بافت نان گردد. این مشکل ممکن است از طریق تکنیک‌های میکروکپسولاسیون به حداقل میزان خود برسد [۹].

در این رابطه، کاستیوچنکو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۲۱) با اثرات منفرد و متقابل آنزیم‌های آلفا آمیلاز، آندوزیلاناز و آگزوپروتناز بر خصوصیات خمیر و کیفیت نان ساخته شده از آرد گندم را مورد بررسی قرار دادند [۱۰]. و همچنین کیم<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۲۰) بهبود خواص بافتی خمیر نان منجمد با استفاده از آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آندوزیلاناز را مورد مطالعه قرار دادند [۱۱].

باتوجه به سرانه بالای مصرف نان و میزان ضایعات آن در کشور، همواره تولید نان عاری از افزودنی‌های شیمیایی و دارای کیفیت و زمان ماندگاری مطلوب یکی از دغدغه‌های اصلی صنایع نانوایی بوده است. علاوه بر این در طی سال‌های اخیر، بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای، سلامتی نان و غنی سازی آن با ترکیبات مختلف با هدف ارتقاء ارزش غذایی و کیفیت محصول نیز مورد توجه محققین فراوانی قرار گرفته است، لذا هدف از این پژوهش، بررسی تاثیر آنزیم ریزپوشانی شده آلفا آمیلاز و فیتاز بر خواص شیمیایی، فیزیکی و میکروبی نان تست سبوس‌دار در مقایسه با نان‌های حاوی آنزیم آزاد و فاقد آنزیم است.

## ۲- مواد و روش‌ها

## ۲-۱- مواد

آنزیم آلفا آمیلاز (EC 3.2.1.1) نوع A3306-10ML و تولید شده توسط باکتری باسیلوس لایشنی فورمیس<sup>۳</sup> و آنزیم فیتاز (EC 3.1.3.8)، نوع P9792-5G، تولید شده توسط قارچ اسپرژیلوس

1. Kostyuchenko  
2. Kim  
3. *Bacillus licheniformis*

پس از مخلوط مواد خشک، آنزیم کپسوله شده آلفا آمیلاز و فیتاز با آب لازم برای تهیه خمیر، مخلوط و به مخلوط خشک اضافه شد. بعد از تشکیل توده فرم پذیر خمیر، استراحت اولیه نمونه به مدت ۱۰ دقیقه انجام گردید. سپس قطعاتی از خمیر به وزن تقریبی ۴۵۰ گرم، چانه گیری و گرد گردید و مجدداً پس از ۱۰ دقیقه استراحت، تخمیر میانی انجام گرفت. پس از تخمیر نهایی در درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰ درصد به مدت ۴۰ دقیقه، قالب‌های نان، وارد فر گردان با دمای ۲۲۰ الی ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد شدند. مدت پخت نمونه‌های تست حدوداً ۴۵-۴۰ دقیقه بود. نان‌ها پس از پخت و سرد شدن، در کیسه‌های پلی اتیلنی بسته بندی و تا زمان انجام آزمون‌های مربوطه در یخچال نگهداری گردید[۹].

#### ۲-۲-۳- اندازه گیری خواص فیزیکوشیمیایی

##### ۲-۲-۳-۱- اندازه‌گیری اسید فیتیک

برای اندازه گیری از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) با ستون ۲۵ سانتی‌متری و در ادامه اسپکتوفتومتر (Mode Perkin- Elmer Corp., Norwalk, CT) استفاده شد[۱۲]. ۰/۲ گرم از نمونه خشک هموژن و ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۰/۵ مولار به آن افزوده شد. و برای مدت ۱ ساعت در دمای اتاق همزده شد و به تیوب سانتریفوژ منتقل گشت و در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. نمونه‌های صاف شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول‌های استاندارد ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ میکرومول بر میلی‌لیتر از محلول استوک اولیه توسط رقیق کردن با آب مقطر کاملاً خالص صورت می‌گیرد. پس از تهیه ۱ میلی‌لیتر از هریک از محلول‌های استاندارد و اضافه کردن محلول آهن-تیوسیانات، محلول استاندارد به مدت ۲/۵ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب قرار داده شد. پس از سانتریفوژ، استانداردها به ستون تزریق شده و در ادامه در طول موج ۴۶۰ نانومتر پیک شناسایی شد.

##### ۲-۲-۳-۲- اندازه گیری میزان رطوبت

اندازه‌گیری رطوبت، مطابق با استاندارد شماره AACC(2000)، شماره ۱۳-۴۶ انجام گردید. برای این منظور نمونه‌های مورد نظر در آون با حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار

فیکوم<sup>۱</sup> از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه شد. موم زنبور عسل به عنوان ترکیب پوششی از موم زنبور عسل سفید از شرکت Samchan (کره جنوبی) خریداری و مواد شیمیایی (توئین ۲۰، هیدراتنمکسدیماسیدفیتیک<sup>۲</sup> (P3168-25G)، مونوهیدرات مالتوز<sup>۳</sup> (M5895-500G) مورد استفاده برای آزمون‌ها از شرکت سیگما تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده مربوط به شرکت مرک آلمان بوده است.

#### ۲-۲- روش‌ها

##### ۲-۲-۱- اینکپسولاسیون آنزیم‌های آلفا آمیلاز و فیتاز در

##### موم زنبور عسل

کپسوله کردن آلفا آمیلاز داخل موم زنبور عسل با استفاده از روش توصیف شده توسط حقیقت خرازی و همکاران (۲۰۱۸) انجام شد. در این روش، آلفا آمیلاز کپسوله شده توسط تکنیک Emulsion Congealing تهیه شد[۹].

برای این منظور، موم زنبور عسل در آب با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد ذوب شد. سپس موم زنبور عسل ذوب شده به ۲۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات (۵۰ mM، pH برابر با ۷) ریخته شد که قبل ابا دمای بالاتر از نقطه ذوب موم زنبور عسل حرارت داده شده بود. سپس توئین ۲۰ و آلفا آمیلاز و فیتاز به مخلوط بافر و لپید مذاب اضافه شد. پس از حفظ فرایند همزدن با استفاده از مگنت استیرر (همزن مغناطیسی) به مدت ۲ دقیقه، امولسیون بلافاصله با همان حجم محلول بافر فسفات سرد (۰-۲ درجه سانتی‌گراد)، تحت همزن مکانیکی برای تولید ذرات جامد کروی، خنک گشت. در نهایت، کره ای جامد، با استفاده از کاغذ فیلتر واتمن نمره ۳ جمع آوری و فیلتر شده و به وسیله آب مقطر شستشو داده شد تا باقیمانده سورفاکتانت و آنزیم حذف شود. فرآیند خشک کردن هوایی<sup>۴</sup> در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت برای تولید کره‌های جامد و یکنواخت آزاد انجام شد. محصول نهایی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد[۹].

##### ۲-۲-۲- تهیه نان تست

در ابتدا، آرد به همراه سایر مواد خشک و پودری مخلوط شد.

1. *Aspergillus ficuum*
2. Phytic acid dodecasodium salt Hydrate
3. Maltose monohydrate
4. Air-drying

گرفت و سپس میزان رطوبت با توجه به کاهش وزن نمونه، محاسبه شد [۱۲].

#### ۲-۳-۳- اندازه گیری میزان نشاسته

برای تعیین نشاسته محلول در نان، دو گرم نان توسط مخلوط کن با ۱۰۰ میلی لیتر آب مخلوط و به صورت سوسپانسیون شد. حدود ۳۰ میلی لیتر از محلول شفاف روی ظرف سانتریفوژ گردیده و یک میلی لیتر از محلول صاف شده با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر محلول یدین مخلوط شد. مقدار جذب این محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد و نهایتاً غلظت نشاسته محلول با توجه به منحنی نمونه استاندارد نشاسته محلول اندازه گیری شد [۱۳].

#### ۲-۲-۴- بررسی خواص فیزیکی

##### ۲-۲-۴-۱- اندازه گیری حجم مخصوص

برای اندازه گیری حجم مخصوص نمونه‌های نان از روش جایگزینی حجم دانه‌ها مطابق با استاندارد AACC(2000) شماره ۱۰-۰۵ استفاده شد. [۱۲].

##### ۲-۲-۴-۲- اندازه گیری ویسکوزیته

مقادیر ویسکوزیته ظاهری با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (مدل DVII، آمریکا) و با کمک اسپندل شماره ۷ در سرعت ۱۰ دور بر دقیقه بررسی شد [۱۲].

##### ۲-۲-۴-۳- اندازه گیری تخلخل

برای اندازه گیری تخلخل مغز نان از روش پردازش تصویر استفاده شد. بدین منظور قطعه ۵×۵ از قسمت میانی مغز نان بریده شد، عکس آن به وسیله اسکنر (HP ۴۸/۵۰ ساخت چین) تهیه شد و در کامپیوتر ذخیره و به وسیله نرم افزار imagej و با فعال کردن قسمت ۸ بیت، به صورت تصاویر خاکستری در آمده 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 به‌عنوان شاخص میزان تخلخل نان برآورده شد [۱۴].

##### ۲-۲-۴-۴- اندازه گیری رنگ

رنگ سطح تیمارهای نان تست بر مبنای سیستم اندازه گیری هانتربل و با استفاده از دستگاه رنگ سنج (Minolta, CM-3500d, Japan) اندازه گیری شد. \*L شاخص روشنایی است که مقدار ۱۰۰ برای نمونه کاملاً سفید و صفر برای نمونه کاملاً

سیاه در نظر گرفته میشود. شاخص \*a کیفیت قرمز - سبزی بوده که مقادیر مثبت، قرمزی و مقادیر منفی، سبزی را نشان می‌دهد. \*b معرف کیفیت زرد- آبی بوده و مقادیر مثبت، زردی و مقادیر منفی، آبی بودن را نشان می‌دهند [۱۵].

#### ۲-۲-۵- آزمون میکروبی

برای ارزیابی ویژگیهای میکروبی، ابتدا نمونه برداری بر اساس استاندارد شماره ۲۸۳۶ انجام شد. شمارش کلی میکروارگانیسمهای هوازی بر اساس استاندارد ملی شماره ۵۲۷۲، کشت و کپک و مخمر بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹ و ۹۸۹۹ انجام گرفت [۱۶]. برای شمارش کلی میکروارگانیسمهای هوازی از محیط کشت پلیت کانت آگار استفاده شد و کشت به روش پور پلیت انجام و نمونه‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. در شمارش کپک و مخمر محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار و گرمخانه گذاری به مدت سه روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد استفاده شد.

#### ۲-۳- تجزیه و تحلیل داده‌ها

بررسی داده‌های آزمون با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ و در طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد، از تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) برای بررسی تاثیر تیمار و از آزمون دانکن برای بررسی مقایسه میانگین بین نمونه‌ها استفاده شد.

### ۳- نتایج و بحث

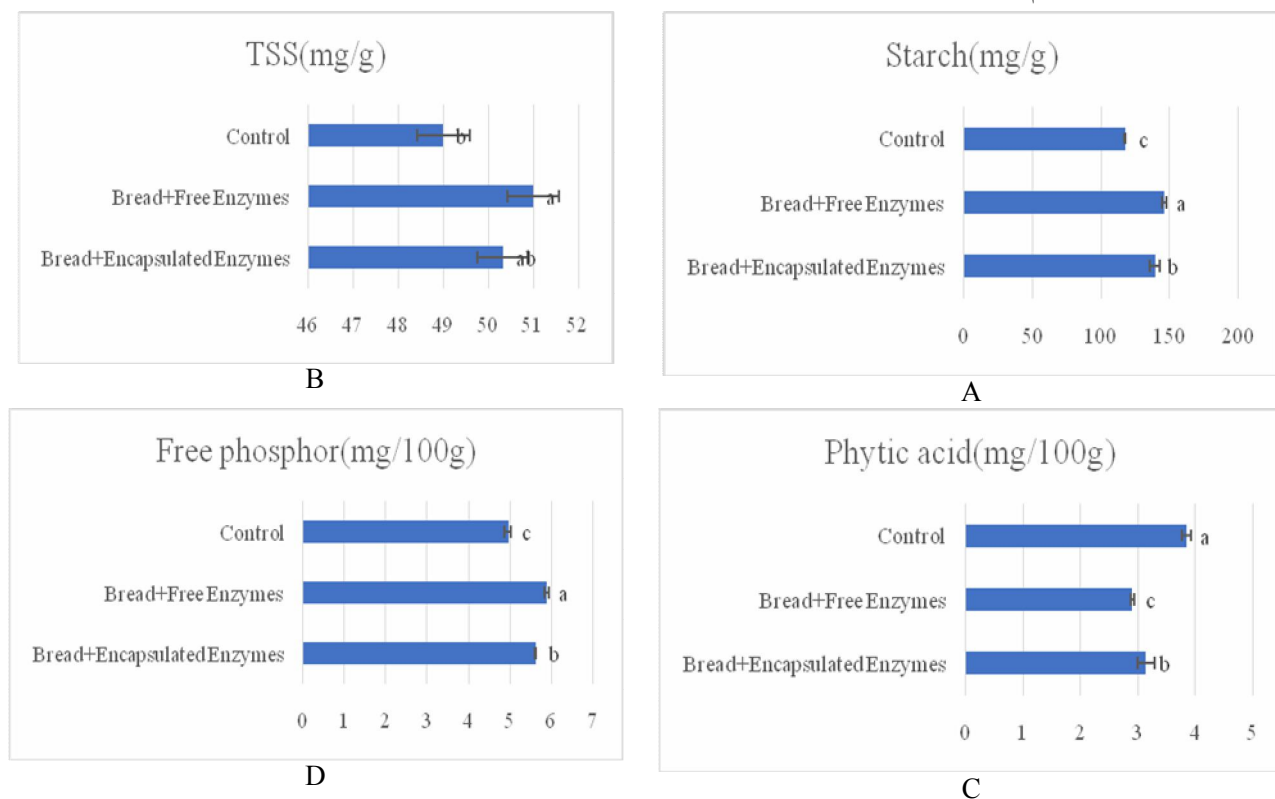
#### ۳-۱- بررسی خواص شیمیایی نان حاوی

##### آنزیم‌های ریزپوشانی شده پس از تولید

در شکل ۱-الف بیان شده است که بیشترین میزان نشاسته را نمونه نان حاوی آنزیم نان داشته است که با محتوای نشاسته برابر با ۱۴۵/۸۵ (mg/g) با سایر نمونه‌های آزمون تفاوت معنی‌دار داشته است. کمترین میزان نشاسته نیز متعلق به نمونه کنترل با محتوای نشاسته برابر با ۱۱۷/۴۰ (mg/g) بوده است، اختلاف مشاهده شده بین سه نمونه نان در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ( $p \leq 0.05$ ). حضور آنزیم نتوانست بر محتوای مواد جامد محلول در نان تاثیر معنی‌داری را داشته باشد. مطابق با

تفاوت مشاهده بین هر سه نمونه کنترل و نمونه‌های نان حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد و ریزپوشانی شده در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ( $p \leq 0/05$ ). در شکل ۱-د- نشان داده شد که بیشترین محتوای فسفر آزاد در نان‌های حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد مشاهده شده است و در ادامه نمونه‌های نان حاوی آنزیم کپسوله شده و نمونه‌های نان کنترل به ترتیب با مقادیری برابر با ۵/۸۷، ۵/۶۱ و ۴/۹۴ درصد فسفر آزاد داشته‌اند و با هم اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داده‌اند ( $p \leq 0/05$ ).

شکل ب-۱، میزان مواد جامد محلول در نان برای نان‌های حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز ریزپوشانی شده، آزاد و کنترل به ترتیب برابر با (۵۰/۳۳، ۵۱ و ۴۹) mg/g بوده است، اختلاف بین نمونه‌های نان حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز ریزپوشانی شده و آزاد معنی‌دار نبوده است اما تفاوت مشاهده شده بین نمونه‌های نان حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد و نمونه کنترل معنی‌دار بوده است ( $p \leq 0/05$ ). با توجه به شکل ۱-ج- بیشترین و کمترین میزان فیتیک اسید به ترتیب مربوط به نمونه‌های کنترل (۳/۸۴) و نمونه‌های نان حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد (۲/۹۰) بوده است.



**Fig 1** Comparison of the mean content of starch (a), soluble solids (b), phytic acid (c) and free phosphorus (d) under the influence of alpha-amylase and phytase

تیمار شده افزایش یافته است. فیتاز آنزیم هیدرولیزکننده اسیدفیتیک است [۱۹].

دز گندم حداکثر فعالیت فیتاز را سلول‌های آرون و حداقل فعالیت را سلول‌های جوانه از خود نشان می‌دهند. به همین سبب، آردهایی که دارای سبوس بیشتری هستند از نظر فعالیت آنزیمی در سطح بالاتری نسبت به آردهای روشن قرار دارند [۲۰]. حاصل از عمل فیتاز بر فیتیک اسید، فسفریک اسید و

تفاوت محتوای فسفر موجود در خاکستر نمونه‌های نان، در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار نبوده است. محصولات نهایی حاصل از عملکرد آنزیم آمیلاز بر نشاسته، مخلوطی از ترکیبات گلوکز، مالتوز، مالتوتریوز و اولیگوساکاریدهای شاخه‌ای با ۶ تا ۸ واحد گلوکز است که هر دو پیوند آلفا-۱،۴ و آلفا-۱،۶ را شامل می‌شوند [۱۷ و ۱۸]. صادقی و همکاران (۱۳۸۷) نشان دادند که با افزایش غلظت آنزیم آلفا آمیلاز، میزان دکستروز نمونه‌های نان

تغییرات فیزیکی نان‌های حاوی آنزیم‌های آلفا آمیلاز و فیتاز ریزپوشانی شده در مقایسه با نان‌های حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد و نمونه‌های نان کنترل (فاقد آنزیم) بررسی شد. نتایج نشان داد که استفاده از تیمار آنزیم، منجر به تاثیر معنی‌دار بر پارامترهای فیزیکی نمونه‌های نان شده است ( $p \leq 0.05$ )، استفاده از آنزیم‌های فیتاز و آلفا آمیلاز منجر به تاثیرات معنی‌دار بر پارامترهای حجم، تخلخل، ویسکوزیته و فاکتورهای رنگ نمونه ای نان شده است که در جدول ۱ به آن اشاره شده است.

میواینوزیتول است. کلسیم باعث فعال شدن سیستم بیولوژیکی مذکور شده، آزاد شدن گروه فسفر را تسریع می‌کند [۱۹]. نتایج نشان داده است که افزایش مخمر منجر به افزایش میزان آنزیم فیتاز شده است که باعث از بین رفتن فیتیک اسید می‌شود [۲۰]. در نتایج این پژوهش نیز بیان شده است که در نمونه‌های حاوی آنزیم، فیتیک اسید کاهش و میزان فسفر که محصول تجزیه فیتیک اسید می‌باشد، افزایش یافته است.

### ۳-۲- بررسی خواص فیزیکی نان حاوی آنزیم‌های ریزپوشانی شده پس از تولید

**Table 1** Investigation of changes in physical parameters of bread after production

Factor	Control	Bread+Free Enzymes	Bread+Encapsulated Enzymes
specific volume(%)	2.46+0.07 <sup>b</sup>	3.87+0.1 <sup>a</sup>	3.59+0.1 <sup>a</sup>
Porosity(%)	18.16+0.3 <sup>b</sup>	22.70+0.2 <sup>a</sup>	21.86+0.2 <sup>a</sup>
Viscosity(cP)	3861.33+21.5 <sup>a</sup>	3048.33+75.6 <sup>c</sup>	3200.00+18.33 <sup>b</sup>
L*	60.56+0.09 <sup>a</sup>	60.09+0.13 <sup>b</sup>	60.12+0.06 <sup>b</sup>
a*	1.44+0.09 <sup>b</sup>	1.81+0.1 <sup>a</sup>	1.80+0.1 <sup>a</sup>
b*	14.39+0.04 <sup>b</sup>	15.18+0.12 <sup>a</sup>	15.37+0.1 <sup>a</sup>

\*Different English lowercase letters indicate a statistically significant difference between different samples

آنزیم فیتاز و آمیلاز ریزپوشانی شده مشاهده شد که با نمونه نان حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد تفاوت آماری معنی‌داری را نداشته است ( $p \leq 0.05$ )، اما تفاوت بین نمونه کنترل که پایین ترین میزان تمایل به زردی را داشته است با نمونه‌های حاوی آنزیم (آزاد و ریزپوشانی شده) معنی‌دار بوده است.

نتایج این پژوهش نشان داد که آنزیم‌ها سبب افزایش میزان حجم نان تست سبوس‌دار می‌شوند، اثر آنزیم آلفا آمیلاز بیشتر بر شبکه گلوتن و تجزیه نشاسته به دکسترین‌ها با وزن مولکولی کمتر می‌باشد که این ترکیب به عنوان قند قابل تخمیر مورد استفاده مخمر به وسیله ی مخمر قرار می‌گیرد و باعث افزایش تولید CO<sub>2</sub> می‌شود، 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 [۲۱]. و و همکاران (۲۰۲۰) بیان داشتند که استفاده از آمیلاز میکروبی لاکتوباسیوس پلانتروروم منجر به افزایش تخلخل و حجم نان‌ها شده است [۳].

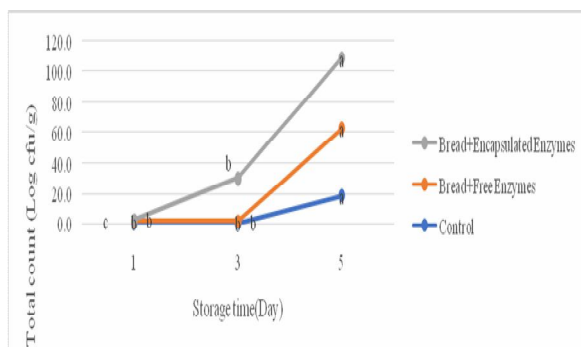
اثر آمیلاز بر کاهش سفتی در اثر تجزیه پیوندهای گلیکوزیدی موجود در نشاسته به دکسترین‌ها با وزن مولکولی کمتر است که این هیدرولیز نشاسته باعث تاخیر در تشکیل زنجیره دوگانه

در بررسی تخلخل نیز مشخص شد که بیشترین و کمترین میزان تخلخل را به ترتیب نمونه‌های حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز ریزپوشانی شده و نمونه کنترل داشته است، لازم به ذکر است تفاوت بین تخلخل در نمونه‌های حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد و نمونه حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز ریزپوشانی شده معنی‌دار نبوده است ولی اختلاف این دو نمونه با نمونه کنترل در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ( $p \leq 0.05$ ). جدول ۱ نشان داده است که بیشترین میزان ویسکوزیته مربوط به نمونه کنترل بوده است که با نمونه‌های حاوی آنزیم (آزاد و ریزپوشانی شده) تفاوت آماری معنی‌داری را داشته است ( $p \leq 0.05$ ) و اختلاف بین نمونه‌های دارای آنزیم معنی‌دار نبوده است ( $p > 0.05$ ). در بررسی پارامتر روشنایی نمونه‌های نان نیز مشخص شد که بالاترین میزان پارامتر روشنایی را نمونه کنترل داشته است که با دو نمونه دیگر حاوی آنزیم اختلاف آماری معنی‌داری را داشته است و تفاوت بین نمونه‌های حاوی آنزیم معنی‌دار نبوده است ( $p > 0.05$ ). نمونه‌های حاوی آنزیم بیشترین میزان پارامتر تمایل به قرمزی را نشان داده اند که با نمونه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری را داشته است ( $p \leq 0.05$ ) و فاقد اختلاف آماری معنی‌دار با یکدیگر بوده اند ( $p > 0.05$ ). بیشترین پارامتر تمایل به زردی در نمونه نان حاوی

بیاتی نان شده است. پدیده بیات شدن در مغز و پوسته نان اتفاق می‌افتد و موجب از دست رفتن تردی و برشته‌گی آن می‌گردد و در این مورد جذب رطوبت خواه از مغز نان یا هوای محیط توسط پوسته عامل بیات شدن پوسته است. در حالت عادی رطوبت نان تازه کمتر از ۱۵ درصد و به خوبی ترد است اما پس از جذب آب از هوا یا جذب آب از مغز نان حالت نرم و گاه چرمی به خود می‌گیرد. برخی از محققین انتقال رطوبت از گلوتن به نشاسته را عامل بیاتی می‌دانند و معتقدند که در سیستم کلوئیدی نان گلوتن فاز پیوسته است و نشاسته ژلاتینه نشده و آمیلوز نشت کرده از آن فاز ناپیوسته و معتقدند که پیوندهای هیدروژن بین گروه‌های  $\text{OH}$  خارج شده از زنجیر نشاسته با گروه  $\text{NH}_2$  گلوتن در هنگام بیات شدن نان دچار تغییر می‌شوند [۲۵]. در نتیجه کاهش رطوبت موجود در نمونه‌های نان حاوی آنزیم مربوط به کاهش بیاتی نان‌های حاوی آنزیم بوده است.

### ۳-۴- بررسی تاثیر آنزیم بر تغییرات میکروبی تیمارهای مختلف نمونه نان طی مدت زمان نگهداری

۳-۴-۱- بررسی تاثیر آنزیم بر تغییرات رشد باکتری‌های مزوفیل کل تیمارهای مختلف نمونه نان طی مدت زمان نگهداری



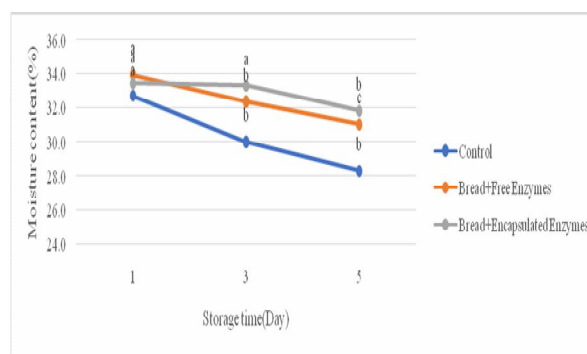
**Fig 3** Changes in total mesophilic bacterial count (CFU / g) of each bread sample during storage

برای بررسی تأثیر نوع آنزیم بر تغییرات رشد کپک و مخمر نمونه‌های نان در هر روز از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد و نتایج نشان داد که نوع آنزیم بر تغییرات رشد کپک و مخمر نمونه‌های نان در هر روز نگهداری

آمیلوپکتین شده و مانع پیوند مولکولهای آمیلوپکتین باهم می‌شود و در نتیجه تشکیل شبکه ۳ بعدی آنرا تضعیف می‌کند و در نهایت باعث کاهش ویسکوزیته نان می‌شود [۲۲]. در مطالعات Caballero و همکاران (۲۰۰۷) و Ribotta و همکاران (۲۰۰۱) نتایج مشابهی از افزودن آنزیم آمیلاز بر کاهش سفتی و ویسکوزیته نان منجمد نشان داده شده است [۲۳ و ۲۴]. Chen و همکاران (۲۰۲۱) نیز بیان داشتند که آمیلاز موجب افزایش معنی دار حجم و کاهش سفتی نمونه‌های نان شده است [۲۵].

در پژوهشی دیگر بیان شد که افزودن آمیلاز باعث بهبود رنگ پوسته می‌شود که دلیل آنرا افزایش تشکیل قندهای ساده، همچنین اثر آن بر تجزیه ساختمان پروتئین‌ها و تولید گروههای  $\text{NH}_2$  دانستند که این مواد در واکنش میلارد شرکت می‌کنند و سبب بهبود رنگ پوسته نان می‌شود، همچنین این واکنش‌ها باعث تولید ترکیبات مؤثر بر عطر، طعم و رنگ می‌شوند در نتیجه این فاکتورها را بهبود می‌بخشد [۲۶]. نتایج پژوهش دیگری نشان داد که استفاده از آنزیم آمیلاز باعث افزایش شاخص  $b$  در نان باگت شده است [۲۷].

### ۳-۳- بررسی تاثیر آنزیم بر تغییرات شیمیایی (رطوبت) تیمارهای مختلف نمونه نان طی مدت زمان نگهداری



**Fig 2** Changes in moisture content (percentage) of each bread sample during storage

مطابق با نتایج ارائه شده در شکل ۲- مشخص است که با افزایش مدت زمان نگهداری محتوای رطوبت نمونه‌های نان کاهش یافته است، بیشترین میزان رطوبت مربوط به نمونه‌های حاوی آنزیم ریزپوشانی و آزاد بوده است. در بررسی حسی نمونه‌های نان نشان داده شد که آنزیم‌های آلفا آمیلاز و فیتاز، منجر به کاهش

می‌کند. لازم به ذکر است در فرآیند ریزپوشانی آنزیم از موم زنبور عسل استفاده شده است که خود نیز می‌تواند منبع بالقوه‌ای برای رشد باکتری باشد. مهم‌ترین آلودگی میکروبی در محصولات نانویی به وسیله کپک‌ها و تولید مایکوتوکسین است. بیشترین طیف فعالیت ضد قارچی به علت تولید مخلوطی از اسید استیک، کاپروئیک، فرمیک، پروپیونیک، بوتیریک و n والریک است. در این میان بیشترین فعالیت ضد کپکی را کاپروئیک داشته است [۲۸].

### ۳-۵- بررسی تاثیر آنزیم بر خواص حسی تیمارهای مختلف نمونه نان طی مدت زمان نگهداری

تجزیه و تحلیل آماری خواص حسی برای نمونه‌های مختلف نان در یک روز با روش ناپایداری کروسکال -والیس انجام شد و از روش ناپارامتریفریدمن برای بررسی یک نمونه در مدت زمان نگهداری استفاده شد. نتایج ارزیابی حسی مربوط به نان تست سبوس‌دار در جدول ۲ بیان شده است.

**Table 2** Investigation of changes in sensory parameters of bread after production

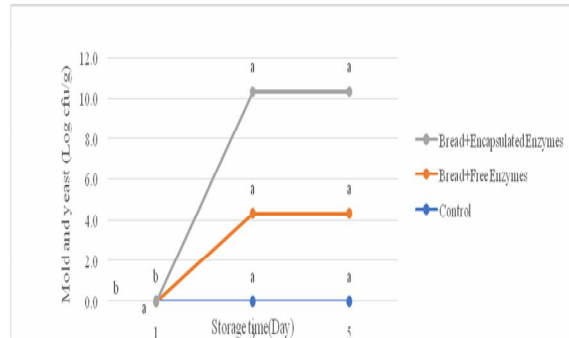
Factor	Storage time(day)	Control	Bread+Free Enzymes	Bread+Encapsulated Enzymes
Flavour	1	3.00+0.00 <sup>bA</sup>	4.66+0.5 <sup>aA</sup>	4.66+0.5 <sup>aA</sup>
	3	2.33+0.07 <sup>bAB</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>
	5	1.66+0.07 <sup>bB</sup>	3.66+0.5 <sup>aA</sup>	4.00+1.0 <sup>aA</sup>
Taste	1	3.33+0.5 <sup>bA</sup>	5.00+0.00 <sup>aA</sup>	4.66+0.5 <sup>aA</sup>
	3	2.66+0.5 <sup>bAB</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>
	5	2.00+0.00 <sup>cB</sup>	3.33+0.5 <sup>bB</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>
Texture	1	4.33+0.5 <sup>aA</sup>	4.66+0.5 <sup>aA</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>
	3	3.66+0.5 <sup>bAB</sup>	4.00+0.0 <sup>abAB</sup>	4.66+0.5 <sup>aA</sup>
	5	2.66+0.5 <sup>bB</sup>	3.33+0.5 <sup>abB</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>
Colour	1	5.00+0.00 <sup>aA</sup>	5.00+0.00 <sup>aA</sup>	5.00+0.00 <sup>aA</sup>
	3	3.66+0.5 <sup>bB</sup>	4.00+0.0 <sup>abA</sup>	4.66+0.5 <sup>aA</sup>
	5	2.33+0.5 <sup>aC</sup>	3.00+0.0 <sup>aB</sup>	3.00+0.0 <sup>aB</sup>
Total Acceptance	1	4.00+0.0 <sup>bA</sup>	5.00+0.00 <sup>aA</sup>	5.00+0.00 <sup>aA</sup>
	3	3.33+0.5 <sup>aA</sup>	4.33+0.5 <sup>aAB</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>
	5	2.33+0.5 <sup>bB</sup>	3.66+0.5 <sup>aB</sup>	4.33+0.5 <sup>aA</sup>

\*Different English lowercase letters indicate a statistically significant difference between different samples in one day.

\*Different English uppercase letters indicate a statistically significant difference in a sample and on different days.

پارامترهای حسی را داشته است به گونه‌ای بیشترین امتیاز عطر و بو را نمونه حاوی آنزیم ریزپوشانی شده فیتاز و آلفا آمیلاز در روز اول آزمون داشته است و کمترین امتیاز مربوط به نمونه

تأثیر معنی‌دار داشته است ( $p \leq 0/05$ ) و با افزایش مدت زمان نگهداری برای هر تیمار میزان رشد کپک و مخمر نمونه‌ها افزایش یافته است که این افزایش در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بوده است ( $p \leq 0/05$ ).



**Fig 4** Changes in the count of mold and yeast in different bread treatments during storage

بیشترین رشد باکتری‌های مزوفیل کل و کپک و مخمر در نمونه‌های کنترل مشاهده شده است و استفاده از آنزیم‌های آمیلاز و فیتاز به صورت آزاد و ریزپوشانی شده منجر به افزایش رشد میکروارگانیسم‌ها شده است. احتمالاً استفاده از آنزیم آمیلاز به دلیل تجزیه پلی ساکاریدها، مونومرهای قندی مورد نیاز و همچنین شرایط رطوبتی لازم برای رشد میکروارگانیسم را فراهم

در جدول ۲ اشاره شده است که با افزایش مدت زمان نگهداری امتیاز پارامترهای حسی برای هر نمونه کاهش یافته است و نمونه کنترل در بررسی خواص حسی کمترین امتیازهای مربوط به



فیتاز بر روی عطر و بوینان با نتیجه تحقیق انجام شده توسط شفیع سلطانی و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت دارد. افزودن آنزیم آلفا آمیلاز و فیتاز، به صورت آزاد و ریزپوشانی شده، منجر به تولید گاز دی اکسیدکربن و تخمیر بیشتر قندهای پلی ساکارید و متابولیت‌های تخمیر می‌شود که در بهبود طعم نمونه‌ها نیز تاثیر داشته است [۳۱].

#### ۴- نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از آنزیم‌های ریزپوشانی شده فیتاز و آلفا آمیلاز نسبت به نمونه کنترل موجب افزایش بیشتر نشاسته در نان تست حاوی سبوس شده است، همچنین نتایج بیان داشت که میزان مواد جامد محلول، فیتیک اسید و فسفر آزاد در نمونه‌های حاوی آنزیم به صورت آزاد و ریزپوشانی شده بیشتر از نمونه کنترل بوده است. میزان فیتیک اسید در نمونه‌های حاوی آنزیم آزاد بیشتر از نمونه‌های حاوی آنزیم ریزپوشانی شده است. میزان حجم مخصوص و تخلخل نان‌های تست حاوی آنزیم آزاد و ریزپوشانی شده بیشتر از نمونه کنترل بوده است و میزان ویسکوزیته نمونه کنترل نسبت به نمونه‌های تیمار شده بیشتر بوده است. نمونه کنترل بیشترین میزان روشنایی (L) و کمترین مقادیر تمایل به قرمزی ( $a^*$ ) و زردی ( $b^*$ ) را داشته است. لگاریتم باکتری‌های مزوفیل کل و کپک و مخمر در نمونه‌های کنترل، کمترین مقدار بوده است و با افزایش مدت زمان نگهداری رشد میکروبی در تمام نمونه‌های نان افزایش داشته است و میزان رطوبت در نمونه کنترل بیشترین میزان بوده است و با افزایش مدت زمان نگهداری میزان رطوبت نمونه‌ها کاهش معنادار داشته است. با افزایش مدت زمان نگهداری از امتیاز خواص حسی کاسته شده است و بیشترین امتیاز خواص حسی مربوط به نمونه‌های نان تست سبوس‌دار حاوی آنزیم ریزپوشانی شده بوده است، توجه به نتایج یافت شده می‌توان بیان داشت که استفاده از آنزیم آمیلاز و فیتاز موجب بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی نان‌های تست حاوی سبوس شده است و فرایند ریزپوشانی کردن علاوه بر حفظ آنزیم در فرایند دمایی منجر به بهبود خواص حسی نیز شده است.

شاهد در روز پنجم آزمون بوده است. همچنین مشخص شد که نمونه حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد در روز اول بیشترین امتیاز طعم و بافت را داشته است و کمترین امتیاز مربوط به نمونه شاهد در روز پنجم بوده است. بیشترین امتیاز رنگمربوط به نمونه‌های حاوی آنزیم و کنترل در روز اول آزمون بوده است و کمترین امتیاز را نمونه کنترل در روز پنجم آزمون داشته است. در بررسی امتیاز پذیرش کل نیز مشخص شد که بیشترین و کمترین امتیاز را به ترتیب نمونه‌های حاوی آنزیم فیتاز و آمیلاز آزاد و نمونه کنترل داشته است.

نتیجه این تحقیق در مورد تاثیر آنزیم آلفا آمیلاز بر روی بهبود، یکی از عوامل موثر در سفتی و بیاتی نان، گلوتن و نسبت آن با نشاسته است که در ایجاد تغییرات الاستیکی در حین ماندگاری نان تاثیر زیادی دارند به این ترتیب که در حین پخت پس از متورم شدن مغز نان، پیوندهای عرضی مابین نشاسته (فاز غیرپیوسته) و گلوتن (فاز پیوسته) تشکیل می‌شود و در طی نگهداری نان به دنبال کاهش انرژی سنتتیک نان، سفتی پیوندها افزایش یافته و قویتر میشوند، به عبارتی دیگر نان سفت تر می‌شود [۲۹]. نتایج نشان داده است که در صورت استفاده از آنزیم آمیلاز و فیتاز به صورت آزاد و ریزپوشانی شده، به علت کاهش قدرت تورم نشاسته یا ممانعت از تشکیل پیوندهای عرضی بین پروتئین و گلوتن تحت تاثیر این آنزیم، سفتی و بیاتی نان کندتر می‌شود و در نتیجه منجر به افزایش امتیاز بافت نمونه‌های نان شده است. دلیل بهبود بافت نان تحت تاثیر آنزیم آلفا آمیلاز و فیتاز، تولید بیشتر گاز در اثر فعالیت بیشتر مخمرها و در نتیجه افزایش تعداد خلل و فرج نان بیشتر میباشد. در پژوهش‌های شفیع سلطانی و همکاران (۱۳۹۲) و پور محمدی و همکاران (۱۳۸۷) اشاره شد که استفاده از آنزیم‌های آمیلاز و آنزیم ترانس گلوتامیناز منجر به افزایش امتیاز خواص حسی برای تعیین میزان بیاتی شده است. پدیده بیات شدن مغز نان ظرف مدت ۲۰ تا ۳۶ ساعت تکمیل می‌شود و با تغییرات طعم، بافت، رنگ و خشک شدن نان همراه است [۲۹ و ۳۰]، که در نتایج این پژوهش نیز بیان شد که نمونه‌های دارای آنزیم علاوه بر اینکه امتیازهای بالایی در بافت داشته اند، در پارامترهای رنگ، عطر و بو و طعم نیز بالاترین امتیاز را داشته اند و نمونه کنترل کمترین امتیاز را داشته است. نتیجه این تحقیق در مورد تاثیر آنزیم آلفا آمیلاز و

## ۵- منابع

- Nosova, M., Dremucheva, G., Nevskaya, E., & Savkina, O. (2021). Effects of  $\alpha$ -amylase, endo-xylanase and exoprotease combination on dough properties and bread quality. *Agronomy Research* 19(S3), 1234–1248.
- [11] Kim, H. J., & Yoo, S. H. (2020). Effects of combined  $\alpha$ -amylase and endo-xylanase treatments on the properties of fresh and frozen doughs and final breads. *Polymers*, 12(6), 1349.
- [12] AACC. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 2000. 10th Ed., Vol. 2. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- [13] Ghanbari, M. Shahedi, V. (2008). Quality on the baking time and temperature The effect of Taftoon bread staleness, speed and. *Journal of Agricultural Technologies and Sciences Resources and Natural Issue No. 43*, 333-327
- [14] Turabi E, GulumSumnuSahin S. (2010). 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.
- [15] KozlovMutungi C, Unbehend G and Lindhauer MG. (2010). Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch, *Food Science Technology* 12(5):1-6.
- [16] Nasehi, B., Tahanejad, M. (2014). Investigation of chemical, sensory and microbial properties of flours produced in Khuzestan province. *Quarterly Journal of Food Science and Technology*. 11: (45). 84-77.
- [17] MobiniDehkordi, M, JafariDehkordi, S, Saffar, B. (2017). Investigation of the characteristics and increase of amylase production in mutant strains of native Iranian bacillosiliconiformis. *Biology of Microorganisms*, 6 (21), 67-81.
- [18] Sadeghi, A., Shahidi, F., Mortazavi, A., NasiriMahallati, M., Beheshti, H. (2008). Optimization of maltodextrin production process using Termamyl alpha-amylase 2-x, <https://civilica.com/doc/1218924>
- [19] Liu, B. L., Rafiq, A., Tzeng, Y. M., & Rob, A. (1998). The induction and characterization of phytase and beyond. *Enzyme and Microbial Technology*, 22(5), 415-424.
- [20] Haghparast, H., Azizi, M., Sarhari, M.
- [1] Hafiz, M., Shaykh al-Islami, Z. (2021). Optimization of bulk bread formula containing Persian and basil gums. *Iranian Journal of Food Science and Technology Research*. 16(4),395-40
- [2] Movahed, S., Jorfa, S., Ahmadi Chenarban, H. (2013). Investigation of rheological and organoleptic properties of dough-containing breads containing banana flour. *Iranian Journal of Food Science and Industry Research*. 9 (4): 359-365.
- [3] Woo, S. H., Shin, Y. J., Jeong, H. M., Kim, J. S., Ko, D. S., Hong, J. S., ... & Shim, J. H. (2020). Effects of maltogenic amylase from *Lactobacillus plantarum* on retrogradation of bread. *Journal of Cereal Science*, 93, 102976.
- [4] Chang, Y., Yang, J., Jiang, L., Ren, L., & Zhou, J. (2019). Chain Length Distribution of  $\beta$ -amylase Treated Potato Starch and Its Effect on Properties of Starch Nanoparticles Obtained by Nanoprecipitation. *Starch - Stärke*, 71(9-10), 1800321.
- [5] Grewal, N., Faubion, J., Feng, G., Kaufman, R. C., Wilson, J. D., & Shi, Y. C. (2015). Structure of waxy maize starch hydrolyzed by maltogenic  $\alpha$ -amylase in relation to its retrogradation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(16), 4196-4201.
- [6] Greiner, R., & Konietzny, U. (2006). Phytase for food application. *Food Technology & Biotechnology*, 44(2).
- [7] Guo, J., Zhang, J., Zhang, Q., Jiang, N., & Wei, J. (2013). Fabrication of cholesteric liquid crystal microcapsulates by interfacial polymerization and potential as photonic materials. *RSC advances*, 3(44), 21620-21627.
- [8] Maciulyte, S., Kochane, T., & Budriene, S. (2015). Microencapsulation of maltogenic  $\alpha$ -amylase in poly (urethane-urea) shell: inverse emulsion method. *Journal of microencapsulation*, 32(6), 547-558.
- [9] Haghghat-Kharazi, S., Milani, J. M., Kasaai, M. R., & Khajeh, K. (2018). Microencapsulation of  $\alpha$ -amylase in beeswax and its application in gluten-free bread as an anti-staling agent. *LWT*, 92, 73-79.
- [10] Kostyuchenko, M., Martirosyan, V.,

- of enzyme preparations for baking, mixing time and resting time on bread quality and bread staling. *Food Chemistry*, 58(1-2), 75-80.
- [27] sheikholeslami Z, Karimi M, GhiafehDavoodi M, Mahfouzi M. (2021). Effect of flour extraction rate and amylase and xylanase on texture and sensory properties of Barbari bread. *FSCT*; 17 (107) :51-65 URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-39681-fa.html>
- [28] Katina, K., Salminen, K., Partanen, R., Forsell, P., and Autio, K. (2006). Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fiber wheat bread. *Lebensm-Wiss. U-Technology*, (LWT), 39, 479-491.
- [29] Shafi Soltani, M., Salehi far, M., Hashemi, M. (2014). The effect of using alpha-amylase enzyme with fungal origin on the quality characteristics of dough and toast. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*. 6 (2): 43-54.
- [30] Pourmohammadi, K., Aalami, M., AmiriAghdaei, S. (2009), Microbial transglutaminase enzyme (MTG) and its application in food industry, Regional Conference on Food and Biotechnology, Kermanshah, <https://civilica.com/doc/>
- [31] Wang, Y., & Caruso, F. (2005). Mesoporous silica spheres as supports for enzyme immobilization and encapsulation. *Chemistry of Materials*, 17(5), 953-961.
- (2006). Effect of Agents and Fermentation Time on Phytic Acid Prevention of Bulk Bread, *Iranian Journal of Food Science and Foodstuffs*, Volume 4, Number 1, Pages 27-34
- [21] Almeida, F. N., & Stein, H. H. (2012). Effects of graded levels of microbial phytase on the standardized total tract digestibility of phosphorus in corn and corn coproducts fed to pigs. *Journal of animal science*, 90(4), 1262-1269.
- [22] Goesaert, H., Leman, P., Bijttebier, A., & Delcour, J. A. (2009). Antifirming effects of starch degrading enzymes in bread crumb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2346-2355.
- [23] Caballero, P. A., Gómez, M., & Rosell, C. M. (2007). Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. *Journal of food engineering*, 81(1), 42-53.
- [24] Ribotta, P. D., León, A. E., & Añón, M. C. (2001). Effect of freezing and frozen storage of doughs on bread quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 913-918.
- [25] Chen, Y., Eder, S., Schubert, S., Gorgerat, S., Boschet, E., Baltensperger, L., ... & Windhab, E. J. (2021). Influence of Amylase Addition on Bread Quality and Bread Staling. *ACS Food Science & Technology*, 1(6), 1143-1150.
- [26] Sahlström, S., & Bråthen, E. (1997). Effects



## Effect of phytase and alpha-amylase microencapsulation on chemical, physical, microbial and sensory properties of whole-grain toast

Hosseinchigarehaghaj, Z. <sup>1</sup>, Azizi, M. H. <sup>2\*</sup>, Asadi, Gh. <sup>3</sup>, Azizinezhad, R. <sup>4</sup>

1. Ph.D student Food Science and Technology Food Microbiology, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Professor, Department of Food science and Technology, College of Agriculture, TarbiatModaresUniversity, Tehran, Iran.
3. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Assistant professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Article History:

Received 2021/ 11/ 14

Accepted 2022/ 04/ 10

#### Keywords:

Toast containing whole-grain,  
Amylase enzyme,  
Phytase enzyme,  
Encapsulation process.

**DOI:** 10.52547/fsct.19.124.79

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.124.15.2

\*Corresponding Author E-Mail:  
azizit\_m@modares.ac.ir

Due to the importance of bread in the diet of the world's people, it is vital to pay attention to increasing the nutritional properties of this product. In order to reduce the content of phytic acid and increase the shelf life, in this study, an attempt was made to investigate the effect of microencapsulation of amylase and phytase enzymes in bread. Chemical, physical, microbial, and sensory properties of whole-grain toast containing microencapsulated enzymes and free enzymes toasts were compared with the control sample (whole-grain toast and no enzyme). The results showed that samples containing free and encapsulated enzymes had less Phytic acid than the control sample ( $p \leq 0.05$ ). The specific volume and porosity of the samples containing free and microencapsulated enzymes were higher, and their viscosity was lower than the control sample ( $p \leq 0.05$ ). Samples containing enzymes had the lowest brightness, redness, and yellowness parameters than the control ( $p \leq 0.05$ ). Control samples had lower numbers of mesophilic bacteria, mold, and yeast, and the samples containing the microencapsulated enzyme showed the highest sensory score by the fifth day of the test ( $p \leq 0.05$ ). The results showed that encapsulated enzyme had a higher amount of phytic acid than the sample containing free enzyme. However, in other results, there was no difference between the microencapsulated and free samples, and the use of microencapsulated enzymes during storage led to increasing the score of sensory properties, and it can be used to increase the quality of toast containing bran.