بهینه‌سازی فرایند تولید مالتودکسترین با استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 2-x

علیرضا صادقی[۱]، فخری شهیدی[۱*]، سید علی مرتضوی[۱]، مهدی نصیری محلاتی[۲] و سید حامد رضا بهشتی[۳]

(تاریخ دریافت: ۸۶/۱/۲۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۸/۱۴)

چکیده

هدف اصلی از انجام این پژوهش، بررسی امکان استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 2-x در تولید مالتودکسترین با استفاده از نشاسته ذرت و تسهیل فرایند صنعتی تولید مالتودکسترین بود. پس از بررسی‌های آزمایشگاهی، فرایند مذکور در مقیاس پایلوت پلنت انجام شد. مراحل فرایند شامل تهیه سوسپانسیون نشاسته، تنظیم pH، افزودن آنزیم، گرم کردن سوسپانسیون در طی همزدن آن، کنترل مداوم اکی‌والان دکستروز و مواد جامد محلول، غیر فعال‌سازی آنزیم پس از رسیدن به اکی‌والان دکستروز مورد نظر، جداسازی بخش‌های محلول با استفاده از سانتریفوژ و در نهایت خشک‌کردن محلول حاصل از سانتریفوژ به روش پاششی بود. در این پژوهش، مقدار اکی‌والان دکستروز بر حسب ماده‌ی خشک، تحت تاثیر سه غلظت آنزیم (۰/۲، ۰/۲۵ و ۰/۳ میلی‌لیتر به ازاء هر کیلوگرم نشاسته) و در سه دمای متفاوت (۶۰ ، ۶۵ و۷۰ درجه سانتی‌گراد) در طول زمان هیدرولیز و pH ثابت ۶ مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیز آماری نتایج حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی، به روش فاکتوریل و در پنج تکرار صورت پذیرفت. جهت بررسی رابطه بین اکی‌والان دکستروز و عوامل مؤثر بر آن از رگرسیون چندمتغیره استفاده شد. در انتها نیز مدلی جهت تخمین مقدار اکی‌والان دکستروز در ماده خشک بر حسب مقدار آنزیم مصرفی، دما و زمان هیدرولیز در محدوده‌های مورد ارزیابی، ارایه گردید. نتایج حاصل نشان می‌دهند که مقادیر اکی‌والان دکستروز فراورده تولیدی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف آنزیم (در دما و زمان یکسان هیدرولیز) به‌طور معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۵$) با یکدیگر تفاوت دارند. ضمن این‌که جهت تولید مالتودکسترین با اکی‌والان دکستروز بالا، بهترین مقدار مصرف آنزیم و دمای بهینه فرایند هیدرولیز پس از ۳۰۰ دقیقه به ترتیب ۰/۲۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم نشاسته و $۷۰\,^{\circ}C$ به‌دست آمد. در این شرایط، کمترین میزان نشاسته هیدرولیز نشده و فعالیت باقی‌مانده آنزیم نیز مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: مالتودکسترین، اکی‌والان دکستروز، هیدرولیز آنزیمی، آلفا آمیلاز، خشک‌کردن پاششی

مقدمه

امروزه مشتقات اصلاح شده نشاسته، کاربردهای گسترده‌ای در صنعت مواد غذایی یافته‌اند. انواع این فراورده‌ها از تیمارهای فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی نشاسته به‌دست می‌آیند (۶) که به نظر پلاسیدو و همکاران (۱۴) حاوی الیگومرهای دپلیمریزه شده هستند. گستره وسیعی از فراورده‌های حاصل از هیدرولیز نشاسته بر اساس اکی‌والان دکستروز(Dextrose Equivalent) (DE) آنها توصیف و نام‌گذاری می‌گردند، که بر

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲. دانشیار زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳. سرپرست واحد تحقیق و توسعه شرکت صنایع غذایی گلشاد مشهد
*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: fshahidi@ferdowsi.um.ac.ir

اساس تعریف کروناکیس (۶)، اسلومیسکا و همکاران (۱۵) عبارت از قدرت احیا کنندگی مجموع قندهای محصول بر اساس میزان گلوکز موجود در ماده خشک آن می‌باشد.

مالتودکسترین [C6H10O5)n H2O] پلیمری از ساکاریدهای فاقد طعم شیرین بوده که اکی‌والان دکستروز آن کمتر از ۲۰ و شامل مخلوطی از ترکیبات با وزن مولکولی بین پلی‌ساکاریدها و الیگوساکاریدهاست که به‌صورت پودرهای سفید رنگ یا شربت‌های غلیظ در دسترس می‌باشد (۶ و۱۳). ماده خام اصلی که به‌صورت گسترده‌ای در تولید مالتودکسترین مورد استفاده قرار می‌گیرد، نشاسته ذرت است (۶ و ۸).

کروناکیس (۶)، دوکیک و همکاران (۷) اظهار داشتند مالتودکسترین‌ها در مقایسه با نشاسته خام، حلالیت بیشتری در آب داشته، نسبت به اکثر هیدروکلوئیدهای خوراکی، ارزان‌تر هستند و محلول آنها فاقد طعم و رنگ است. هم‌چنین به‌عنوان یک افزودنی غذایی به دلیل ایجاد ژل، قوام، بافت، افزایش ویسکوزیته، کاهش دمای تبدیل فاز(Transition temperature)، افزایش مقاومت به دمای بالا، افزایش میزان ماده خشک، ممانعت از کریستالیزاسیون و کنترل دمای انجماد استفاده می‌شوند. به‌عنوان پوشش دهنده سالاد، پرکننده، عامل ضد کلوخه، ناقل اکسیژن، نگه‌دارنده آب و در موارد ویژه به‌عنوان جایگزین چربی نیز کاربرد دارند.

دوکیک و همکاران مشاهده کردند برخی از انواع مالتودکسترین‌ها قادرند ژل‌های قابل برگشت با حرارت تشکیل دهند. در مالتودکسترین‌ها حلالیت و قدرت کاهش دمای انجماد با افزایش اکی‌والان دکستروز، افزایش می‌یابد در حالی‌که با کاهش اکی‌والان دکستروز، ویسکوزیته و ممانعت از کریستالیزاسیون بیشتر می‌شود (۷). مالتودکسترین‌ها در کاهش واکنش میلارد نیز نقش دارند و در میکرو کپسولاسیون ترکیبات غذایی حساس، نسبت به سایر مواد متداول از این نظر مفیدتر هستند (۱).

امروزه روش هیدرولیز اسیدی برای تولید مالتودکسترین کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد و عموماً این روش در تولید شربت گلوکز به‌کار می‌رود. در فرایندهای پیوسته تولید فراورده‌های هیدرولیز شده نشاسته، روش‌های هیدرولیز آنزیمی یا استفاده از مخلوط اسید و آنزیم جایگزین هیدرولیز اسیدی شده‌اند (۶ و۱۲). براوو (۵)، هاکی و راکشیت (۱۰) فرایند هیدرولیز آنزیمی نشاسته را در مقایسه با هیدرولیز اسیدی، بسیار مؤثرتر ارزیابی نمودند. فراورده تولیدی با این روش بر اساس نوع آنزیم مصرفی و عملکرد اختصاصی آن ویژگی‌های مطلوب‌تری داشته و در حین فرایند هیدرولیز نیز مواد نامطلوب کمتری تولید می‌شوند. هم‌چنین نیازی به مرحله حذف نمک‌های ناخواسته (حاصل از خنثی سازی اسید به روش هیدرولیز اسیدی)، وجود ندارد. ضمن این‌که فرایند هیدرولیز آنزیمی در گستره وسیع‌تری از pH و در دماهای پایین‌تری نسبت به روش هیدرولیز اسیدی انجام می‌شود. به لحاظ اقتصادی نیز مقرون به صرفه‌تر بوده و راندمان بالاتری دارد. هم‌چنین انرژی کمتری مصرف نموده و کنترل آن نیز ساده‌تر است.

وندرمارل و همکاران، خصوصیات انواع آنزیم‌های آلفا آمیلاز هیدرولیز کننده نشاسته را بررسی نمودند (۱۶). بر این اساس عموماً برای هیدرولیز آنزیمی نشاسته از انواع آنزیم‌های آلفا آمیلاز (۱-۴ آلفا دی گلوکان، گلوکانو هیدرولاز) تولیدی توسط باسیلوس‌ها استفاده می‌شود. بنا بر مشاهدات وندرمارل و همکاران، آلفا آمیلاز در محدوده pH ۸/۴ تا ۶/۵ بیشترین فعالیت را دارد. البته این محدوده‌ی pH بر اساس منبع آنزیم نیز متفاوت است به‌طوری‌که برای آلفا آمیلاز گیاهی و میکروبی خیلی کمتر از آلفا آمیلاز حیوانی می‌باشد (۱۶). میتسوکی و همکاران از آنزیم پلولاناز نیز برای تولید مالتودکسترین تشکیل دهنده ژل استفاده کردند. بر اساس گزارش این محققین، فعالیت بهینه اکثر پلولانازها در pH بین ۵ تا ۷ و دامنه دمایی ۴۵°C تا ۵۰°C قرار دارد (۱۱). امروزه در صنعت جهت تولید مالتودکسترین دارای اکی‌والان دکستروز پایین از آنزیم BAN 480-L که نوعی آلفا آمیلاز است استفاده می‌شود (۱۲).

اسلومیسکا و همکاران دو مرحله اصلی در تولید

فراورده‌های حاصل از هیدرولیز آنزیمی نشاسته بر شمرده‌اند که شامل "Liquefaction" و "Saccharification"" می‌باشد. این محققین، فرایند "Liquefaction" نشاسته با استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز مقاوم به دما را مورد مطالعه قرار دادند و بیان نمودند مالتودکسترین عموما از هیدرولیز کنترل شده آنزیمی نشاسته ذرت که "Liquefaction" نامیده می‌شود، به‌دست می‌آید (۱۵). با تداوم فرایند هیدرولیز مالتودکسترین در طی "Saccharification" گستره وسیعی از فراورده‌های شیرین ایجاد می‌شوند که اکی‌والان دکستروز معادل ۴۵ تا ۷۵ دارند. پلاسیدو و همکاران، نشاسته‌های ذرت و کاساوا را با استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 120-L به مالتودکسترین هیدرولیز نموده و خصوصیات مالتودکسترین‌های تولیدی را با HPLC مقایسه نمودند (۱۴). هم‌چنین فریاز و همکاران، تولید مالتودکسترین دارای DE معادل۱۲ را به وسیله خشک‌کن جابه‌جایی، مدل‌سازی کردند (۸).

در تمامی موارد استفاده از آنزیم یکی از مشکلات اصلی، حصول اطمینان از غیر فعال شدن آنزیم مصرفی در انتهای فرایند است. ازبک و یوسیر (۱۳)، توانستند عوامل مؤثر در غیر فعال‌سازی آنزیم آلفا آمیلاز در حین هیدرولیز نشاسته گندم را مدل‌سازی نمایند. اپار و ازبک (۲)، تاثیر حرارت در غیر فعال‌سازی آنزیم آلفا آمیلاز را بررسی کردند. هم‌چنین محققین مذکور، عوامل مؤثر در غیرفعال‌سازی آنزیم آلفا آمیلاز در حین هیدرولیز نشاسته ذرت و نشاسته برنج را نیز مدل‌سازی نمودند (۳ و۴). در این مدل‌ها عوامل پیچیده مؤثر بر کینتیک آنزیم و شرایط فرایند به‌صورت جزءبه‌جزء مورد بررسی قرار گرفته و درصد هیدرولیز نشاسته و میزان فعالیت آنزیم باقی‌مانده، تحت تأثیر دما، pH، سرعت همزن، زمان فرایند، مقدار آنزیم مصرفی، ویسکوزیته و مواد افزودنی خاص مورد بررسی قرار گرفته‌است.

هدف اصلی از انجام این پژوهش، بررسی امکان استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 2-x جهت تولید مالتودکسترین از نشاسته ذرت در مقیاس آزمایشگاهی و پایلوت پلنت، هم‌چنین استفاده از نتایج مذکور جهت تولید صنعتی آن در کشور بود تا بدین طریق گامی در جهت کاهش واردات مالتودکسترین (که در حال حاضر در مقادیر زیاد و برای مصارف گوناگون به کشور وارد می‌گردد)، برداشته شود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، نشاسته ذرت از شرکت مهشاد یزد تأمین شد. نشاسته مصرفی دارای حداکثر ۷۰ppm دی‌اکسید گوگرد، ۰/۴٪ خاکستر، ۱۴٪ رطوبت، ۰/۳۵٪ پروتئین و ۰/۲٪ چربی بود. pH آن نیز در محدوده ۴/۵ تا ۵ قرار داشت. آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 2-x از شرکت نووزیم(Novozymes) دانمارک با فعالیت 240 KNU/g، تهیه شد و از هیدروکسید سدیم ۱ نرمال، اسید کلریدریک ۵ نرمال، محلول‌های یدی و فهلینگ تولیدی شرکت مرک(Merck) آلمان استفاده گردید.

تعیین اکی‌والان دکستروز

جهت تعیین اکی‌والان دکستروز از روش اصلاح شده تیتراسیون لین- آنیون((Corn Refiner Association (Method E-26) و تعیین مواد جامد محلول از روش رفراکتومتری (مدل CHD 10557) در دمای محیط استفاده شد.

فرایند تولید

ابتدا جهت تعیین حداکثر مقدار مورد نیاز آنزیم و نیز زمان هیدرولیز، با استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 2-x در مقیاس آزمایشگاهی شربت غلیظ مالتودکسترین (بریکس۳۰ تا ۴۰) از نشاسته ذرت تولید گردید. سپس به کمک نتایج حاصل، تولید مالتودکسترین با استفاده از آنزیم مذکور در مقیاس نیمه صنعتی، صورت پذیرفت.

نظر به این‌که استفاده از مقادیر متعارف مصرف آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 120-L جهت تولید مالتودکسترین (۱۴)، موجب گردید اکی‌والان دکستروز محصول تولیدی در مقیاس آزمایشگاهی نسبت به مقدار تعریف شده، افزایش چشم‌گیری نشان دهد (DE بالغ بر ۳۵) و از آنجا که محصول تولیدی تحت

تـأثیر غلظـت ۰/۳ آنـزیم، پـس از ۳۰۰ دقیقـه در هـر سـه دمـای هیدرولیز مورد آزمایش، دارای اکـی‌والان دکـستروز بـالاتر از ۲۰ بود، لذا غلظت ۰/۳ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم نشاسته به‌عنـوان غلظت بیشینه مصرف آنزیم انتخاب گردید.

از آنجا که نشاسته خالص به‌میزان بسیار کمی تحت تأثیر آنـزیم آلفا آمیلاز قرار می‌گیرد (۱۵) به همین دلیل سوسپانسیون حاوی ۳۵ درصد ماده‌ی خشک برای شروع "Liquefaction" تهیه گردید.

pH بهینـه فراینـد هیـدرولیز، بـا توجـه بـه منـشاء آنـزیم *Bacillus licheniformis* و نـوع نـشاسته مـصرفی، بـا توجـه بـه مشاهدات بـراوو (۵)، پلاسـیدو و همکـاران (۱۴)، اسلومیـسکا و همکـاران (۱۵)، معـادل ۶ در نظـر گرفتـه شـد. از آنجـا کـه pH سوسپانسیون تولیدی (مخلوط نشاسته و آب مقطـر) در حـدود ۵ بود با استفاده از هیدروکسید سدیم ۱ نرمال، pH آن تا ۶ افـزایش داده شد.

به‌دلیل کاهش ویـسکوزیته در مقایـسه بـا هیـدرولیز نـشاسته توسط سایر آنزیم‌ها و هیدرولیز اسیدی، نیـاز بـه همـزن ویـژه‌ای نبود. لذا یک همزن معمـولی بـا قـدرت ۴۵ دور در دقیقـه بـرای همزدن سوسپانسیون استفاده گردید. جهت غیر فعال‌سازی آنـزیم مصرفی پس از رسیدن به DE مورد نظر، با توجـه بـه مـشاهدات اپار و ازبک، pH محلول با استفاده از اسید کلریدریک ۵ نرمال تـا ۴/۳ کاهش داده شد (۲و۳).

برای خالص‌سازی محلول حاوی مالتودکسترین از سـانتریفوژ ۵۰۰g (مدل Spectrafuge16M) به روش گریفین و بـروکس (۹) کـه نـسبت بـه فیلتراسـیون، رانـدمان بـالاتری دارد (۱۴) اسـتفاده گردید. سرانجام محلول حاصل از سانتریفوژ، توسـط خـشک‌کـن نیمه‌صنعتی (مـدل GEA) بـا دمـای ورودی ۱۹۰±۲°C و دمـای خروجی ۸۵±۲°C به روش پاششی، بنا بر نظریه کرونـاکیس (۶) به دلیل عدم بازسازی ساختار اولیه نشاسته به سرعت خشک شـد (۶ و۱۲).

پس از این مرحله، به‌منظور تعیـین میـزان نـشاسته هیـدرولیز نشده و فعالیت باقی‌مانده آنزیم از روش اپار و ازبک (۲) اسـتفاده شد. شایان ذکر است که تا کنون هیچ گزارش علمی در خصوص مـصرف آنـزیم آلفـا آمـیلاز Termamyl 2-x جهـت تولیـد مالتودکسترین ارایه نشده است.

مراحـل فراینـد تولیـد مالتودکـسترین، در شـکل۱ نـشان داده شده‌است. در این پژوهش مقدار اکـی‌والان دکـستروز بـر حـسب ماده خشک، تحـت تـاثیر سـه غلظـت آنـزیم (۰/۲ ، ۰/۲۵ و ۰/۳ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم نشاسته ذرت)، در سه دمای متفاوت (۶۰ ، ۶۵ و۷۰ درجه سانتی‌گراد) در طول زمـان هیـدرولیز و pH ثابت ۶ مورد ارزیابی قرار گرفت.

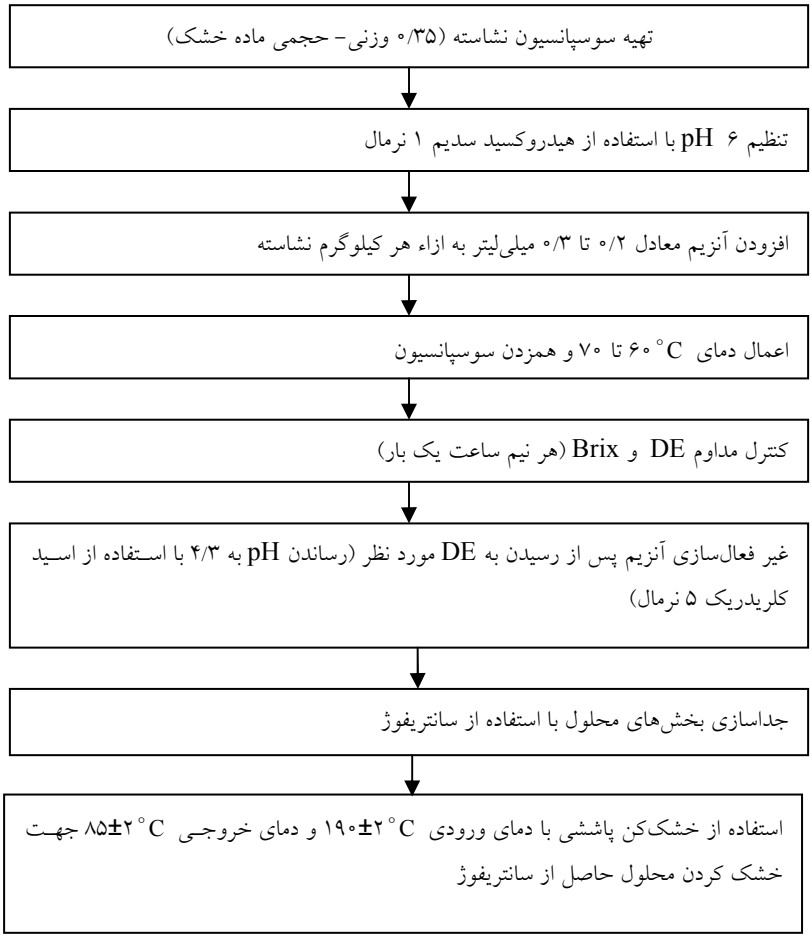
آنالیز آماری

نتایج حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی، بـه روش فاکتوریـل و در پنج تکرار مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. جهت بررسی رابطـه بین اکی‌والان دکستروز و عوامل مـؤثر بـر آن از رگرسـیون چنـد متغیره و به‌منظور مقایسه میانگین‌هـا و بررسـی اثـرات تیمارهـا از آزمون دانکن استفاده شد. در انتها نیز مدلی جهت تخمـین مقـدار اکی‌والان دکـستروز (در مـاده خـشک) بـر حـسب مقـدار آنـزیم مصرفی، دما و زمان هیدرولیز در محدوده‌های مورد ارزیابی، ارایه شد. نرم‌افزارهای آماری مـورد اسـتفاده نیـز شـامل Minitab ver 13.1، MstatC و Sigma stat بودند.

نتایج و بحث

مقـادیر اکـی‌والان دکـستروز فـراورده تولیـدی تحـت تـأثیر غلظت‌های مختلف آنزیم (در دما و زمان یکسان هیدرولیز) پس از سـه سـاعت هیـدرولیز، بـه‌طـور معنـی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) بـا یکدیگر تفاوت دارند. پس از طی زمـان ۳۰۰ دقیقـه هیـدرولیز، تحـت تـأثیر دمـای ۶۰°C و غلظـت‌هـای ۰/۲، ۰/۲۵ و ۰/۳ میلی‌لیتر آنزیم به ازاء یک کیلـوگرم نـشاسته، مقـادیر اکـی‌والان دکستروز به ترتیـب معـادل ۸/۸۲، ۱۴/۸۷ و ۲۰/۹، تحـت تـاثیر دمـای ۶۵°C معـادل ۱۰/۸۶، ۱۶/۱۵ و ۲۶/۷۳ و تحـت تـاثیر دمـای ۷۰°C معـادل ۱۲/۰۷، ۱۸/۲۷ و ۲۸/۱۴ بـه‌دسـت آمـد (جدول۱).

اسلومیـسکا و همکـاران (۱۵) مقـدار اکـی‌والان دکـستروز



شکل۱. نمودار فرایند هیدرولیز به کار گرفته شده جهت تولید مالتودکسترین با استفاده از آنزیم آلفا آمیلازTermamyl 2-x

حاصل از هیدرولیز نشاسته ذرت در دمای ۹۵°C تحت تاثیر ۰/۵ کیلوگرم از آنزیم آلفا آمیلاز مقاوم به دما به ازای یک تن نشاسته را در طول زمان هیدرولیز بررسی نمودند. بر این اساس، مقدار اکی‌والان دکستروز در طول ساعت اول هیدرولیز در محدوده‌ی ۸/۹ تا ۱۸/۲ ، در ساعت دوم ۲۳/۱ و در ساعت سوم ۲۵/۵ گزارش شد.

پلاسیدو و همکاران (۱۴) مقدار اکی‌والان دکستروز حاصل از هیدرولیز نشاسته ذرت را در دمای ۱۰۰°C تحت تاثیر ۰/۶ کیلوگرم از آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 120-L در طول دو ساعت هیدرولیز از ۱۷/۷۴ تا ۵۰/۳۱ به‌دست آوردند. در این گزارش، مقادیر اکی‌والان دکستروز در شرایط هیدرولیز عنوان شده پس از ۳۰ دقیقه از ۲۰ بالاتر بودند و به‌صورت صعودی افزایش یافتند.

در مقایسه با فرایندهای مذکور، در این پژوهش از دماهای هیدرولیز پایین‌تر و مقادیر کمتر آنزیم استفاده شد. هم‌چنین با تعیین غلظت بیشینه مصرف آنزیم صرفاً تولید مالتودکسترین (محصول دارای اکی‌والان دکستروز کمتر از ۲۰) مورد بررسی قرار گرفت. مصرف آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 2-x جهت تولید مالتودکسترین در شرایط فرایند ذکر شده سبب تسهیل تولید صنعتی این فراورده و کاهش هزینه تولید خواهد شد. از مزایای آنزیم مذکور می‌توان به کاهش تولید فراورده‌های جانبی، افزایش مقدار ماده خشک، کاهش سریع ویسکوزیته در حین هیدرولیز، کاهش تولید رنگ (محدود شدن واکنش میلارد به دلیل pH فرایند هیدرولیز) و عدم نیاز به رنگ‌بری، حداقل نیاز

جدول۱. مقایسه مقادیر میانگین اکی‌والان دکستروز حاصل از هیدرولیز نشاسته ذرت، تحت تأثیر دما و غلظت‌های متفاوت از آنزیم آلفا آمیلاز Termamyl 2-x در طول زمان هیدرولیز

زمان هیدرولیز (دقیقه)	دمای هیدرولیز (°C)	غلظت آنزیم مصرفی (میلی‌لیتر به ازای کیلوگرم نشاسته)		
		۰/۲	۰/۲۵	۰/۳
		اکی‌والان دکستروز		
۶۰	۶۰	۱/۰۵±۰/۰۲^{a}	۱/۵۲±۰/۰۹^{a}	۱/۶۳±۰/۱۴^{a}
	۶۵	۱/۹۳±۰/۰۵^{a}	۲/۱۲±۰/۱۳^{a}	۲/۸۶±۰/۰۹^{a}
	۷۰	۲/۶۱±۰/۱۴^{a}	۳/۰۸±۰/۱۰^{a}	۳/۲۹±۰/۰۹^{a}
۱۲۰	۶۰	۲/۷۱±۰/۰۸^{a}	۴/۱۲±۰/۰۶^{ab}	۶/۱۹±۰/۱۷^{b}
	۶۵	۳/۱۱±۰/۰۴^{a}	۷/۲۳±۰/۰۳^{b}	۹/۷۱±۰/۱۱^{b}
	۷۰	۴/۰۷±۰/۱۲^{a}	۹/۴۳±۰/۰۸^{b}	۱۰/۳۱±۰/۱۳^{b}
۱۸۰	۶۰	۴/۱۶±۰/۰۲^{a}	۸/۹۱±۰/۰۸^{b}	۱۱/۵۷±۰/۲۳^{c}
	۶۵	۵/۳۷±۰/۰۹^{a}	۱۱/۷۶±۰/۰۷^{b}	۱۷/۴۰±۰/۲۱^{c}
	۷۰	۶/۴۳±۰/۰۳^{a}	۱۳/۶۲±۰/۰۴^{b}	۱۸/۶۷±۰/۱۱^{c}
۲۴۰	۶۰	۶/۰۹±۰/۰۲^{a}	۱۲/۰۸±۰/۱۱^{b}	۱۶/۷۰±۰/۱۵^{c}
	۶۵	۷/۸۵±۰/۰۵^{a}	۱۳/۸۵±۰/۱۷^{b}	۲۲/۸۸±۰/۰۴^{c}
	۷۰	۸/۶۲±۰/۰۲^{a}	۱۵/۸۶±۰/۱۹^{b}	۲۴/۱۷±۰/۱۸^{c}
۳۰۰	۶۰	۸/۸۲±۰/۰۸^{a}	۱۴/۸۷±۰/۱۶^{b}	۲۰/۹۰±۰/۱۲^{c}
	۶۵	۱۰/۸۶±۰/۰۶^{a}	۱۶/۱۵±۰/۲۱^{b}	۲۶/۷۳±۰/۱۴^{c}
	۷۰	۱۲/۰۷±۰/۰۱^{a}	۱۸/۲۷±۰/۱۹^{b}	۲۸/۱۴±۰/۱۸^{c}

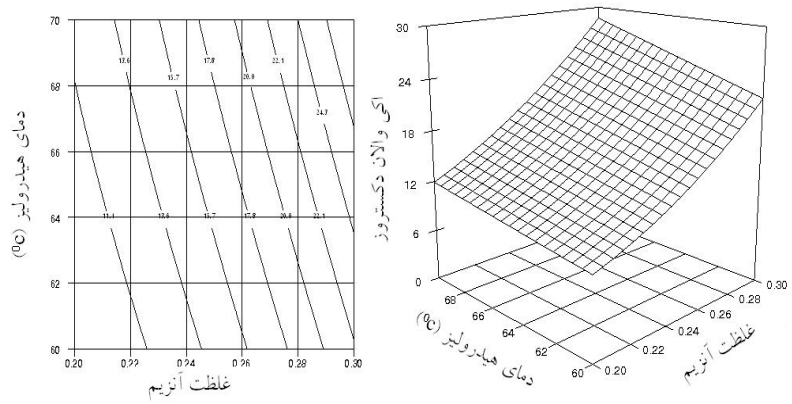
*: میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ردیف، در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

به کاتالیزور و کاهش هزینه فیلتراسیون اشاره نمود (۱۲).

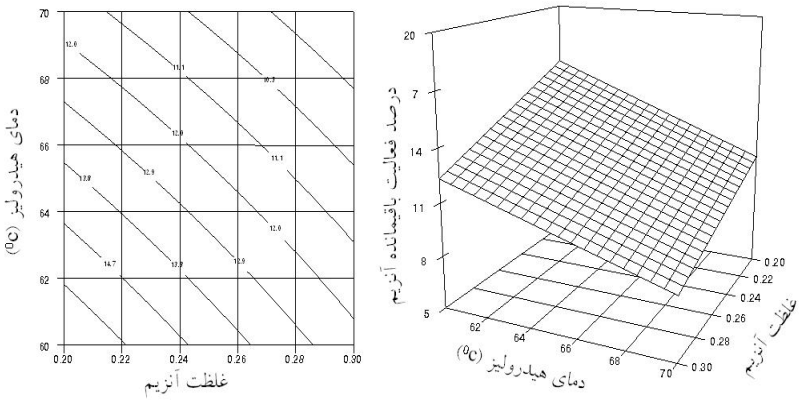
دلیل افزایش زمان هیدرولیز (۳۰۰ دقیقه) در گستره دمایی ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌منظور محدود نمودن ژلاتینه شدن نشاسته، جلوگیری از افزایش ویسکوزیته و عدم نیاز به همزن ویژه، حصول اطمینان از فراهم آمدن فرصت کافی برای هیدرولیز نشاسته و صرف حداکثر فعالیت آنزیم در حین فرایند هیدرولیز بود. لازم به توضیح است که در این گستره دمایی امکان استفاده از پلولاناز نیز فراهم می‌آید.

برآورد میزان نشاسته هیدرولیز نشده و فعالیت باقی‌مانده آنزیم پس از ۳۰۰ دقیقه هیدرولیز، نشان داد فراورده تولیدی تحت تأثیر غلظت ۰/۲ آنزیم و دمای هیدرولیز ۶۰ °C، بیشترین میزان نشاسته هیدرولیز نشده (۳۱٪) و فعالیت باقی‌مانده آنزیم (۱۷٪) را دارا بود. ضمن این‌که کمترین مقادیر مذکور (به ترتیب ۱۵٪ و ۹٪) تحت تأثیر غلظت ۰/۲۵ آنزیم و دمای هیدرولیز ۷۰ °C به‌دست آمد و روند کاهش میزان نشاسته هیدرولیز نشده در مقابل غلظت آنزیم و دمای هیدرولیز به‌مراتب بیشتر از مقدار فعالیت باقی‌مانده آنزیم بود (شکل۲).

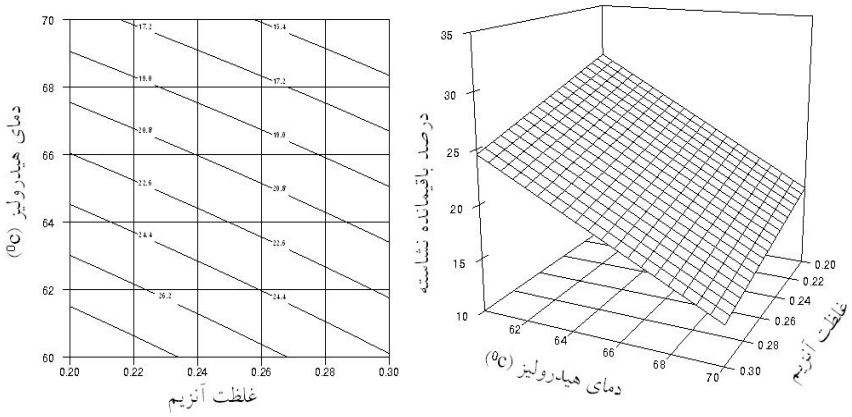
الف



ب



ج



شکل۲. روند تغییرات اکی‌والان دکستروز (الف)، فعالیت باقی‌مانده آنزیم (ب) و میزان نشاسته هیدرولیز نشده (ج) تحت تاثیر مقادیر۰/۲ تا ۰/۳ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم نشاسته ذرت از آنزیم آلفا آمیلازTermamyl 2-x، در محدوده دمایی ۶۰ تا۷۰ درجه سانتی‌گراد پس از زمان ۳۰۰ دقیقه هیدرولیز و pH ثابت ۶

رابطه رگرسیونی بین اکی‌والان دکستروز و سایر متغیرهای مستقل پس از حذف Backward (جهت حذف متغیرهای اضافی از مدل رگرسیونی) نشان داد تمامی متغیرهای مورد بررسی در معادله باقی‌ماندند. معادله شماره (۱) نیز جهت تخمین مقدار اکی‌والان دکستروز (در ماده خشک) بر حسب مقدار آنزیم مصرفی، دما و زمان هیدرولیز به ترتیب در محدوده‌های۰/۲ تا ۰/۳ میلی‌لیتر از آنزیم به ازای هر کیلوگرم نشاسته ذرت، دمای۶۰ تا۷۰ درجه سانتی‌گراد، در طول زمان۳۰۰ دقیقه هیدرولیز و در pH ثابت ۶ به‌دست آمد (R^2=/۸۷۵**).

(۰/۰۶۳۵ × زمان هیدرولیز) = اکی‌والان دکستروز

۴۵/۱- (۸۲/۶ × غلظت آنزیم) + (۰/۳۵۹ × دمای هیدرولیز) +

[۱]

بر اساس این روابط رگرسیونی، تأثیر غلظت آنزیم بر مقدار اکی‌والان دکستروز از سایر عوامل، بیشتر و دمای هیدرولیز از زمان هیدرولیز، مؤثرتر است. هم‌چنین بیشترین روند افزایش اکی‌والان دکستروز، تحت تأثیر فرایند هیدرولیز در غلظت ۰/۳ آنزیم و دمای هیدرولیز ۷۰ درجه سانتی‌گراد و کم‌ترین آن تحت تأثیر غلظت ۰/۲ آنزیم و دمای هیدرولیز ۶۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد.

بر اساس این نتایج، ایدآل‌ترین مقدار مصرف آنزیم و دمای بهینه فرایند هیدرولیز نشاسته جهت تولید مالتودکسترین(DE بین ۱۸تا۱۹) به ترتیب ۰/۲۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم نشاسته و ۷۰ °C به مدت ۳۰۰ دقیقه توصیه می‌گردد. این فراورده می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب ضد کلوخه و پرکننده ایدآل در صنعت تولید پودرهای غذایی به روش خشک کردن پاششی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

در انتها از مسئولین محترم شرکت صنایع غذایی گلشاد مشهد که در تأمین مواد خام، استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی و امکانات خط پایلوت پلنت، با مجریان این طرح هم‌کاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1. Akhtar, M. and E. Dickinson. 2007. Whey protein–maltodextrin conjugates as emulsifying agents: An alternative to gum Arabic. Food Hydrocolloids 21(4): 607-616.
2. Apar, D. K. and B. Ozbek. 2004. Alpha-amylase inactivation by temperature during starch hydrolysis. Process Biochem. 39: 1137–1144.
3. Apar, D. K. and B. Ozbek. 2004. Alpha-amylase inactivation during corn starch hydrolysis process. Process Biochem. 39: 1877–1892.
4. Apar, D. K. and B. Ozbek. 2005. Alpha-amylase inactivation during rice starch hydrolysis. Process Biochem. 40: 1367–1379.
5. Bravo Rodriguez, V. 2006. Modification of the activity of an Alpha-amylase from *Bacillus licheniformis* by several surfactants. Electronic J. Biotechnol. 9 (5): 1-6.
6. Chronakis, L. S. 1998. On the Molecular Characteristics, Compositional Properties, and Structural-Functional Mechanisms of Maltodextrins. Critical Rev. in Food Sci. 38(7): 599-637.
7. Dokic-Baucal, L., P. Dokic and J. Jakovljevic. 2004. Influence of different maltodextrins on properties of O/W emulsions. Food Hydrocolloids 18: 233–239.
8. Frias, J. M., J. C. Oliveira and K. Schittkowski. 2001. Modeling and parameter identification of a maltodextrin DE 12 drying process in a convection oven. Appl. Math. Model. 25: 449-462.
9. Griffin,V. K. and J. R. Brooks. 1989. Production and Size distribution of rice maltodextrin from milled rice flour using heat stable alpha amylase. J. Food Sci. 54:(1):190-193.
10. Haki, G.D. and S.K. Rakshit. 2003. Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. Bioresour. Technol. 89: 17–34.
11. Mitsuiki, S., K. Mukae, M. Sakai, M. Goto, S. Hayashida and K. Furukawa. 2005. Comparative characterization of raw starch hydrolyzing Alpha-amylases from various *Bacillus* strains. Enzyme and Microbial Technol. 37: 410–416.

12. Novozymes; a biotech based world leader in enzymes. 2006. Enzymes at work pp: 28-32- and Efficient liquefaction of starch (Enzyme Application Sheet). www.novozymes.com
13. Ozbek, B. and S. Yu¨ceer. 2001. Alpha-Amylase inactivation during wheat starch hydrolysis process. Process Biochem. 37: 87–95.
14. Plácido, M., G. Rocha, L. Rodrigues and E. R. Amante. 2005. Cassava and corn starch in maltodextrin production. Artigo Quimica Nova 28(4): 596-600.
15. Slomiska, L., D. Wisniewska and A. Grzeskowiak. 2003. Liquefaction of starch by thermostable alpha amylase. Technologia Alimentaria 2(2): 17-26.
16. Van der Maarel, M., J.E.C. Bart van der Veen, J.C.M. Uitdehaag, H. Leemhuis and L. Dijkhuizen. 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the Alpha-amylase family. J. Biotechnol. 94: 137–150.