

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH ĐƯỜNG HÓA TINH BỘT BẮP NẾP BẰNG ENZYME GLUCOAMYLASE

Lê Thị Bích Phương¹ và Nguyễn Minh Thùy²

¹ Học viên cao học CNTP K19, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 26/9/2014

Ngày chấp nhận: 07/11/2014

Title:

Optimization of starch corn saccharification with glucoamylase

Từ khóa:

Chất khô hòa tan, đường khử, glucoamylase, nhiệt độ, thời gian

Keywords:

Glucoamylase, reducing sugar, soluble solid content, temperature, time

ABSTRACT

A process was explored for continuous enzymatic liquefaction of corn starch and subsequently saccharification to glucose. The process appeared to be quite efficient for conversion of starch to glucose and should be adaptable to corn milk processes. The effect on substrate saccharification of variables such as level of glucoamylase (0.05-0.15%), hydrolysis temperatures (60÷70°C) and time (30 to 240 min) was studied. The degree of saccharification was assessed by determining the rate and extent of soluble solid content and glucose formed after glucoamylase treatment. Analyzed results using response surface models showed optimal conditions for hydrolyzation of corn starch by glucoamylase (enzyme concentration of 0.12% at temperature of 66.76°C during 237 to 240 minute) gave product with the highest reducing sugar content (13.61 ± 0.143%).

TÓM TẮT

Tiến trình đường hóa dịch tinh bột bằng enzyme gluco-amylase được thực hiện nối tiếp quá trình xử lý dịch hồ hóa tinh bột bắp nếp bằng enzyme α -amylase. Tiến trình này tỏ ra có hiệu quả trong xử lý chuyển hóa tinh bột thành đường glucose, thích hợp cho công nghệ sản xuất sữa bắp. Ảnh hưởng của các nhân tố trong quá trình đường hóa được thực hiện, bao gồm tỷ lệ enzyme glucoamylase (0,05÷0,15%), nhiệt độ (60÷70°C) và thời gian thủy phân được thực hiện trong khoảng 30 đến 240 phút. Mức độ đường hóa được kiểm soát bằng tốc độ tạo thành các chất khô hòa tan và hàm lượng đường khử (glucose) sau các điều kiện xử lý bằng enzyme glucoamylase. Kết quả phân tích bằng sử dụng mô hình bề mặt đáp ứng cho thấy điều kiện tối ưu để thủy phân tinh bột bắp nếp bằng glucoamylase với nồng độ enzyme 0,12% ở nhiệt độ 66,76°C trong 237 đến 240 phút cho hàm lượng đường khử đạt được cao nhất (13,61 ± 0,143%).

1 GIỚI THIỆU

Ở Việt Nam, bắp nếp (*Zea mays* L.) là một trong những sản phẩm nông nghiệp tiêu biểu. Bắp cũng là một trong những nguồn carbohydrate với hàm lượng calo thấp và có rất nhiều lợi ích cho sức khỏe. Bắp rất giàu chất xơ và các chất dinh dưỡng khác như vitamin B, và C, carotene, kali, sắt,

magiê, phot pho, omega-6 và chất béo không bão hòa có thể giúp giảm cholesterol, ngăn ngừa bệnh tiểu đường, bệnh tim, huyết áp... (Ejigui *et al.*, 2007).

Tinh bột là thành phần carbohydrate dự trữ chủ yếu trong thực vật và cũng hiện diện nhiều trong bắp nếp (68%) (Dương Minh, 2000). Nếu trước

đây thủy phân tinh bột bằng acid được sử dụng phổ biến thì hiện nay đã được thay thế phần lớn bởi các tiến trình xử lý bằng enzyme với nhiều loại enzyme được sử dụng. Mặc dù, tinh bột từ các loại thực vật khác nhau có thể được sử dụng nhưng bắp vẫn là nguồn phong phú nhất trên thế giới và cung cấp hầu hết các chất nền sử dụng cho quá trình thủy phân tinh bột. Ba giai đoạn trong quá trình chuyển đổi tinh bột, bao gồm hồ hóa liên quan đến sự chuyển các hạt tinh bột có kích thước nano để tạo thành một hệ keo nhớt; quá trình hóa lỏng, liên quan đến sự thủy phân một phần của tinh bột, với sự mất mát đồng thời độ nhớt; và đường hóa, liên quan đến việc sản xuất glucose và maltose bằng cách thủy phân tiếp tục. Trong hai thành phần của tinh bột, amylopectin hiện diện cũng là thách thức lớn cho các nhóm enzyme thủy phân. Hầu hết các enzyme thủy phân liên kết 1,4-glucoside nhưng các liên kết 1,6-glucoside cũng phải được cắt đứt thủy phân hoàn toàn amylopectin thành glucose (Nguyễn Đức Lượng và *ctv.*, 2004). Dịch đường thủy phân từ tinh bột bắp theo tiến trình này có thể thay thế cho các chất tạo ngọt khác trong các sản phẩm bánh kẹo do không có mùi đặc trưng. Sữa bắp được sản xuất với nguyên liệu là sản phẩm của quá trình thủy phân này. Vì vậy, mục tiêu nghiên cứu là tối ưu hóa quá trình thủy phân tinh bột bắp nếp bằng glucoamylase với hàm lượng đường khử đạt được là cao nhất.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu

Bắp nếp: mua ở xã Tân Lược, huyện Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long.

Enzyme Glucoamylase (Liquozyme Supra, Novozyme Biology Co. Ltd, Amyloglucosidase 296,5 Unit/gram).

2.2 Phương pháp thực hiện

Bắp nếp tươi được tách hạt, xay nhuyễn với nước theo tỷ lệ tương ứng 1:1,5. Thực hiện hồ hóa hỗn hợp ở nhiệt độ 70÷80°C trong 10 phút và tiếp tục dịch hóa hỗn hợp bằng α -amylase. Hỗn hợp được hạ nhiệt độ để tiếp tục quá trình đường hóa bằng glucoamylase (được bố trí theo các thí nghiệm). Hàm lượng đường khử của các mẫu sau khi xử lý được phân tích.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 nhân tố: nhiệt độ thủy phân: 60, 65 và 70°C,

nồng độ enzyme glucoamylase: 0,05, 0,1 và 0,15% và thời gian thủy phân thay đổi 30 đến 240 phút.

2.3 Phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng chất khô hòa tan ($^{\circ}$ Brix) bằng chiết quang kế Alla (Pháp).

Hàm lượng đường khử được xác định theo phương pháp Miller (1959), trong đó nhóm aldehyde hoặc cetone trong đường khử phản ứng với acid dinitrosalicylic tạo 3-amino-5-nitrosalicylic có màu đỏ. Thực hiện phương pháp so màu bằng máy spectrophotometer ở bước sóng $\lambda = 540$ nm.

2.4 Phân tích thống kê

Phân tích thống kê dữ liệu bằng phần mềm STAGRAPHIC Centurion XVI. Mô hình phù hợp được chọn cho bộ dữ liệu được thu thập. Mô hình (1) được đề xuất (giá trị Y) trong trường hợp này:

$$Y = b_0 + b_n X_n + b_{nn} X_n^2 + b_{nm} X_n X_m + \dots \quad (1)$$

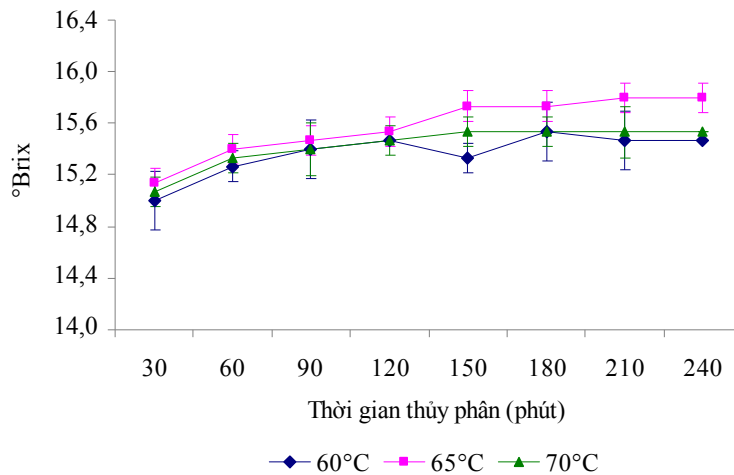
Trong đó: b_0 là hệ số; b_n , b_{nn} và b_{nm} là các hệ số bậc 1, bậc 2 của phương trình hồi quy; X_n , X_m là các giá trị của biến độc lập. Kiểm định sự tương thích của dữ liệu theo mô hình và dữ liệu thực nghiệm được thực hiện.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Quá trình dịch hóa bằng enzyme α -amylase làm giảm nhanh độ nhớt, tinh bột chuyển thành trạng thái hòa tan tạo điều kiện thuận lợi cho enzyme glucoamylase thực hiện quá trình đường hóa. Quá trình đường hóa là quá trình chuyển hóa hoàn toàn dextrin thành đường khử.

3.1 Ảnh hưởng của các điều kiện thủy phân đến hàm lượng chất khô hòa tan của dịch đường

Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân (ở nồng độ enzyme 0,15%) đến hàm lượng chất khô hòa tan (%) được trình bày ở Hình 1. Trong giai đoạn đường hóa, enzyme glucoamylase tiếp tục cắt các liên kết α -1,6 glycoside trong phân tử amylopectin tạo thành glucose. Do đó, hàm lượng chất khô hòa tan tăng hơn so với giai đoạn dịch hóa. Khi tăng nhiệt độ, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân thì hàm lượng chất khô hòa tan tăng nhưng không đáng kể. Kết quả tương tự đạt được khi sử dụng enzyme với các nồng độ khác nhau.



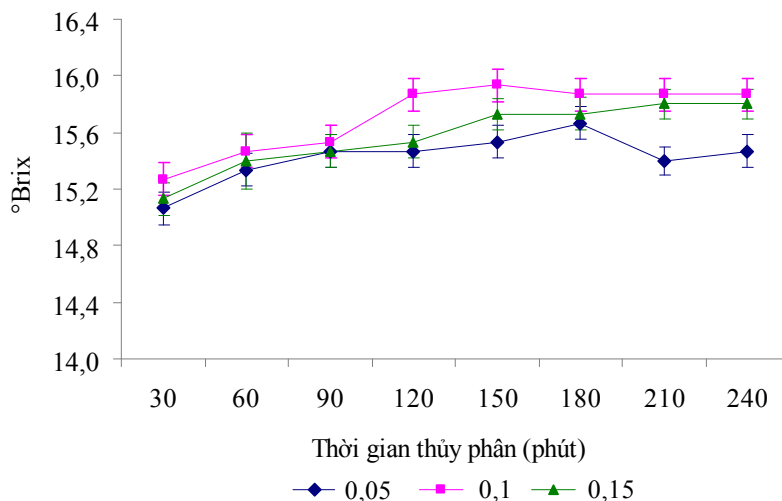
Hình 1: Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian thủy phân đến hàm lượng chất khô hòa tan của dịch thủy phân (nồng độ glucoamylase 0,15%)

Ghi chú: Các sai số thể hiện trên hình là độ lệch chuẩn (STD) của giá trị trung bình

Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian thủy phân (ở nhiệt độ thủy phân 65°C) đến hàm lượng chất khô hòa tan (%) được trình bày ở Hình 2. Kết quả khảo sát cho thấy khi nồng độ enzyme tăng trong thời gian đầu của quá trình thủy phân (từ 30 đến 120 phút) thì hàm lượng chất khô hòa tan tăng nhẹ. Tuy nhiên đến giai đoạn thủy phân tiếp theo (từ 120 đến 240 phút), hàm lượng chất khô hòa tan

trong dịch đường không tăng nữa. Đồng thời không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa nồng độ enzyme 0,1 và 0,15% sử dụng.

Kết quả tương tự đạt được khi thủy phân bằng glucoamylase ở các nhiệt độ thủy phân khác (60 và 70°C) (dữ liệu không đưa ra đầy đủ ở đây).



Hình 2: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme và thời gian thủy phân đến hàm lượng chất khô hòa tan của dịch thủy phân (nhiệt độ thủy phân 65°C)

Ghi chú: Các sai số thể hiện trên hình là độ lệch chuẩn (STD) của giá trị trung bình

3.2 Ảnh hưởng của các điều kiện thủy phân đến hàm lượng đường khử của dịch thủy phân

Trong quá trình thủy phân dịch tinh bột nếp, hàm lượng đường khử là thành phần quan

trọng chứng minh hiệu quả của enzyme glucoamylase sử dụng. Glucoamylase phá vỡ liên kết α -1,4-glycoside và tạo thành các phân tử glucose (Kennedy và White, 1985).

Kết quả thống kê thể hiện ở bảng ANOVA diễn tả sự biến đổi của hàm lượng đường khử (HLDK) phụ thuộc và có sự đóng góp của các nhân tố khác nhau. Với phân tích ý nghĩa thống kê của thí nghiệm 3 nhân tố, sự đóng góp của mỗi yếu tố được đo và thể hiện ở bảng Multiple Range Tests (đã loại bỏ ảnh hưởng của các yếu tố khác). Giá trị P kiểm tra ý nghĩa thống kê của từng nhân tố, khi giá trị này nhỏ hơn 0,05, cũng đồng nghĩa là những nhân tố này có sự tác động đáng kể vào HLDK ở mức độ tin cậy 95%.

3.2.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ

Tốc độ phản ứng của enzyme tăng giảm theo nhiệt độ, tuy nhiên sự tăng giảm này chỉ thể hiện trong một giới hạn nhiệt độ nhất định. Mỗi enzyme cũng chỉ có thể hoạt động tốt ở một trạng thái nhất định, trạng thái này phụ thuộc vào nhiệt độ, pH và sản phẩm của môi trường phản ứng (Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng, 2005). Kết quả thống kê ANOVA (Bảng 1) cho thấy khi tăng nhiệt độ từ 60 lên 65°C thì hàm lượng đường khử tăng có ý nghĩa. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng nhiệt độ lên 70°C thì hàm lượng đường khử giảm. Sự khác biệt đó chính là do hoạt tính enzyme đạt tối đa ở nhiệt độ 65°C và sẽ giảm hoạt tính nếu tăng nhiệt độ. Mặt khác, trong thí nghiệm này, enzyme sử dụng để thủy phân cơ chất có nguồn gốc từ nấm mốc *Aspergillus niger* có nhiệt độ tối ưu là 60-65°C (Hoàng Kim Anh và ctv., 2003). Vì vậy, kết quả thí nghiệm đã phản ánh đúng lý thuyết về ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình thủy phân của enzyme.

Bảng 1: Phân tích ANOVA (Multiple Range Tests) của hàm lượng đường khử (thông qua kiểm định Fisher's LSD) theo nhiệt độ thủy phân (nồng độ glucoamylase 0,05÷0,15% và thời gian thủy phân 30÷240 phút)

Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng đường khử (%)
60	*10,06 ^a
65	12,00 ^c
70	11,49 ^b

Ghi chú: *Giá trị trung bình của 72 số liệu đo được

Các chữ khác nhau đi kèm trung bình nghiệm thức trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ở mức độ 5%

3.2.2 Ảnh hưởng của nồng độ enzyme

Khi nồng độ cơ chất không đổi và tăng nồng độ enzyme thì ban đầu vận tốc phản ứng sẽ tăng nhanh do thừa cơ chất. Sau một thời gian thì nồng độ cơ chất và nồng độ enzyme bão hòa, lúc đó nếu tăng nồng độ enzyme thì vận tốc phản ứng vẫn không đổi. Sau một thời gian hoạt động, cơ chất bị

phân giải dần và giảm nồng độ nên tốc độ phản ứng không tăng lên nữa mà có khuynh hướng giảm dần hoặc ngừng hẳn khi gặp điều kiện bất lợi như sự thay đổi nồng độ sản phẩm, chất kim hãm, pH, nhiệt độ... (Nguyễn Trọng Cần và ctv., 1998). Kết quả thể hiện ở Bảng 2 cho thấy khi tăng nồng độ enzyme từ 0,05 lên 0,1% thì hàm lượng đường khử tăng dần. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ enzyme từ 0,1 lên 0,15% thì hàm lượng đường khử không thể hiện sự khác biệt ý nghĩa.

Bảng 2: Phân tích ANOVA (Multiple Range Tests) của hàm lượng đường khử (thông qua kiểm định Fisher's LSD) theo nồng độ glucoamylase sử dụng (nhiệt độ 60÷65°C, thời gian thủy phân 30÷240 phút)

Nồng độ enzyme (%)	Hàm lượng đường khử (%)
0,05	*10,24 ^a
0,1	11,64 ^b
0,15	11,68 ^b

Ghi chú: *Giá trị trung bình của 72 số liệu đo được

Các chữ khác nhau đi kèm trung bình nghiệm thức trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ở mức độ 5%

3.2.3 Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Bảng 3: Phân tích ANOVA (Multiple Range Tests) của hàm lượng đường khử (thông qua kiểm định Fisher's LSD) theo thời gian thủy phân (với nồng độ enzyme 0,05÷0,15% và nhiệt độ 60÷65°C)

Thời gian thủy phân (phút)	Hàm lượng đường khử (%)
30	*8,57 ^a
60	9,28 ^b
90	10,06 ^c
120	11,23 ^d
150	12,20 ^e
180	12,74 ^f
210	12,73 ^f
240	12,69 ^f

Ghi chú: *Giá trị trung bình của 27 số liệu đo được

Các chữ khác nhau đi kèm trung bình nghiệm thức trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ý nghĩa ở mức độ 5%

Theo Crabb và Colin (1997), tốc độ phản ứng sẽ tăng theo thời gian phản ứng do enzyme có thời gian để tiếp xúc với cơ chất. Thời gian kết thúc phản ứng được xác định khi tốc độ phản ứng xảy ra chậm hoặc dừng lại, tức là nồng độ sản phẩm tăng ít hoặc không tăng nữa. Ngoài ra, nhiệt độ tối ưu

còn phụ thuộc vào thời gian tác dụng. Thời gian tác dụng lâu sẽ làm giảm khả năng chịu nhiệt của enzyme, khi đó hoạt tính của enzyme sẽ giảm khi kéo dài thời gian phản ứng. Khi tăng thời gian thủy phân từ 30 đến 180 phút, kết quả cho thấy hàm lượng đường khử tăng lên đáng kể do enzyme dễ dàng tiếp xúc với cơ chất (Bảng 3). Nếu tiếp tục tăng thời gian thủy phân từ 180 đến 240 phút thì hàm lượng đường khử tạo thành không thể hiện sự khác biệt ý nghĩa (độ tin cậy 95%).

3.3 Tối ưu hóa quá trình thủy phân dịch tinh bột bắp bằng enzyme glucoamylase

Quá trình đường hóa cũng chịu ảnh hưởng quan trọng từ ba nhân tố nhiệt độ, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân. Như đã thảo luận, hàm lượng đường khử là chỉ số quan trọng để đánh giá năng lực thủy phân của enzyme glucoamylase, do vậy tối ưu hóa quá trình thủy phân với các thông số nhiệt độ, thời gian thủy phân và nồng độ enzyme nhằm chọn được các điều kiện kỹ thuật phù hợp cho quá trình thủy phân dịch tinh bột với hiệu quả cao nhất.

Trên cơ sở toàn bộ dữ liệu thu thập (với nhiệt độ thủy phân 60÷70°C, nồng độ enzyme glucoamylase 0,05÷0,15% và thời gian thủy phân 30÷240 phút), kết quả cho thấy có thể xây dựng mô hình hồi quy đa chiều diễn tả mối quan hệ giữa

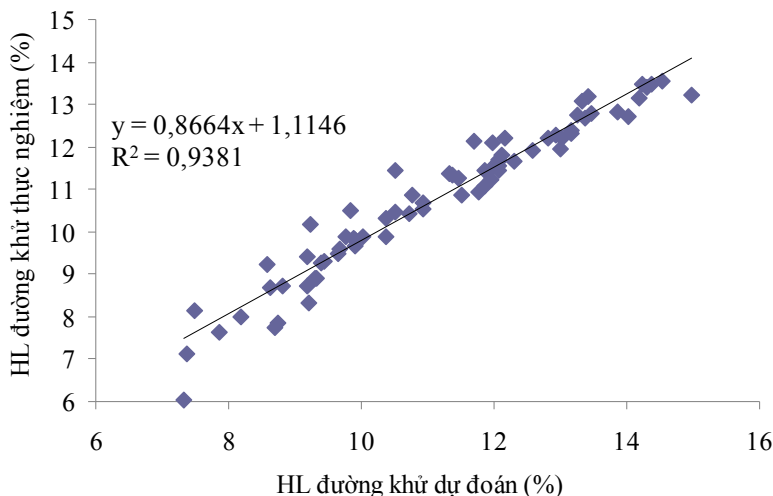
hàm lượng đường khử và các biến độc lập. Phương trình của mô hình được thiết lập (phương trình 2).

$$HLĐK (\%) = -218,578 + 6,632 x + 146,46 y + 0,0262 z - 0,0493 x^2 - 271,889 y^2 - 0,000096 z^2 - 1,234 xy + 0,0003 xz \quad (R^2 = 0,94) \quad (2)$$

Trong đó, HLĐK là hàm lượng đường khử (%), X là nhiệt độ thủy phân (°C), Y là nồng độ glucoamylase (%) và Z là thời gian thủy phân (phút).

Phân tích thống kê cho thấy các giá trị P của biến độc lập đều nhỏ hơn 0,05, cho thấy mức độ ý nghĩa cao của các thành phần này tham gia vào phương trình (dữ liệu không đưa ra đầy đủ ở đây). Trong đó chỉ có giá trị P của tương tác nồng độ (Y) và thời gian (Z) bằng 0,164 (lớn hơn 0,05), do đó biến này đã được rút ra khỏi phương trình. Hơn nữa, giá trị P của mô hình cũng nhỏ hơn 0,05 và R² = 0,94, càng khẳng định mức độ ý nghĩa và độ tin cậy của mô hình hồi quy đa chiều được thiết lập.

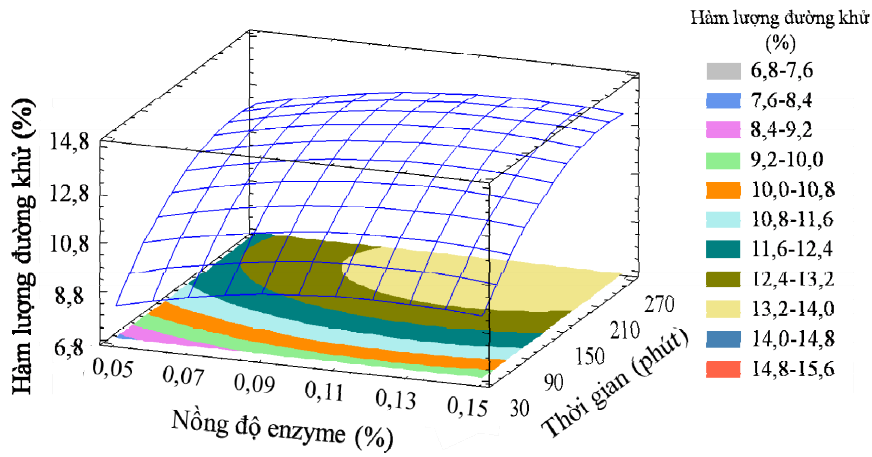
Trong khoảng nhiệt độ thủy phân 60÷70°C, nồng độ enzyme 0,05÷0,15% và thời gian thủy phân 30÷240 phút, hàm lượng đường khử được tính bằng cách thay giá trị X € (60÷70), Y € (0.05÷0.15) và Z € (30÷240), vào phương trình 2. Tương quan giữa hàm lượng đường khử theo mô hình dự đoán và hàm lượng đường khử thực nghiệm được tìm thấy (hệ số xác định tương quan R² = 0,938) (Hình 3).



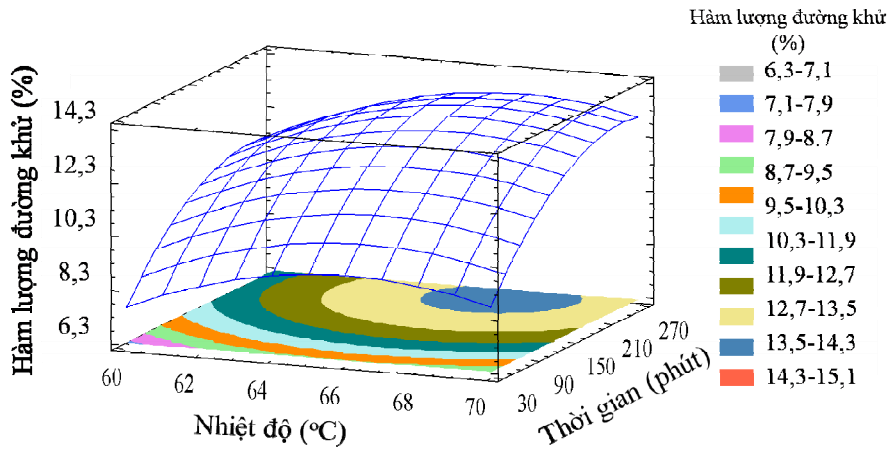
Hình 3: Tương quan giữa hàm lượng đường khử dự đoán và hàm lượng đường khử thực nghiệm (HL: hàm lượng)

Các mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa hàm lượng đường khử với (i) nồng độ glucoamylase và thời gian thủy phân (nhiệt độ 65°C), (ii) nhiệt độ và thời gian thủy phân (nồng độ

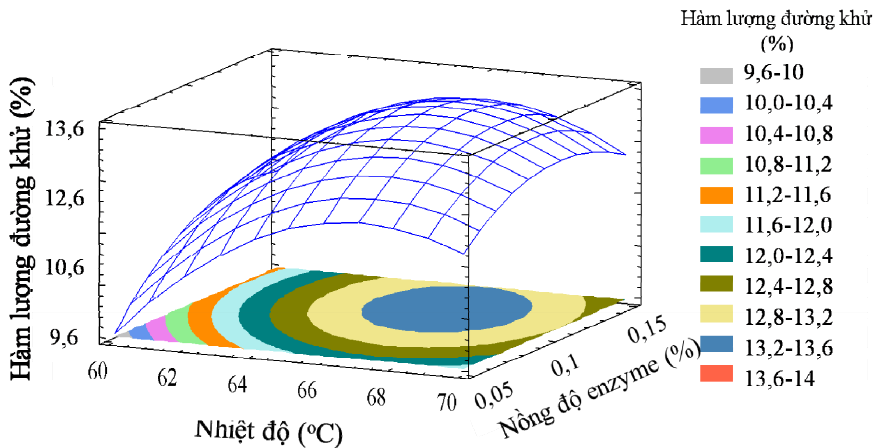
glucoamylase sử dụng 0,1%) và (iii) nhiệt độ và nồng độ glucoamylase sử dụng (thời gian thủy phân 180 phút) được biểu diễn tương ứng ở các Hình 4, 5 và 6.



Hình 4: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa hàm lượng đường khử trong dịch thủy phân với nồng độ glucoamylase và thời gian thủy phân (nhiệt độ 65°C)



Hình 5: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa hàm lượng đường khử trong dịch thủy phân với nhiệt độ và thời gian thủy phân (nồng độ glucoamylase sử dụng 0,1%)



Hình 6: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa hàm lượng đường khử trong dịch thủy phân với nhiệt độ và nồng độ glucoamylase sử dụng (thời gian thủy phân 180 phút)

Từ các mô hình bề mặt đáp ứng được xây dựng, có thể sử dụng phương pháp Explore Response Surface (từ chương trình STATGRAPHIC) để dò tìm nhanh các điểm tối ưu từ các đồ thị. Các điểm cao nhất được dò tìm từ các đồ thị bề mặt đáp ứng (khi cố định một nhân tố và chọn cặp nhân tố tương tác) được trình bày ở Bảng 4. Kết quả thu

nhận cho thấy hiệu quả thủy phân tối ưu của glucoamylase có thể đạt được (với hàm lượng đường khử của dịch đường cao nhất) khi thực hiện ở nhiệt độ 66,76°C, nồng độ enzyme sử dụng là 0,12% và thời gian thủy phân trong khoảng 237 đến 240 phút (tùy điều kiện sản xuất có thể chọn thời gian thích hợp).

Bảng 4: Các điểm tối ưu được dò tìm (khi cố định 1 nhân tố) từ chương trình STATGRAPHIC

Các cặp nhân tố tương tác	Nhân tố cố định	Điểm cao nhất dò được từ đồ thị	Số thứ tự hình	Hàm lượng đường khử (%)
Nồng độ enzyme và thời gian	Nhiệt độ (65°C)	0,12%; 237,42 phút	4	13,683
Nhiệt độ và thời gian	Nồng độ (0,1%)	66,76°C; 240 phút	5	13,702
Nhiệt độ và nồng độ enzyme	Thời gian (180 phút)	0,12%; 66,76°C	6	13,445

Kết quả đạt được từ thí nghiệm cũng tương tự kết quả nghiên cứu của Mot và Verachtert (1987) cho rằng enzyme glucoamylase thu được từ nấm men *Candida antarctica* CBS 6678 đạt được hoạt tính cao nhất ở 60-65°C. Ngoài ra, Kunamneni và Singh (2005), nhiệt độ và nồng độ tối ưu cho quá trình đường hóa của glucoamylase tương ứng là 54,9°C và 0,069 U/mg. Amyloglucosidase (EC 3.2.1.3) từ *Aspergillus niger* được sử dụng cho quá trình đường hóa tinh bột hạt xoài (*Mangifera indica* Linn). Mô hình bề mặt đáp ứng đã chỉ ra điều kiện tối ưu (cơ chất 137,5 mg; enzyme 12 mg, nhiệt độ 55°C) để thu được 0,4851 mg đường/mg cơ chất (Chowdary *et al.*, 2000).

4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy có thể thiết lập được tương quan tốt giữa hàm lượng đường khử tạo thành từ quá trình thủy phân dịch tinh bột bắp với nhiệt độ, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân (hệ số xác định tương quan cao). Mô hình bề mặt đáp ứng có thể được sử dụng để tối ưu hóa các điều kiện thủy phân dịch tinh bột bắp bằng enzyme glucoamylase. Hiệu quả thủy phân cao nhất đạt được khi sử dụng glucoamylase với nồng độ 0,12%, nhiệt độ 66,76°C và thời gian 237 đến 240 phút. Ở các điều kiện tối ưu được chọn, hàm lượng đường khử trong dịch đường đạt được là cao nhất (13,61±0,143%) sau quá trình thủy phân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chowdary, GV., Krishna, SH., & Rao, GH, 2000. Optimization of enzymatic hydrolysis of mango kernel starch by response surface methodology. *Bioprocess Engineering*, 23(6), 681-685.

2. Crabb W.D. and Colin M., 1997. Enzymes involved in the processing of starch to sugar. *Trend in Biotechnology*, Vol. 15, pp. 349-352.
3. Dương Minh, 2000. Hoa màu. Giáo trình môn học. Trường Đại học Cần Thơ.
4. Ejigui J., Savoie L., Marin J. *et al.*, 2007. Improvement of the nutritional quality of a traditional complementary porridge made of fermented yellow maize (*Zea mays*): effect of maize-legume combinations and traditional processing methods. *Food Nutr Bull*. Mar; 28(1):23-34.
5. Hoàng Kim Anh, Ngô Kế Sương, Nguyễn Xích Liên, 2003. Tính chất và khả năng thủy phân tinh bột sắn của một số amylase vi sinh vật. *Tạp chí Sinh học* 25 (2): 39-43.
6. Kennedy J.K. and White C.A., 1985. *Handbook of Enzyme Biotechnology* (ed. A. Wiseman). Chichester, UK: Ellis Horwood, pp. 147-207.
7. Kunamneni A. and Singh S., 2005. Response surface optimization of enzymatic hydrolysis of maize starch for higher glucose production. *Biochemical Engineering Journal*, 27(2), 179-190.
8. Miller G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3): 426-428.
9. Mot R.D., Verachtert H., 1987. Purification and characterization of extracellular α -amylase and glucoamylase from the yeast *Candida antarctica* CBS 6678. *European Journal of Biochemistry*, 164(3), pp. 643-654.

10. Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng, 2005. Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn ethylic. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
11. Nguyễn Đức Lượng, Cao Cường, Nguyễn Ánh Nguyệt, Lê Thị Thủy Tiên, Tạ Thu Hằng, Huỳnh Ngọc Oanh, Nguyễn Thủy Hương, Phan Thụy Huyền, 2004. Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
12. Nguyễn Trọng Cảnh, Nguyễn Thị Hiền, Đỗ Thị Hương Giang, Trần Thị Luyến, 1998. Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh.