



## مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: [www.fsct.modares.ac.ir](http://www.fsct.modares.ac.ir)

مقاله علمی-پژوهشی

بهبود کیفیت نان حجیم با بکارگیری آمیلاز مقاوم به حرارت تولید شده از *Bacillus safensis* strain MT501806.1

سوده یوسفی فخر<sup>۱</sup>، داریوش مینایی طهرانی<sup>۲</sup>، نفیسه دعوتی<sup>۳\*</sup>، آریو امامی فر<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی سلولی - مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه زیست شناسی سلولی - مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

<sup>۳\*</sup> استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی بهار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

<sup>۴</sup> دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی بهار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

آمیلاز با تجزیه نشاسته آرد و تولید دکسترین با قابلیت متابولیسم سریع تر توسط مخمر نانوائی باعث بهبود بافت و خواص حسی نان حجیم می شود. این مطالعه به بررسی اثر آمیلاز مقاوم به حرارت استخراج شده از *Bacillus safensis* در سه سطح (U/ml) ۰، ۱/۹، ۲/۹ و مدت زمان تخمیر در سه سطح ۳۵، ۴۰ و ۴۵ دقیقه بر کیفیت نان حجیم که در فر با دمای ۲۱۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۲۰ دقیقه پخته شده بود می پردازد. نتایج مطالعه ما نشان داد که افزودن سوپ فیلتر شده حاوی آمیلاز مقاوم به حرارت در سطح (U/ml) ۱/۹ و تخمیر به مدت ۴۰ دقیقه نسبت به سایر نمونه ها از نظر پارامترهایی از قبیل میزان حجم، نرمی، قابلیت ارتجاع و پذیرش کلی دارای مقبولیت بیشتری بود اما با افزودن مقادیر بیشتر آنزیم آمیلاز در سطح (U/ml) ۲/۹ از نظر خواص بافتی و حسی نتایج خوبی حاصل نشد.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۴/۲۰

کلمات کلیدی:

آمیلاز،

نان حجیم،

بافت،

خواص حسی.

DOI: 10.22034/FSCT.20.138.41

DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.138.4.6

\* مسئول مکاتبات:

n.davati@basu.ac.ir

## ۱- مقدمه

نان در اشکال مختلف یکی از اصلی‌ترین مواد غذایی مصرفی انسان است و دستیابی به کیفیت مطلوب آن تابع متغیرهای به هم پیوسته‌ای است که باید در یک چرخه و به صورت یک سیستم، طراحی و مدل‌سازی شوند. از چندین هزار سال پیش بشر از گندم و سایر غلات برای تولید نان استفاده نموده است. پخت نان‌های حجیم ابتدا توسط مصریان باستان انجام گرفته که یکی از قدیمی‌ترین فرایندهای بیوتکنولوژی محسوب شده است. کاربرد آنزیم‌ها در تهیه نان نیز به همان زمان‌ها بر می‌گردد. اولین نانو‌ها ناخودآگاه از آنزیم‌های موجود در غلات یا تولید شده توسط مخمرها و سایر میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌کردند. با افزایش دانش بشر، تغییراتی در حین مختلط کردن، تخمیر و پخت آنزیم‌ها صورت گرفت که منجر به معرفی آنزیم‌های جدید گردید. آنزیم‌ها یکی از افزودنی‌هایی هستند که در دسته‌بندی غذایی زیر گروه بهبود دهنده‌ها قرار می‌گیرند. استفاده از این مواد علاوه بر ارتقاء کیفیت محصول باعث صرفه اقتصادی نیز می‌شود. بهبود دهنده‌ها ترکیباتی هستند که با ایجاد انعطاف‌پذیری و افزایش قدرت تحمل خمیر در کلیه مراحل تولید نان اعم از میکس کردن، تخمیر و پخت سبب بهبود کیفی محصول نهایی می‌شوند و به نانو‌ها کمک می‌کند تا محصولی با حجم و شکل ظاهری بهتر و با قابلیت حفظ تازگی بیشتر در طول مدت زمان مصرف تولید نماید. از این‌رو در طی سال‌های اخیر اثر افزودنی‌ها در فرمولاسیون نان در بهبود خواص پخت، ویژگی‌های ارگانولپتیکی، ارزش تغذیه‌ای و افزایش مدت ماندگاری به شدت مورد توجه قرار گرفته است [۱، ۲]. از طرف دیگر گندم ایران در اغلب مناطق به دلیل نوع خاک و شرایط آب و هوایی، دارای کیفیت مناسبی جهت تولید آرد مناسب برای نان نمی‌باشد و به دلیل آنکه کنترل شرایط جوی و سایر عوامل موثر در کیفیت گندم مشکل و در اغلب مواقع

خارج از کنترل می‌باشد در بسیاری از موارد، کیفیت آرد به دست آمده چندان مقبول نبوده و به ویژه در تولید نان نواقصی مشاهده می‌گردد. از جمله مشکلات گندم ایران جهت تولید نان، نامناسب بودن فعالیت آنزیمی آمیلولیتیک آرد گندم می‌باشد که مشکلاتی از جمله ماندگاری کوتاه مدت نان، تولید حجم بالای ضایعات و ایجاد هزینه‌های اقتصادی فراوان می‌باشد [۳]. افزودن آنزیم‌های خانواده آمیلازی به آرد یا خمیر نان به عنوان یک راهکار مناسب مطرح است. از طرفی دیگر نان‌هایی که از آرد سبوس‌دار تهیه می‌شوند، با خمیر مایه و بدون استفاده از جوش شیرین به عمل می‌آید و با حرارتی ملایم، یکنواخت و شعله غیرمستقیم پخته می‌شود، سالم‌ترین نان‌ها محسوب می‌شوند. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی مصرف جوش شیرین در واحدهای نانویی را به علت پیدایش عوارض دستگاه گوارشی، اختلال در جذب املاحی مانند آهن، ممنوع کرده است. اما متأسفانه با رشد جمعیت و افزایش تقاضای مصرف نان در جامعه، نیاز به تولید صنعتی نان افزایش پیدا کرد که به دنبال آن شاهد استفاده از عمل-آورنده‌های شیمیایی نظیر جوش شیرین به جای مخمر نانویی و بهبوددهنده‌های طبیعی نظیر آنزیم‌ها هستیم. از آنجایی که در یک کارخانه نان صنعتی برای تولید نان حجیم تخمیر باید به مدت طولانی طی شود، افزودن آنزیم آمیلاز مقاوم به حرارت که قادر به ادامه تخمیر در طی پخت می‌باشد می‌تواند نانی با کیفیت بهتر حاصل کند [۱، ۴، ۵]. بطورکلی پخت نان در کیفیت نان بسیار موثر است بطوریکه خمیر را تحت تأثیر گرما به یک محصول سبک، متخلخل، قابل هضم و طعم‌دار تبدیل می‌کند، بنابراین آشکارترین تغییرات در حین پخت می‌تواند شامل انبساط حجم، تشکیل پوسته، فعال شدن مخمر و فعالیت‌های آنزیمی، اتصال متقابل پروتئین و ژلاتینه شدن نشاسته باشد. اگرچه مدتی است که از آنزیم‌هایی نظیر آمیلاز در تهیه نان استفاده می‌شود اما بایستی توجه داشت هرچه آلفا-آمیلاز مقاومت

گرمی تقسیم شد و در سطح زمانی ۳۵، ۴۰ و ۴۵ دقیقه در ۳۵ درجه سانتی‌گراد در کابینت تخمیر نگهداری شد. در نهایت پخت نان حجیم در فر با دمای ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد [۷].

## ۲-۳- بررسی خواص بافتی نان

خصوصیات نان شامل حجم ویژه و نسبت ارتفاع به عرض با کولیس (خط کش شاخص‌دار) بعد از یک ساعت از تمام شدن زمان پخت اندازه‌گیری شد و بافت نان با دستگاه آنالایزر بافت بررسی شد [۸]. از آزمون TPA جهت تعیین بافت نان استفاده شد، این آزمون به نوعی شبیه‌ساز جویدن به حساب می‌آید. به این ترتیب که پروب دستگاه پایین آمده و بافت را تا حدی فشرده می‌کند. سپس پروب بالا رفته و این کار را مجدداً تکرار می‌کند، در نهایت نمودار حاصل از نیروی ثبت شده در هر دو مرتبه پایین رفتن ثبت می‌شود. برای انجام آنالیز بافت در ابتدا نمونه‌ها را با استفاده از چاقو برش داده، سپس نمونه‌ها زیر پروب دستگاه قرار می‌گیرند. ابعاد پروب باید برای همه نمونه‌ها یکسان و مشخص باشد تا مقایسه نتایج در شرایط برابر انجام شود. همچنین تعداد دفعات رفت و برگشت پروب برای تست عدد ۲ انتخاب شد و سرعت حرکت پروب در محدوده ۱ میلی‌متر بر ثانیه تعیین شد. در هر آزمون از دو برش وسط نان استفاده شد تا اثر کناره‌های نان حذف شود. شاخص‌هایی که در این آزمون محاسبه شدند عبارتند از سفتی (Hardness)، قوام و ارتجاع (Cohesiveness)، قدرت نمونه در بازسازی ساختار خود (Springiness)، قدرت جوندگی نمونه نیمه جامد (Gumminess)، قدرت جوندگی نمونه جامد (Chewiness)، مدول ظاهری (Apparent modulus).

## ۲-۴- بررسی خواص حسی نان

بیشتری نسبت به حرارت داشته باشد، در حین پخت، مقدار بیشتری از نشاسته را خواهد شکست. نتایج نشان داده است که آمیلاز مستخرج از منابع باکتریایی از مقاومت حرارتی خوبی برخوردار است و در صورت استفاده از آن در نان، آنزیم پس از پخت می‌تواند به صورت فعال باقی مانده و باعث می‌شود که مغز نان در حین نگهداری به مقدار مطلوبی نرم و لطیف باقی بماند [۱، ۳، ۶]. جهت بهبود کیفیت نام حجیم در این مطالعه به بررسی اثر افزودن غلظت‌های مختلف آمیلاز مقاوم به حرارت تولید شده توسط *Bacillus safensis* و زمان تخمیر بر کیفیت نان حجیم حاصل پرداختیم.

## ۲-مواد و روش‌ها

### ۲-۱- تهیه آنزیم آمیلاز مقاوم به حرارت

از مطالعه قبلی آمیلاز مقاوم به حرارت توسط جدایه باکتریایی *Bacillus safensis* مقاوم به حرارت از پساب خط فراوری سس مایونز کم‌چرب از یک کارخانه کنسروسازی جدا گردید.

### ۲-۲- تهیه نان حاوی آمیلاز

مواد تشکیل دهنده خمیر نان حجیم شامل آرد سفید گندم (زر ماکارون، ایران) ۱۰۰ گرم، نمک ۲ گرم، مخمر نانویی خشک فعال ۲ گرم، آب ۶۵ گرم، سوسپانسیون حاوی آمیلاز به صورت فیلتر شده از طریق فیلترهای سرسرنگی ۰٫۴۵ میکرومتری و بدون فیلتر در سه سطح فعالیت ۰، ۱/۹ و ۲/۹ واحد در هر کیلوگرم آرد بود. فعالیت‌های آنزیمی براساس مطالعه قبلی براساس روش جذب سنجی و معرف DNS به دست آمد. همه اجزاء در یک ظرف به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط شده سپس خمیر حاصل به مدت ۴۵ دقیقه در ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد سپس خمیر به چونه‌های ۷۰

## ۳-نتایج

## ۳-۱- اندازه‌گیری حجم ویژه نان

در این مطالعه حجم ویژه نان بعد از پخت با کولیس (جدول ۱) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد نان‌هایی که از سوسپانسیون میکروبی فیلتر شده حاصل از رشد باسیلوس سفینسیس حاوی آمیلاز در سه سطح فعالیت (U/ml) ۰، ۱/۹ و ۲/۹ و زمان تخمیر در سه سطح ۳۵، ۴۰ و ۴۵ دقیقه، تهیه شد نسبت به نان‌های حجیمی که بدون آنزیم آمیلاز در زمان‌های تخمیر ۳۵، ۴۰ و ۴۵ دقیقه تهیه شده بودند کیفیت بهتری داشتند و افزودن آنزیم آمیلاز بر بهبود حجم که یکی از مهم‌ترین و شاخص‌ترین عوامل در تعیین کیفیت نان‌های حجیم است تاثیر داشته است. بهترین حجم از نمونه ۲,۹ (U/ml) آنزیم فیلتر شده بعد ۴۵ دقیقه تخمیر به دست آمد.

پس از آموزش‌های مقدماتی در مورد نحوه ارزیابی حسی، تعداد ۱۲ ارزیاب انتخاب شد. سپس با استفاده از تست هدونیک ۵ نقطه‌ای خواص حسی شامل بو، طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی نان‌های تولید شده بررسی گردید و تنها پذیرش کلی از بسیار نامطلوب (۱) تا بسیار مطلوب (۵) گزارش گردید.

## ۲-۵- آنالیز آماری

اثر افزودن آنزیم آمیلاز فیلتر شده و فیلتر نشده در سه سطح فعالیت ۰، ۱/۹ و ۲/۹ واحد در میلی‌لیتر و زمان تخمیر در سه سطح ۳۵، ۴۰ و ۴۵ دقیقه بر ویژگی‌های حسی و بافت نان بر اساس روش آماری فاکتوریل و طرح آماری کاملاً تصادفی و در سه تکرار بررسی شد. تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها با نرم افزار SPSS انجام گردید. در صورت معنی‌داری، مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ بررسی شد.

Table 1. Parameters of Specific Volume of Bulk Bread in different formulations affected by Amylase Activity

| وزن  | ارتفاع | عرض | طول  | پارامترها        |
|------|--------|-----|------|------------------|
| g    | mm     |     |      | Unit             |
| 58.2 | 4.8    | 4.5 | 12.9 | 2.9Filter-45Min  |
| 58.0 | 4.8    | 4.5 | 12.7 | 2.9Filter-40Min  |
| 57.9 | 4.5    | 4.5 | 12.7 | 2.9Filter-35Min  |
| 55.9 | 4.4    | 4.1 | 12.5 | 2.9-45Min        |
| 55.7 | 4.2    | 4.0 | 12.2 | 2.9-40Min        |
| 55.6 | 4.2    | 3.9 | 12.2 | 2.9-35Min        |
| 57.4 | 3.6    | 3.8 | 11.8 | 1.9Filter-45Min  |
| 57.3 | 3.5    | 3.8 | 11.6 | 1.9Filter-40Min  |
| 57.0 | 3.5    | 3.5 | 11.6 | 1.9Filter-35 Min |
| 56.9 | 3.4    | 3.5 | 11.3 | 1.9-45 Min       |
| 56.5 | 3.4    | 2.8 | 11.3 | 1.9-40 Min       |
| 56.3 | 3.2    | 2.8 | 11.3 | 1.9-35 Min       |
| 55.7 | 3.0    | 2.5 | 10.8 | 0-45 Min         |
| 55.7 | 3.0    | 2.5 | 10.8 | 0-40 Min         |
| 55.5 | 3.0    | 2.3 | 10.5 | 0-35 Min         |

## ۳-۲-ارزیابی بافت نان با آزمون TPA

نتایج نشان داد نان‌هایی که با آمیلاز در سه سطح فعالیت (U/ml)، ۰، ۱/۹ و ۲/۹ و زمان تخمیر ۳۵، ۴۰ و ۴۵ دقیقه تهیه شده بودند نسبت به نان‌های حجیمی که بدون آنزیم - آمیلاز در زمان‌های تخمیر ۳۵، ۴۰ و ۴۵ دقیقه تهیه شده بودند تفاوت‌هایی داشتند که شامل موارد زیر می‌باشد:

## ۳-۲-۱-سختی نان

با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر زمان تخمیر و سطوح مختلف فعالیت آنزیم آمیلاز بر سختی نان حجیم در سطح اطمینان ۹۹٪ اختلاف معنی‌داری را نشان داد. با افزایش

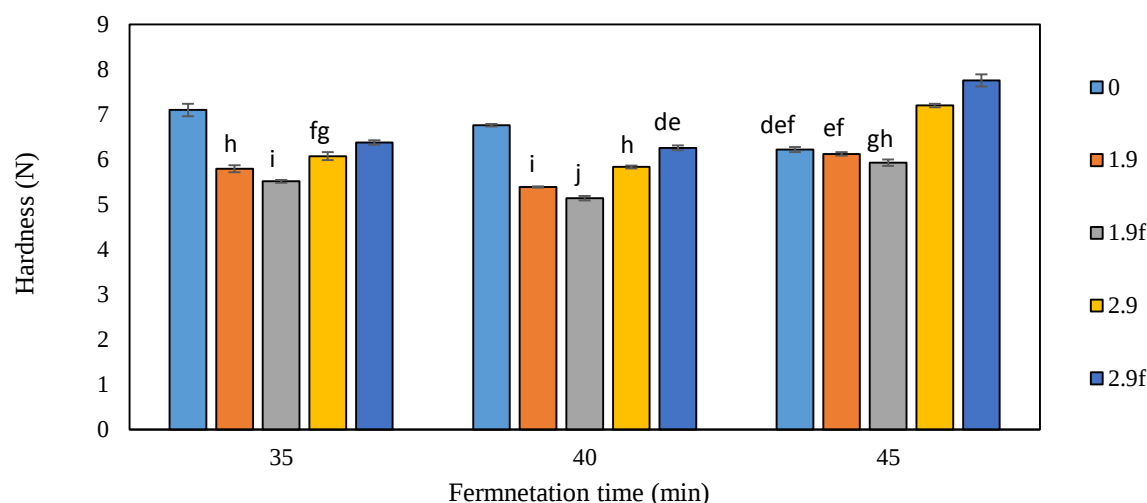


Fig 1. The effect of fermentation time and enzyme activity level on the hardness of bulk breads containing filtered (f) and unfiltered amylase soup at three levels of enzyme activity 0, 1.9 and 2.9 (Unit/ml) and three fermentation times of 35, 40 and 45 min. The non-identical letters indicate a significant difference between samples.

## ۳-۲-۲-قوام و ارتجاع نان

با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر زمان تخمیر و سطوح مختلف فعالیت آنزیم آمیلاز بر خاصیت قوام و ارتجاع نان حجیم اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. با افزایش زمان تخمیر تا ۴۰ دقیقه قوام و ارتجاع نان در نمونه‌های حاوی آنزیم (U/ml) ۱/۹ و ۲/۹ مقدار کمی افزایش یافت اما بعد

از طی این مدت تا ۴۵ دقیقه میزان قوام و ارتجاع تغییر محسوسی نشان نداد. که در این میان بیشترین قوام و ارتجاع مربوط به نمونه حاوی سوپ فیلتر شده آنزیمی (U/ml) ۱/۹ با ۴۰ دقیقه تخمیر و کمترین قوام و ارتجاع به نمونه حاوی سوپ فیلتر شده آنزیمی (U/ml) ۲/۹ با ۴۵ دقیقه تخمیر تعلق داشت (شکل ۲).

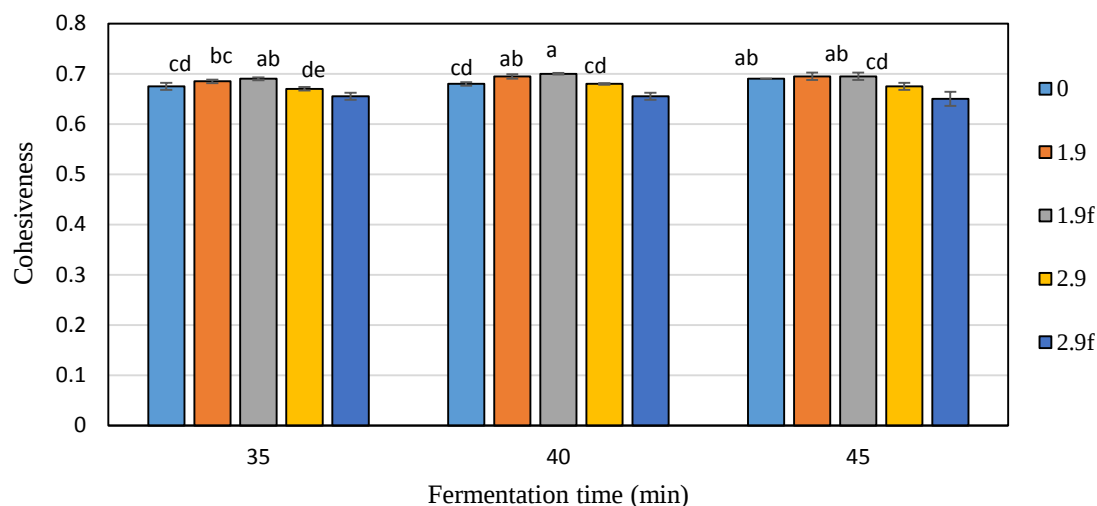


Fig 2. The effect of fermentation time and enzyme activity level on the cohesiveness of bulk breads containing filtered (f) and unfiltered amylase soup at three levels of enzyme activity 0, 1.9 and 2.9 (Unit/ml) and three fermentation times of 35, 40 and 45 min. The non-identical letters indicate a significant difference between samples.

آنزیم ۱/۹ (U/ml) افزایش و در نمونه حاوی آنزیم (U/ml)

۲/۹ کاهش یافت. که در این میان بیشترین ویژگی فنریت

مربوط به نمونه حاوی سوپ فیلتر شده آنزیمی ۱/۹ (U/ml)

با ۴۵ دقیقه تخمیر و کمترین ویژگی فنریت به نمونه حاوی

سوپ فیلتر شده آنزیمی ۲/۹ (U/ml) با ۴۵ دقیقه تخمیر

تعلق داشت.

### ۳-۲-۳- قدرت نمونه در بازسازی ساختار پس از

#### برداشتن نیرو

با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر زمان تخمیر و سطوح مختلف فعالیت آنزیم آمیلاز بر ویژگی فنریت نان حجیم در سطح اطمینان ۹۹٪ اختلاف معنی داری را نشان داد. با افزایش زمان تخمیر تا ۴۰ دقیقه ویژگی فنریت نان در تمام تیمارها افزایش یافت اما بعد از طی این مدت تا ۴۵ دقیقه میزان ویژگی فنریت در نمونه‌های شاهد و نمونه حاوی

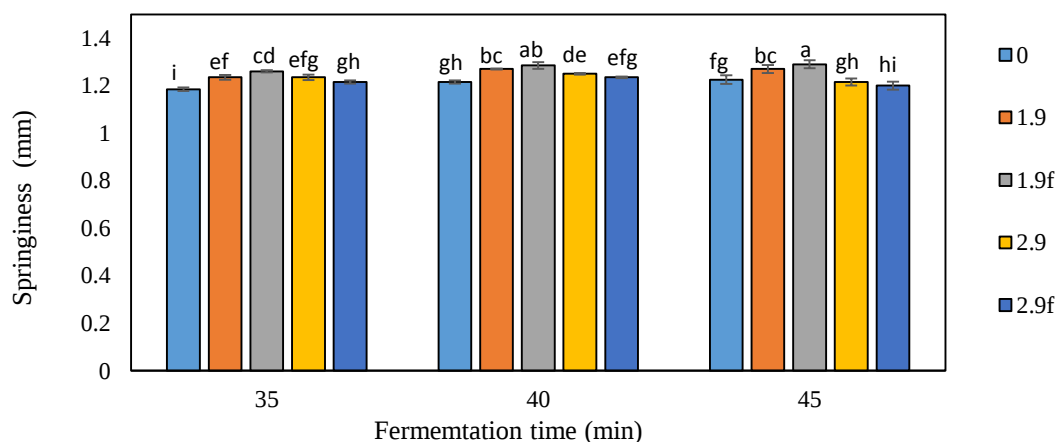


Fig 3. The effect of fermentation time and enzyme activity level on the springiness of bulk breads containing filtered (f) and unfiltered amylase soup at three levels of enzyme activity 0, 1.9 and 2.9 (Unit/ml) and three fermentation times of 35, 40 and 45 min. The non-identical letters indicate a significant difference between samples.

حاوی آنزیمی افزایش و در نمونه‌های شاهد کاهش یافت.

که در این میان بیشترین ویژگی قابلیت جویدن مربوط به نمونه حاوی سوپ فیلتر شده آنزیمی (U/ml) ۲/۹ بعد از گذشت ۴۵ دقیقه و کمترین ویژگی قابلیت جویدن به نمونه سوپ فیلتر شده آنزیمی (U/ml) ۱/۹ بعد از گذشت ۴۰ دقیقه تعلق داشت.

#### ۳-۲-۴-چونندگی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر زمان تخمیر و سطوح مختلف فعالیت آنزیم آمیلاز بر ویژگی قابلیت جویدن نان حجیم در سطح اطمینان ۹۹٪ اختلاف معنی‌داری را نشان داد. با افزایش زمان تخمیر تا ۴۰ دقیقه ویژگی قابلیت جویدن نان در تمام تیمارها کاهش یافت اما بعد از طی این مدت تا ۴۵ دقیقه میزان ویژگی قابلیت جویدن در نمونه‌های

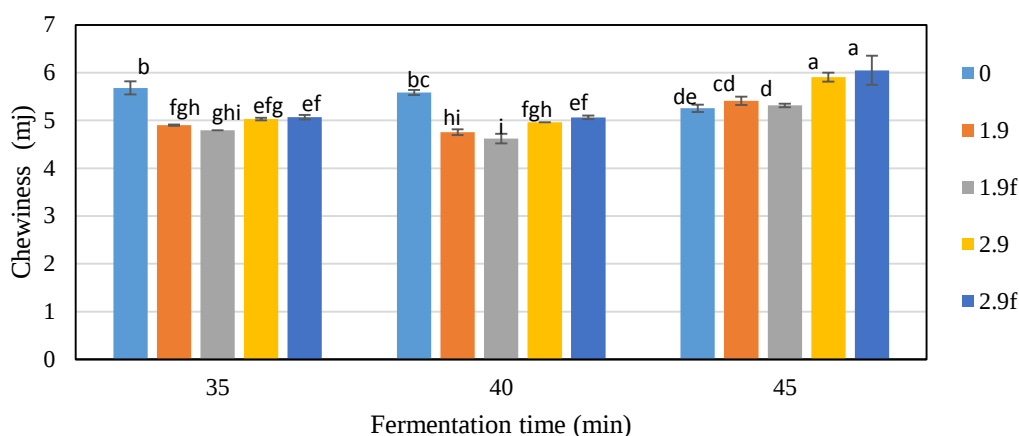


Fig 4. The effect of fermentation time and enzyme activity level on the chewiness of bulk breads containing filtered (f) and unfiltered amylase soup at three levels of enzyme activity 0, 1.9 and 2.9 (Unit/ml) and three fermentation times of 35, 40 and 45 min. The non-identical letters indicate a significant difference between samples.

این امتیاز کاهش می‌یابد بطوریکه نمونه‌های حاوی آمیلاز

۱/۹ U/ml بیشترین امتیاز را بین ارزیابان کسب کردند. بطورکلی، از لحاظ پذیرش کلی تفاوت معنی‌داری بین نمونه تهیه شده از خمیر شاهد با تیمارهای حاوی آنزیم آمیلاز مشاهده شد.

#### ۳-۳- بررسی خواص حسی نان

آزمون حسی توصیفی با استفاده از مقیاس خطی صفر تا ۵ انجام گرفت، عدد صفر برای حداقل و عدد ۵ برای حداکثر شدت یک صفت در نظر گرفته شد. در اینجا فقط نتایج مقایسه پذیرش کلی نمونه‌ها به صورت نمودار در شکل ۵ نمایش داده می‌شود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که با افزودن آنزیم آمیلاز به فرمولاسیون نان حجیم میزان امتیاز پذیرش کلی نان افزایش یافته اما در دوز بیشتر ۲/۹ U/ml

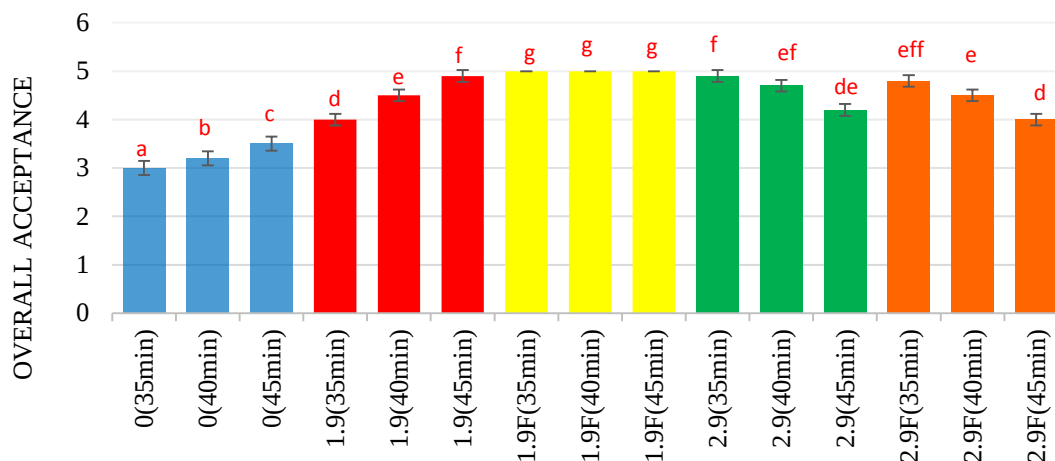


Fig 5. The effect of fermentation time and enzyme activity level on overall acceptance of bulk breads containing filtered (f) and unfiltered amylase soup at three levels of enzyme activity 0, 1.9 and 2.9 (Unit/ml) and three fermentation times of 35, 40 and 45 min. The non-identical letters indicate a significant difference between samples.

#### ۴- بحث

را بر خصوصیات رئولوژیکی خمیر و حجم مخصوص نان حجیم کردند و نتیجه گرفتند که افزودن آمیلاز سبب افزایش حجم مخصوص نان شد ولی بر روی ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر تاثیر مطلوبی نداشت [۹] اما فیضی پور و همکاران در سال ۱۳۸۳ نان‌های تولید شده بعد از افزودن آنزیم آمیلاز را نسبت به نمونه شاهد بررسی کردند و دریافتند که حجم نمونه افزایش یافته است که با نتایج پژوهش ما مطابقت دارد [۱۰]. دلیل افزایش حجم نمونه‌ها، بعد از افزودن آنزیم آلفا-آمیلاز، تولید گاز دی‌اکسیدکربن بیشتر می‌باشد. در مطالعه ما تاثیر مثبت آنزیم آمیلاز روی بافت نان نشان داده شد، دلیل بهبود بافت نان‌های حجیم تحت تاثیر آنزیم آلفا-آمیلاز، شکسته شدن بیشتر نشاسته و افزایش منوساکاریدهای قابل تخمیر بیشتر توسط مخمرها و در نتیجه افزایش تعداد خلل و فرج نان می‌باشد. نان‌های که میزان تخلخل آن‌ها بالاست حجم نیز افزایش می‌یابد و نان دارای بافت نرم‌تر و مطلوب‌تر می‌شود. مهدویان و همکاران ۱۳۹۰، در ارزیابی نتایج میزان تخلخل بافت نان بیان نمودند که افزایش میزان تخلخل را می‌توان با افزودن

از آنجا که اکثر فرایندهای صنعتی معمولاً در دماهای بالا انجام پذیرند، استفاده از آمیلازهای گرمادوست با منشا میکروبی به دلیل توانایی حفظ فعالیت و ساختار خود در دماهای بالا، می‌تواند جهت پیش‌برد هرچه بیشتر این فرایندها کمک‌کننده باشد. امروزه مفیدترین کاربرد آمیلازها در صنایع مختلف از جمله نساجی، مواد شوینده، فرایندهای غذایی و فراوری غلات بخصوص نان اثبات شده است. در سیستم‌های نانوائی، آنزیم‌ها به عنوان نرم‌کننده، تقویت و افزایش مقاومت خمیر به فرایند تخمیر و عامل ضد بیاتی کاربرد دارند. این امر نانوها را قادر می‌سازد تا بهبوددهنده-های شیمیایی نامطلوب را حذف کرده و با جایگزینی آنزیم-ها محصولات با برچسب عاری از مواد شیمیایی تولید کنند. آلفا-آمیلازها به طور طبیعی در گندم وجود دارند، اما سطح طبیعی آن‌ها معمولاً برای تهیه نان بهینه بسیار کم و متغیر است. به همین دلیل در این پژوهش از افزودن آنزیم آمیلاز جهت تولید نان حجیم با کیفیت مطلوب استفاده شده است. در سال ۱۳۸۷، غیور اصلی و همکاران، تاثیر آنزیم آمیلاز

آنزیم آمیلاز و تاثیر آن در ایجاد یکنواخت تر اندازه حفرات گازی و از طرفی افزایش تعداد این سلولها در واحد سطح با میانگین اندازه سلولی کوچکتر نسبت داد [۱۱]. نتایج حاصل از مقایسه میانگین نمونهها به روش دانکن نشان داد که افزودن آنزیم آمیلاز به خمیر باعث افزایش قوام، ارتجاع و حجم نان حجیم و کاهش سفتی نان می شود ولی در قدرت بازسازی نمونهها تاثیر چندانی نداشت. البته با افزایش دوز آنزیم آمیلاز، سفتی بیشتر شده است. نمونههای حاوی سوپ فیلتر نشده آمیلاز حاوی باکتری مولد این آنزیم یعنی باسیلوس سافینسیس می باشد که می تواند با فعالیت های آمیلولیتیکی و پروتولیتیکی خود طی تخمیر و اوایل پخت ساختار نشاسته ای و پروتئینی نان را تجزیه کرده و باعث نرمی و کاهش سفتی نان در مقایسه با نمونه های حاوی سوپ فیلتر شده آنزیم شوند. مطالعات متعددی فعالیت های آمیلولیتیکی و پروتولیتیکی جنس باسیلوس را گزارش کرده اند [۱۲، ۱۳]. مقایسه بین نمونه های حاوی آمیلاز با شاهد نشان می دهد که نمونه کنترل با مدت زمان تخمیر ۴۰ دقیقه دارای سختی بیشتر از تیمارها و با افزایش زمان تخمیر تا ۴۵ دقیقه این سختی در تیمارها بیشتر می شود. این بدیهی است که در مراحل اولیه تخمیر به دلیل شکستن نشاسته توسط آمیلاز در تیمارها انتظار کاهش سفتی نان به دلیل از دست رفتن بیشتر انسجام نسبت به کنترل را داریم اما افزایش این سفتی با افزایش زمان تخمیر را می توان به رتروگراسیون مولکول های آمیلوز نسبت داد که این اتفاق بعد پخت نیز می تواند ادامه داشته باشد. چن و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که نان های حاوی آمیلاز، به مقدار جزئی دارای کمی سفتی در مقایسه با نان کنترل هستند. زیرا پس از پخت، مولکول های آمیلوز در نان تازه شروع به نوآرایی مجدد و رتروگراسیون در طول زمان خنک کردن نان می کنند. اعتقاد بر این است که کریستالیزاسیون سریع آمیلوز مسئول سختی ساختار اولیه نان است. این نتیجه به شدت با ویسکوزیته نهایی نان مرتبط

است. آن ها نشان دادند سفتی نان حاوی آمیلاز از روز ۱ تا روز ۴ نگهداری با سرعت بیشتر و از روز ۴ تا روز ۱۴ با سرعت کمتری افزایش می یابد و بیان کردند افزایش میزان سفتی در مراحل اولیه نگهداری نان حاوی آمیلاز احتمالا می تواند به دلیل سینتیک رتروگراسیون آمیلوپکتین نیز باشد [۱۴، ۱۵]. بطور کلی، نمونه هایی که دارای سفتی کمتری هستند نان از حجم بالاتری برخوردار است بدین معنی که افزایش حجم باعث تولید نان نرم تری شده است. در نان های که سفتی کمتر است آب موجود در سیستم انتشار رطوبت محصول نهایی در حین فرایند پخت و نگهداری شده و در نتیجه بیاتی به تعویق می افتد. در نتایج این پژوهش مشخص شد در نان های حجیمی که آنزیم آمیلاز استفاده شده است حجم بیشتری دارند و سفتی نان کمتر است اما همانطور که قبلا هم اشاره گردید با افزودن مقادیر بیشتر آنزیم آمیلاز سفتی نان بیشتر می شود و قابلیت جوندگی کمتر می شود. نتایج نشان داد با کاهش سفتی نان، امتیاز حسی به دست آمده برای بافت بیشتر بود بدین معنی که با کاهش سفتی، نان مطلوب تر و نرم تری بدست آمد و نزد مصرف کنندگان امتیاز بالاتری داشت. در بررسی مقایسه روش های ارزیابی حسی و اندازه گیری دستگاهی بافت نان نشان داد که روش دستگاهی اندازه گیری بافت به خوبی می تواند صفات حسی بافت مغز نان مانند نرمی، خاصیت ارتجاعی، جوندگی و سفتی را پیش بینی کند. در نتیجه ارزیابی بافت نان به روش دستگاهی می تواند جایگزین بخشی از روش ارزیابی حسی به منظور ارزیابی کیفیت بافت محصول گردد [۱۶]. از آنجاییکه افزایش سختی می تواند منجر به کاهش ارتجاعیت شود بنابراین با توجه به نتایج بخش سختی و دلایلی که برای تغییرات سختی تحت تاثیر مقادیر آنزیمی تشریح شد این نتایج حاصل از بررسی ارتجاعیت قابل انتظار بود. اگر تغییرات بافت را در ۴۵ دقیقه زمان تخمیر بررسی کنیم که فرصت کافی برای انجام

واکنش‌های آنزیمی مهیا بوده است مقایسه تغییرات انجام شده در نمونه‌ها بهتر است. از طرف دیگر افزایش سختی می‌تواند منجر به کاهش قدرت نمونه در بازسازی ساختار پس از برداشتن نیرو شود بنابراین با توجه به نتایج بخش سختی و دلایلی که برای تغییرات سختی تحت تاثیر مقادیر آنزیمی تشریح شد این نتایج حاصل از بررسی بازسازی ساختار قابل انتظار بود. زیرا فعالیت پروتئولیتیکی و آمیلولیتیکی میکروبی علاوه بر فعالیت آمیلازی در نمونه‌های حاوی سوپ فیلتر نشده آنزیمی بیشتر منجر به تجزیه ساختار و از بین رفتن انسجام بافت نمونه در مقایسه با نمونه فیلتر شده می‌شود و در نتیجه قدرت بازسازی ساختار نمونه پس از رفع نیرو کاهش می‌یابد اما در نمونه‌های با فعالیت آمیلازی بالاتر، به دلیل وقوع پدیده رتورگراداسیون نشاسته بیشتر نسبت به نمونه با سطوح آمیلازی کمتر، که قبلاً به آن اشاره شده بود، شاهد سفتی بیشتر و در نتیجه کاهش قدرت بازسازی ساختار نمونه پس از رفع نیرو هستیم. Chewiness به انرژی مورد نیاز برای جویدن یک غذای جامد به حالت آماده برای بلعیدن می‌گویند [۱۷].

کیم و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که با افزودن آمیلاز به خمیر، نان حاصل باعث Hardness و Chewiness کمتر و متقابلاً Cohesiveness بیشتر نسبت به نمونه کنترل فاقد آمیلاز می‌شود [۱۸] که در مطالعه ما نیز نتایج مشابهی حاصل شد. مطالعات متعددی تاثیرات آمیلاز بر بافت نان را بررسی کرده‌اند که نتایج تقریباً مشابه نتایج ما را گزارش کرده‌اند [۱۵، ۱۹]. بررسی قابلیت جویدن نان نشان می‌دهد که افزودن آنزیم آمیلاز سبب بهبود این ویژگی می‌شود. دلیل این مساله هیدرولیز نشاسته می‌باشد که سبب تولید بیشتر گاز توسط مخمرها شده است و در نهایت به دلیل افزایش تعداد حباب‌های گاز در خمیر و افزایش سطح در واحد حجم سبب نرم شدن مغز نان گردیده و در نتیجه قابلیت جویدن نان در اثر استفاده از این آنزیم بهبود یافته است. نتایج مطالعه ما با سایر مطالعات مشابه مطابقت دارد با

این تفاوت که اگر مقدار آنزیم آمیلاز را به ۲/۹ واحد برسانیم نان سخت شده و قابلیت جوندگی کمتر می‌شود. بین نمونه شاهد و تیمارهای حاوی آنزیم آمیلاز تفاوت معنی‌داری از نظر عطر و بوی نان وجود داشت. دلیل این اختلاف، هیدرولیز پلی‌ساکارید نشاسته تحت تاثیر آنزیم آمیلاز و تبدیل آن به منو و دی‌ساکاریدها است که سبب شدت یافتن واکنش مایلارد در طی پخت نان و افزایش یافتن عطر و بوی نان شده است نتیجه تاثیر آنزیم آمیلاز بر روی عطر و بوی نان با نتیجه تحقیقات انجام شده توسط محققین قبل مطابقت داشت [۲۰]. ارزیابان چشایی اذعان داشتند که افزودن آنزیم آمیلاز به خمیر سبب بهبود ویژگی‌های حسی و بافتی نان حجیم از جمله حجم، رنگ پوسته، عطر و طعم، بو و تناسب شکل نان می‌شود اما نان‌هایی که دارای مقادیر بیشتری از این آنزیم هستند به دلیل فعالیت آمیلازی بیشتر، گاز بیشتری تولید کرده که با افزایش دما متصاعد و ایجاد ترک در سطح کرده و ظاهر نامتقارنی حاصل می‌کند. این ترک‌ها احتمالاً باعث نفوذ حرارت به بخشهای داخلی‌تر و پختن بیشتر بافت درونی و در نتیجه سفتی بیشتر نان و کاهش خاصیت جوندگی آن می‌شود. همان‌گونه که نتایج نشان داد با افزودن آنزیم آمیلاز به فرمولاسیون نان حجیم میزان امتیاز پذیرش کلی نان افزایش یافته اما در دوز بیشتر ۲/۹ U/ml به دلیل تاثیرات منفی فعالیت زیاد آمیلازی از جمله بر بافت (جوندگی)، رنگ (تیرگی حاصل از واکنش قهوه‌ای شدن مایلارد و کارملیزاسیون [۲۱] بیشتر پوسته به دلیل قند بیشتر) این امتیاز کاهش می‌یابد بطوریکه نمونه‌های حاوی آمیلاز U/ml ۱/۹ بیشترین امتیاز را بین ارزیابان کسب کردند.

## ۵- نتیجه‌گیری کلی

به دلیل رشد روز افزون تقاضای بهبوددهنده‌های طبیعی نان نظیر آمیلازها، هدف مطالعه حاضر استفاده از آمیلاز مقاوم به حرارت جهت بهبود کیفیت نان حجیم بود. در این زمینه

تغییرات در بافت نان، ناپسند است. نتایج مطالعه ما نشان داد که افزودن سوپ فیلتر شده حاوی آمیلاز مقاوم به حرارت در سطح (U/ml) ۱,۹ و تخمیر به مدت ۴۰ دقیقه نسبت به سایر نمونه‌ها از نظر پارامترهایی از قبیل میزان حجم، نرمی، قابلیت ارتجاع و جوندگی و پذیرش کلی دارای مقبولیت بیشتری بود اما با افزودن مقادیر بیشتر آنزیم آمیلاز در سطح (U/ml) ۲,۹ از نظر خواص بافتی و حسی نتایج خوبی حاصل نشد.

## ۵- منابع

- [1] Goesaert, H., et al., *Amylases and bread firming—an integrated view*. Journal of cereal science, 2009. **50**(3): p. 345-352.
- [2] Sundarram, A. and T.P.K. Murthy,  *$\alpha$ -amylase production and applications: a review*. Journal of Applied & Environmental Microbiology, 2014. **2**(4): p. 166-175.
- [3] Mahsa, S.S., S.F. Mania, and H. Maryam, *he effect of using alpha-amylase enzyme of fungal origin on the quality characteristics of dough and toast*. Journal of innovation in food science and technology. **6**(2): p. 43-54.
- [4] Souza, P.M.d. and P.d.O. Magalhães, *Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry-A review*. Brazilian journal of microbiology, 2010. **41**: p. 850-861.
- [5] Aiyer, P.D., *Effect of C: N ratio on alpha amylase production by Bacillus licheniformis SPT 27*. African journal of Biotechnology, 2004. **3**(10): p. 519-522.
- [6] Reddy, N., A. Nimmagadda, and K.S. Rao, *An overview of the microbial  $\alpha$ -amylase* family. African journal of biotechnology, 2003. **2**(12): p. 645-648.
- [7] Ait Kaki El-Hadef El-Okki, A., et al., *Improving bread quality with the application of a newly purified thermostable  $\alpha$ -amylase from Rhizopus oryzae FSIS4*. Foods, 2017. **6**(1): p. 1.
- [8] Sahnoun, M., et al., *Effect of Aspergillus oryzae CBS 819.72  $\alpha$ -amylase on rheological dough properties and bread quality*. Biologia, 2013. **68**: p. 808-815.
- [9] GHAYOUR, A.M., K.M.H. HADAD, and M. KARIMI, *EFFECT OF ALPHA AMYLASE AND ASCORBIC ACID ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF DOUGH AND SPECIFIC VOLUME OF STRUDEL BREAD*. 2009.
- [10] Feyzipour, A.R., Seyedain, A.S.M., Taslimi, A, *Determination of convenient falling number for flour of Barbari and Lavash bread and study its effect on quality of produced breads*. Journal of food science and technology(Iran), 2004. **1**(3): p. 45-56.

- [11] Mahdavian, S., et al., *nvestigating the effect of different levels of gluten and starch composition on the quality of semi-bulky Berber bread by image processing*, in *National conference of food industry*. 2011.
- [12] Hammami, A., et al., *Proteolytic and amylolytic enzymes from a newly isolated Bacillus mojavensis SA: characterization and applications as laundry detergent additive and in leather processing*. International journal of biological macromolecules, 2018. **108**: p. 56-68.
- [13] Peltier, G.L. and F.R. Schroeder, *The relation between proteolytic and amylolytic enzyme production by isolates of the Bacillus subtilis group*. Journal of Bacteriology, 1949. **57**(1): p. 127-130.
- [14] Cauvain, S.P., *In Technology of breadmaking*. 2015.
- [15] Chen, Y., et al., *Influence of amylase addition on bread quality and bread staling*. ACS Food Science & Technology, 2021. **1**(6): p. 1143-1150.
- [16] Ebrahimpour, N., Peighambardoust, S H., Rafat, S A., and Azadmard Damirchi, S, *Comparison study of sensory and instrumental evaluation of bread texture using PLS regression analysis*. Journal of food research, 2011. **21**(4): p. 514-524.
- [17] Singh, N., et al., *Enhancement of the functionality of bread by incorporation of Shatavari (Asparagus racemosus)*. Journal of food science and technology, 2014. **51**: p. 2038-2045.
- [18] Kim, H.-J. and S.-H. Yoo, *Effects of combined  $\alpha$ -amylase and endo-xylanase treatments on the properties of fresh and frozen doughs and final breads*. Polymers, 2020. **12**(6): p. 1349.
- [19] Amigo, J.M., et al., *Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic  $\alpha$ -amylases. Part 1: Spatial distribution and kinetic modeling of hardness and resilience*. Food chemistry, 2016. **208**: p. 318-325.
- [20] O'Brien, J., P. Morrissey, and J. Ames, *Nutritional and toxicological aspects of the Maillard browning reaction in foods*. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 1989. **28**(3): p. 211-248.
- [21] Rebholz, G.F., et al., *Impact of exogenous  $\alpha$ -amylases on sugar formation in straight dough wheat bread*. European Food Research and Technology, 2021. **247**(3): p. 695-706.



## Improving bulky Bread Quality with the Application of a Thermostable Amylase from *Bacillus safensis* strain MT501806.1

Soudeh Yousefi fakhr<sup>1</sup>, Dariush Minai-Tehrani<sup>2</sup>, Nafiseh Davati<sup>3\*</sup>, Aryou Emamifar<sup>4</sup>

1-MSc Student, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2-Associate professor, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

3\*-Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Industry, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

4- Associate professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Industry, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

### ABSTRACT

Amylase improves the texture and sensory properties of bulky bread by degrading starch and producing dextrin in order to faster metabolism by bakery yeast. This study investigates the effect of thermostable  $\alpha$ -Amylase 0, 1.9, 2.9 (U/ml), extracted from *Bacillus safensis*, and fermentation time at 35, 40 and 45 minutes on the quality of bulky bread baked in oven at 210°C for 20 min. The results of our study showed that adding filtered soup containing 1.9 (U/ml) and fermentation for 40 minutes was more acceptable than other samples in terms of volume, hardness, cohesiveness and overall acceptance, but adding more amounts of amylase enzyme at 2.9 (U/ml) level did not yield good results in terms of texture and sensory properties of bulky bread.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received:2023/5/5

Accepted:2023/7/11

#### Keywords:

Amylase,  
Bulky Bread,  
Texture,  
Sensory properties

**DOI:** 10.22034/FSCT.20.138.41

**DOR:**20.1001.1.20088787.1402.20.138.4.6

\*Corresponding Author E-Mail:  
[n.davati@basu.ac.ir](mailto:n.davati@basu.ac.ir)