



THU NHẬN DỊCH ĐƯỜNG GLUCOSE TỪ QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN CÁM GẠO (GIỐNG IR5451) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ENZYME

Trần Ngọc Liên¹ và Nguyễn Minh Thủy²

¹Khoa Công nghệ Thực phẩm và Công nghệ sinh học, Trường Đại học Kỹ thuật – Công nghệ Cần Thơ

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

Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2016

Ngày chấp nhận: 24/10/2016

Title:

Glucose syrup from rice bran (IR5451 rice variety) by enzyme hydrolysis process

Từ khóa:

Cám gạo, enzyme, tối ưu hóa, thủy phân, dịch đường glucose

Keywords:

Enzyme, glucose syrup, hydrolysis, optimization, rice bran

ABSTRACT

The effect of process variables was studied for maximum conversion efficiency of rice bran starch to glucose using crude amylase preparations. The liquefaction process (hydrolysis of starch from rice bran) was conducted at temperature range from 70 to 90°C during 5 to 15 minutes and α -amylase doses 0.75 to 1.25%. The saccharification by using glucoamylase doses 0.75 to 1.25%, temperatures range from 60 to 80°C for 90 to 150 minutes. Full factorial experimental design and response surface methodology (RSM) were used in the design of experiments and analysis of results. It was observed that RSM was meaningful and satisfactory conditions based on 81 experimental units in each hydrolysis step. The predicted model for the lowest viscosity (14,82 cP) and the highest soluble solid content (13,37°Brix) was obtained at the optimal hydrolysis conditions (temperature of 90°C, α -amylase dose 1,17% and 13,36 min of hydrolysis). Reducing sugar content reached optimal efficiency (9,52%) by glucoamylase dose 1% at temperature and hydrolysis time of 73,85°C and 137,52 minutes, respectively.

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định phương pháp xử lý thích hợp để sản xuất dịch đường glucose từ cám gạo theo phương pháp thủy phân bằng enzyme. Tác động của các biến cho tiến trình khác nhau đã được nghiên cứu để thu được hiệu quả chuyển đổi tối đa từ tinh bột cám gạo thành dịch đường glucose bằng biện pháp sử dụng các chế phẩm amylase. Quá trình dịch hóa tinh bột được tiến hành ở nhiệt độ từ 70 - 90°C trong 5 - 15 phút và lượng α -amylase 0,75 - 1,25%. Quá trình đường hóa sử dụng glucoamylase với hàm lượng 0,75 - 1,25%, nhiệt độ thủy phân dao động từ 60 đến 80°C trong 90 - 150 phút. Phương pháp thừa số và bề mặt đáp ứng (RSM) được sử dụng trong thiết kế thí nghiệm và phân tích kết quả. Quan sát cho thấy, RSM là phương pháp có ý nghĩa và thỏa đáng dựa trên 81 đơn vị thử nghiệm trong mỗi bước thủy phân. Mô hình dự báo cho độ nhớt thấp nhất (14,82 cP) và giá trị tổng chất khô hòa tan cao nhất (13,37°Brix) đạt được ở các điều kiện thủy phân tối ưu (nhiệt độ 90°C, α -amylase 1,17% và 13,36 phút thủy phân). Hàm lượng đường khử đạt tối ưu (9,52%) với lượng glucoamylase 1% ở nhiệt độ và thời gian thủy phân là 73,85°C và 137,52 phút, tương ứng.

Trích dẫn: Trần Ngọc Liên và Nguyễn Minh Thủy, 2016. Thu nhận dịch đường glucose từ quá trình thủy phân cám gạo (giống IR5451) bằng phương pháp enzyme. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 1): 113-121.

1 GIỚI THIỆU

Sản lượng cám gạo ở Đồng bằng sông Cửu Long gia tăng đáng kể, ước tính mỗi năm có khoảng 4 triệu tấn cám gạo được tạo ra từ hoạt động xay xát, là nguồn nguyên liệu có giá trị dinh dưỡng khá cao nhưng giá bán sản phẩm lại thấp. Cám gạo chủ yếu được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi cho gia súc, gia cầm, tôm cá. Một phần cám gạo dùng để trích ly dầu cám khoảng 7,5%. Cám gạo có màu nâu thu được trong quá trình xay xát lúa gạo. Cám gạo có chứa dầu khoảng 20%, 15% protein, và khoảng 50% carbohydrate, trong đó tinh bột là thành phần chính (Hernandez *et al.*, 2000). Dù có hàm lượng carbohydrate cao như vậy nhưng nguồn nguyên liệu này chưa bao giờ được đề xuất như là nguồn của các loại đường (Sfalcin *et al.*, 2015).

Gần đây đã có nhiều nghiên cứu về việc sử dụng nguyên liệu cám gạo này trong các lĩnh vực ngoài chăn nuôi như: nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết cám gạo đến hoạt tính của vi khuẩn probiotics (Hoàng Văn Tuấn *và ctv.*, 2013), nghiên cứu thu nhận xylooligosaccharide (XOS) từ cám gạo bằng công nghệ enzyme (Trần Thị Nhung *và ctv.*, 2013). Phụ phẩm cám gạo có thể được sử dụng làm nguyên liệu để sản xuất dịch đường glucose (Sfalcin *et al.*, 2015) và cũng ít nghiên cứu thiết kế sử dụng enzyme cho quá trình thủy phân tinh bột từ cám gạo. Phương pháp thủy phân sử dụng xúc tác enzyme có khả năng cho hiệu suất thu hồi đường cao hơn (Hoàng Hường Quý *và ctv.*, 1986). Tuy nhiên, dịch đường glucose ở nước ta hiện nay chủ yếu được sản xuất từ tinh bột sắn. Nghiên cứu tận dụng nguồn nguyên liệu cám gạo để sản xuất dịch đường glucose hứa hẹn sẽ làm tăng giá trị và góp phần khai thác nguồn phụ phẩm cám gạo một cách hiệu quả hơn. Công việc thực hiện trong nghiên cứu này nhằm đánh giá sự hỗ trợ tích cực của các enzyme cho quá trình thủy phân cám gạo để có được dịch đường glucose. Với mục đích này, các biến như nhiệt độ, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân của hệ enzyme amylase được đánh giá trong quá trình thủy phân tinh bột (cả hai tiến trình dịch hóa và đường hóa) từ nguồn cám gạo được thu nhận.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu

Cám gạo của giống lúa IR5451 được cung cấp bởi Công ty Lương thực sông Hậu (Cần Thơ). Enzyme α -amylase (132,5 Unit/gram) được sản xuất bởi chủng *Bacillus Licheniformis* - hãng Novozymes. Nhiệt độ hoạt động 90 - 105°C, pH thích hợp 5,8 - 8. Enzyme glucoamylase (Novozyme, Amyloglucosidase 296,5 Unit/gram).

Nhiệt độ tối thích khoảng 70°C và pH tối thích khoảng 4,0.

2.2 Phương pháp thực hiện

Cám gạo được hòa với nước theo tỷ lệ tương ứng 1: 5 (sử dụng 300 g cám gạo hòa với 1.500 mL nước). Thực hiện hồ hóa hỗn hợp ở nhiệt độ 90°C trong 10 phút và tiếp tục dịch hóa hỗn hợp bằng enzyme 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 chất khô hòa tan, độ nhớt và hàm lượng đường khử của mẫu sau khi xử lý được phân tích. Thí nghiệm được bố trí với 3 nhân tố trong quá trình dịch hóa: nhiệt độ thủy phân: 70, 80 và 90°C, nồng độ α -amylase sử dụng: 0,75, 1,00 và 1,25% và thời gian thủy phân thay đổi 5, 10, 15 phút. Tiếp theo quá trình dịch hóa, đường hóa được bố trí thí nghiệm với 3 nhân tố: nồng độ glucoamylase: 0,75, 1,00 và 1,25%, nhiệt độ thủy phân 60, 70 và 80°C, thời gian thủy phân thay đổi 90 đến 150 phút.

2.3 Phương pháp phân tích

Độ ẩm (%): thực hiện phương pháp sấy mẫu ở 105°C đến khối lượng không đổi (TCVN 4326: 2001).

Hàm lượng protein (%): phân tích theo phương pháp chung cất đạm Kjeldahl (TCVN 4328: 2007).

Hàm lượng lipid (%): phương pháp phân tích hàm lượng béo trong mẫu dạng rắn bằng phương pháp Soxhlet (TCVN 4331: 2001).

Hàm lượng đường khử: xác định bằng phương pháp sử dụng acid dinitrosalicylic (DNS) (Miller, 1959).

Hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix): xác định bằng chiết quang kế Atago (Nhật Bản).

Độ nhớt của dịch thủy phân: đo bằng máy đo độ nhớt Brookfield (USA), đầu đo số 3, tốc độ quay 50 vòng/phút.

2.4 Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Excel và STATGRAPHIC Centurion XVI.I để tính toán, thống kê số liệu và vẽ đồ thị.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thành phần chính của cám gạo

Thành phần nguyên liệu là một trong các yếu tố quan trọng quyết định chất lượng sản phẩm. Phân tích thành phần hóa học của nguyên liệu giúp lựa chọn phương pháp chế biến phù hợp. Dễ dàng nhận thấy hàm lượng tinh bột còn sót lại trong cám gạo khá cao (56,4%) là nguồn cơ chất tốt cho quá trình thủy phân tinh bột bằng enzyme amylase (Bảng 1)

Bảng 1: Thành phần hóa học của cám gạo sau lau bóng

| Độ ẩm (%) | Tinh bột (%) | Lipid (%) | Protein (%) | Xơ (%) |
|------------|--------------|-------------|-------------|------------|
| 12,4±0,05* | 56,4±0,305 | 12,10±0,159 | 14,40±0,030 | 1,66±0,021 |

*Độ lệch chuẩn (Standard Deviation) của giá trị trung bình

3.2 Ảnh hưởng của các nhân tố khảo sát đến quá trình dịch hóa cám gạo bằng enzyme α -amylase

3.2.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ

Sự gia tăng nhiệt độ trong một giới hạn nhất định sẽ làm cho tốc độ thủy phân tinh bột tăng lên. Mức độ tấn công của enzyme α -amylase vào cơ chất tinh bột tăng với nhiệt độ ở một mức độ tùy thuộc vào nguồn gốc của enzyme đó (Bijttebier *et al.*, 2007). Kết quả khảo sát được trình bày ở Bảng 2 cho thấy, hàm lượng chất khô hòa tan tăng và độ nhớt giảm sau khi dịch hóa bằng enzyme α -amylase khi nhiệt độ tăng. Dưới tác dụng của nhiệt độ, chuỗi hydrocarbon của tinh bột tháo xoắn duỗi thẳng ra, enzyme có thể dễ dàng cắt cơ chất tinh bột thành các dextrin. Sự hình thành các dextrin phân tử thấp làm cho hàm lượng chất khô hòa tan tăng và độ nhớt giảm. Enzyme α -amylase sử dụng cho phản ứng thủy phân có nguồn gốc từ vi khuẩn nên khả năng chịu nhiệt cao so với các nguồn khác. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Hernandez *et al.* (2000), trong quá trình dịch hóa sử dụng enzyme α -amylase có nguồn gốc từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis*, kết quả sẽ tối ưu khi thủy phân cám gạo ở nhiệt độ 90°C, tỷ lệ cám gạo và nước là 1:5.

Bảng 2: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng chất khô hòa tan và độ nhớt (nồng độ enzyme từ 0,75 - 1,25%, thời gian thủy phân từ 5 - 15 phút)

| Nhiệt độ (°C) | Hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix) | Độ nhớt (cP) |
|---------------|------------------------------------|--------------------|
| 70 | *11,67 ^c | 20,17 ^a |
| 80 | 12,53 ^b | 18,92 ^b |
| 90 | 13,04 ^a | 17,35 ^c |

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% ảnh hưởng của nồng độ enzyme α -amylase

Trong điều kiện nồng độ cơ chất thích hợp thì vận tốc phản ứng tuyến tính với nồng độ enzyme. Tuy nhiên khi nồng độ enzyme tăng đến một giới hạn thì tốc độ phản ứng không tăng lên nữa. Ban đầu tốc độ phản ứng tăng do môi trường thừa cơ chất. Sau một thời gian, cơ chất bị phân giải dần và giảm nồng độ nên tốc độ phản ứng không tăng lên nữa (Nguyễn Trọng Căn và *ctv.*, 1998). Khi sử dụng enzyme α -amylase với nồng độ tăng dần thì hàm lượng chất khô hòa tan tăng và độ nhớt giảm.

Khi sử dụng nồng độ enzyme 0,75%, hàm lượng chất khô hòa tan thấp và độ nhớt cao khác biệt ý nghĩa đối với nồng độ enzyme 1,00% và 1,25% (Bảng 3).

Bảng 3: Ảnh hưởng của nồng độ enzyme α -amylase đến hàm lượng chất khô hòa tan và độ nhớt (nhiệt độ thủy phân từ 70 - 90°C, thời gian thủy phân từ 5 - 15 phút)

| Nồng độ (%) | Hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix) | Độ nhớt (Cp) |
|-------------|------------------------------------|--------------------|
| 0,75 | *12,17 ^b | 20,34 ^a |
| 1,00 | 12,53 ^a | 17,85 ^b |
| 1,25 | 12,54 ^a | 17,24 ^b |

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%

3.2.2 Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Thời gian thủy phân càng kéo dài thì phản ứng càng xảy ra triệt để và đạt thông số kỹ thuật cao (Nguyễn Trọng Căn và *ctv.*, 1998). Tuy nhiên với một lượng cơ chất nhất định, phản ứng thủy phân của enzyme đến một giai đoạn nào đó thì khả năng xúc tác sẽ giảm. Enzyme tạo ái lực với các sản phẩm tạo thành của phản ứng và cơ chất, các sản phẩm sinh ra đóng vai trò như chất kim hãm không cạnh tranh và kim hãm hoạt động của enzyme (Nguyễn Đức Lượng và *ctv.*, 2004). Thời gian thủy phân cũng ảnh hưởng có ý nghĩa đến hàm lượng chất khô hòa tan và độ nhớt (Bảng 4). Hàm lượng chất khô hòa tan tăng và độ nhớt giảm có ý nghĩa khi thời gian thủy phân tăng từ 5 đến 10 phút. Tuy nhiên ở thời gian 15 phút thì hàm lượng chất khô hòa tan tăng và độ nhớt vẫn giảm nhưng không khác biệt ý nghĩa so với 10 phút cao.

Bảng 4: Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hàm lượng chất khô hòa tan và độ nhớt (nhiệt độ thủy phân từ 70 - 90°C, nồng độ enzyme từ 0,75 - 1,25%)

| Thời gian thủy phân (phút) | Hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix) | Độ nhớt (cP) |
|----------------------------|------------------------------------|--------------------|
| 5 | *12,19 ^b | 19,76 ^a |
| 10 | 12,47 ^{ab} | 18,21 ^b |
| 15 | 12,58 ^a | 17,46 ^b |

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%

3.3 Tối ưu hóa quá trình dịch hóa cám gạo bằng enzyme α -amylase dựa trên nhiệt độ, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân

3.3.1 Hàm lượng chất khô hòa tan

Trên cơ sở bố trí thí nghiệm các nhân tố nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$), nồng độ enzyme (%) và thời gian thủy phân (phút), tương quan của các biến độc lập (nhân tố) đến hàm lượng chất khô hòa tan được thiết lập với hệ số xác định tương quan cao ($R^2 = 0,94$) (phương trình 1).

$$\text{CK} (^{\circ}\text{Brix}) = -9,3864 + 0,3557 X_1 + 7,4593 X_2 + 0,1696 X_3 - 0,0018 X_1^2 - 3,0519 X_2^2 - 0,0034 X_3^2 - 0,0622 X_2 X_3 \quad (R^2 = 0,94) \quad (1)$$

Trong đó: CK là hàm lượng chất khô hòa tan ($^{\circ}\text{Brix}$), X_1 là nhiệt độ ($70 - 90^{\circ}\text{C}$), X_2 là nồng độ enzyme ($0,75 - 1,25\%$) và X_3 là thời gian thủy phân ($5 - 15$ phút).

Phân tích thống kê cho thấy, các giá trị P của các nhân tố đều nhỏ hơn $0,05$ thể hiện mức độ ý nghĩa cao của các thành phần này khi tham gia vào phương trình. Trong đó, giá trị P của tương tác

nhiệt độ (X_1) và nồng độ (X_2) bằng $0,4610$, giá trị P của tương tác nhiệt độ (X_1) và thời gian (X_3) bằng $0,2932$ (lớn hơn $0,05$), do đó hai nhân tố này đã được rút ra khỏi phương trình.

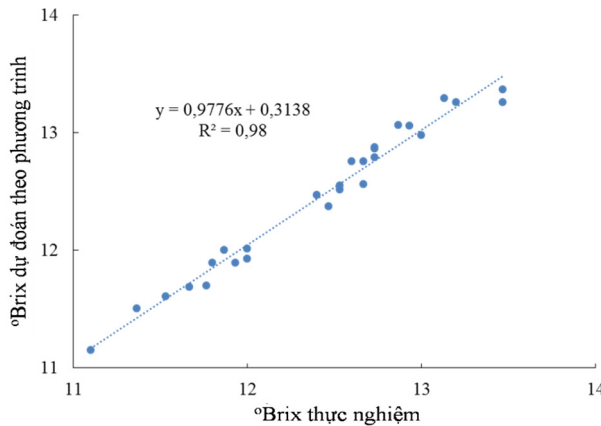
Phương trình 1 được kiểm định nhằm xác định sự tương thích của mô hình dự đoán và dữ liệu thực nghiệm. Phương trình 2 được thiết lập để diễn tả sự tương thích giữa các dữ liệu đường khử thực nghiệm và dự đoán. Với hệ số xác định tương quan khá cao ($R^2=0,98$) (Hình 1) với $Y = 0,9776 X + 0,3138$ (2)

Ở nhiệt độ 90°C , biểu đồ bề mặt đáp ứng thể hiện sự ảnh hưởng của nồng độ enzyme (%) và thời gian thủy phân (phút) đến hàm lượng chất khô hòa tan ($^{\circ}\text{Brix}$) (Hình 2).

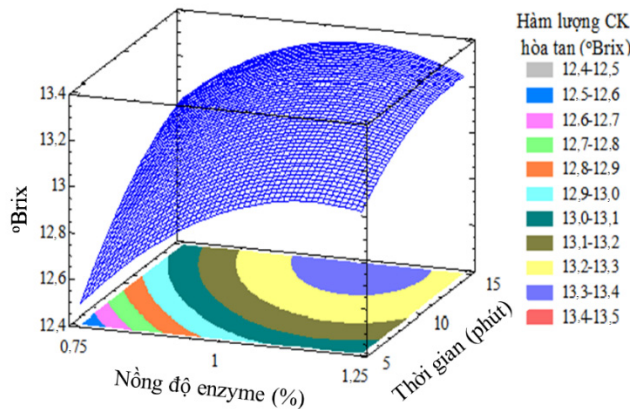
Khi thay giá trị nhiệt độ 90°C vào phương trình 1 thu nhận được phương trình 3.

$$\text{CK}' = 8,0802 + 7,4593 X_2 + 0,1696 X_3 - 3,0519 X_2^2 - 0,0034 X_3^2 - 0,0622 X_2 X_3 \quad (3)$$

Với X_2 là nồng độ enzyme ($0,75 - 1,25\%$) và X_3 là thời gian thủy phân ($5 - 15$ phút).



Hình 1: Tương thích giữa hàm lượng chất khô hòa tan dự đoán và thực nghiệm



Hình 2: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của nồng độ enzyme và thời gian đến hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch thủy phân (nhiệt độ 90°C)

Lấy đạo hàm phương trình 3 theo biến X_2 và X_3 , sau đó lần lượt cho $CK'_{X_2}=0$ và $CK'_{X_3}=0$

$CK'_{X_2} = 7,4593 - 6,1037 X_2 - 0,0622 X_3 = 0$;
 $CK'_{X_3} = 0,1696 - 0,0068X_3 - 0,0622 X_2 = 0$. Giải hệ phương trình trên, ta được $X_2 = 1,07 \%$ và $X_3 = 15,18$ phút.

3.3.2 Độ nhớt

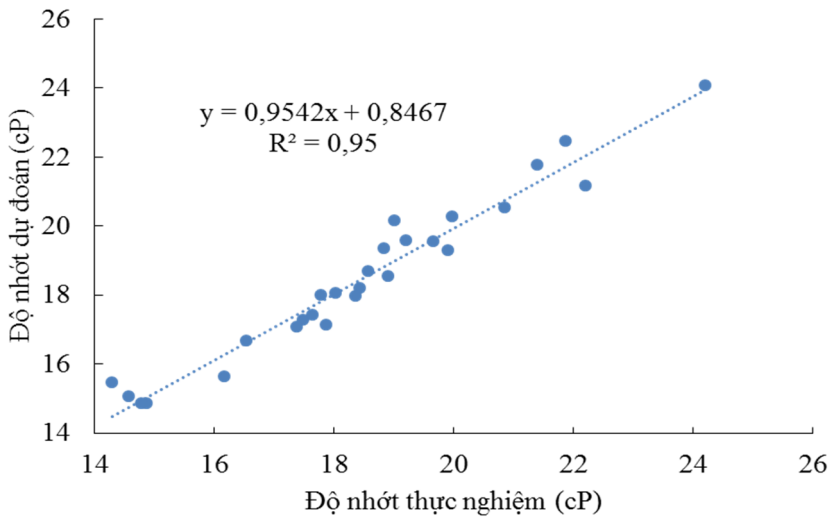
Xây dựng phương trình hồi quy đa chiều thể hiện sự ảnh hưởng của nhiệt độ ($^{\circ}C$), nồng độ enzyme (%), thời gian thủy phân (phút) đến độ nhớt được thiết lập với hệ số xác định tương quan cao ($R^2=0,93$)

$$N (cP) = 24,9167 + 0,7950 X_1 - 39,4474 X_2 - 1,4147 X_3 - 0,0066 X_1^2 + 14,9867 X_2^2 + 0,0156 X_3^2 + 0,3276 X_2X_3 + 0,0068 X_1X_3 \quad (4)$$

Trong đó: N là độ nhớt (cP), X_1 là nhiệt độ ($70 - 90^{\circ}C$), X_2 là nồng độ enzyme ($0,75 - 1,25\%$) và X_3 là thời gian thủy phân ($5 - 15$ phút).

Phân tích thống kê các hệ số của nhân tố cho thấy các giá trị P của $X_1, X_2, X_3, X_1^2, X_2^2, X_3^2, X_1X_3, X_2X_3$ đều nhỏ hơn $0,05$, cho thấy mức độ ý nghĩa của các nhân tố khảo sát đến độ nhớt dịch thủy phân.

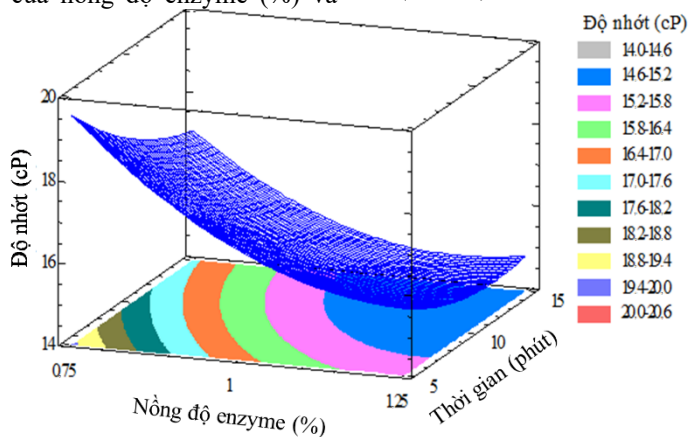
Trong khoảng nhiệt độ thủy phân $70 - 90^{\circ}C$, nồng độ enzyme $0,75 - 1,25\%$ và thời gian thủy phân $5 - 15$ phút, độ nhớt dự đoán được tính bằng cách thay giá trị $X_1 \in (70 - 90)$, $X_2 \in (0,75 - 1,25)$ và $X_3 \in (5 - 15)$ vào phương trình 4. Sự tương thích giữa độ nhớt dự đoán và độ nhớt thực nghiệm được tìm thấy (hệ số xác định tương quan khá cao $R^2=0,95$) (Hình 3).



Hình 3: Tương thích giữa độ nhớt dự đoán và thực nghiệm

Ở nhiệt độ $90^{\circ}C$, biểu đồ bề mặt đáp ứng thể hiện sự ảnh hưởng của nồng độ enzyme (%) và

thời gian thủy phân (phút) đến độ nhớt (cP) (Hình 4).



Hình 4: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện ảnh hưởng của nồng độ enzyme và thời gian đến độ nhớt của dịch thủy phân (nhiệt độ $90^{\circ}C$)

Khi thay giá trị nhiệt độ 90°C vào phương trình 4, thu nhận được phương trình 5.

$$N \text{ (cP)} = 43,089 - 39,447 X_2 - 0,80 X_3 + 14,987 X_2^2 + 0,016 X_3^2 + 0,328 X_2 X_3 \quad (5)$$

Với X_2 là nồng độ enzyme (0,75 - 1,25%) và X_3 là thời gian thủy phân (5 - 15 phút).

Lấy đạo hàm phương trình 5 theo biến X_2 và X_3 , sau đó lần lượt cho $DK'_{X_2}=0$ và $DK'_{X_3}=0$

$$DK'_{X_2} = -39,4474 + 29,9734 X_2 + 0,3276 X_3 = 0$$

$$DK'_{X_3} = -0,8002 + 0,0312 X_3 + 0,3276 X_2 = 0$$

Giải hệ phương trình trên ta được $X_2 = 1,17\%$ và $X_3 = 13,36$ phút.

Như vậy, với các điều kiện kỹ thuật tối ưu được chọn lựa, nồng độ enzyme α -amylase từ 1,07 đến 1,17% được sử dụng cho quá trình thủy phân ở nhiệt độ 90°C trong thời gian từ 13,36 đến 15,18 phút sẽ cho dịch thủy phân đạt được hàm lượng chất khô hòa tan cao nhất (13,37 °Brix), cùng với độ nhớt của dịch thủy phân đạt được tương đối thấp (14,82 cP).

3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân đến quá trình đường hóa cám gạo bằng enzyme glucoamylase

3.4.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ

Trong các phản ứng sinh học, khi nhiệt độ tăng, khả năng xúc tác của enzyme sẽ tăng. Tuy nhiên, do bản chất enzyme là protein không bền nhiệt nên khả năng của tốc độ phản ứng có một giới hạn nhất định, quá giới hạn đó tốc độ phản ứng sẽ giảm (Nguyễn Đức Lượng và ctv., 2004). Kết quả khảo sát được trình bày ở Bảng 5 cho thấy khi tăng nhiệt độ từ 60°C lên 70°C thì hàm lượng đường khử tăng có ý nghĩa. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng nhiệt độ lên 80°C thì hàm lượng đường khử giảm. 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 khoảng 70°C (Kunamneni và Singh, 2005).

Bảng 5: Kết quả thống kê ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng đường khử (nồng độ enzyme từ 0,75 - 1,25%, thời gian thủy phân từ 90 - 150 phút)

| Nhiệt độ (°C) | Hàm lượng đường khử (%) |
|---------------|-------------------------|
| 60 | *6,79 ^b |
| 70 | 8,30 ^a |
| 80 | 8,10 ^a |

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%

3.4.2 Ảnh hưởng của nồng độ enzyme

Trong trường hợp cơ chất cố định và nồng độ enzyme tăng dần, ban đầu tốc độ phản ứng sẽ tăng nhanh do môi trường thừa cơ chất. Sau một thời gian, 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 (Nguyễn Trọng Cần và ctv., 1998). Kết quả khảo sát cho thấy khi tăng nồng độ enzyme từ 0,75 lên 1,00% thì hàm lượng đường khử tăng dần (Bảng 6). Tuy nhiên khi tăng nồng độ enzyme từ 1,00% lên 1,25% thì hàm lượng đường khử không thể hiện sự khác biệt ý nghĩa.

Bảng 6: Kết quả thống kê ảnh hưởng của nồng độ enzyme glucoamylase đến hàm lượng đường khử (nhiệt độ thủy phân từ 60 - 80°C, thời gian thủy phân từ 90 - 150 phút)

| Nồng độ enzyme (%) | Hàm lượng đường khử (%) |
|--------------------|-------------------------|
| 0,75 | *7,02 ^b |
| 1,00 | 8,11 ^a |
| 1,25 | 8,05 ^a |

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%

3.4.3 Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

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. Khi tăng thời gian thủy phân từ 90 đến 120 phút, hàm lượng đường khử sẽ tăng lên đáng kể do enzyme dễ dàng tiếp xúc với cơ chất (Bảng 7). Nếu tiếp tục tăng thời gian thủy phân từ 120 đến 150 phút thì hàm lượng đường khử tạo thành không thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa.

Bảng 7: Kết quả thống kê ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hàm lượng đường khử (nhiệt độ từ 60 - 80°C, nồng độ enzyme từ 0,75 - 1,25%)

| Thời gian thủy phân (phút) | Hàm lượng đường khử (%) |
|----------------------------|-------------------------|
| 90 | *6,66 ^b |
| 120 | 8,20 ^a |
| 150 | 8,32 ^a |

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%

3.5 Tối ưu hóa quá trình đường hóa cám gạo bằng enzyme glucoamylase

Trên cơ sở toàn bộ dữ liệu thu thập (với nhiệt độ thủy phân 60 - 80°C, nồng độ enzyme

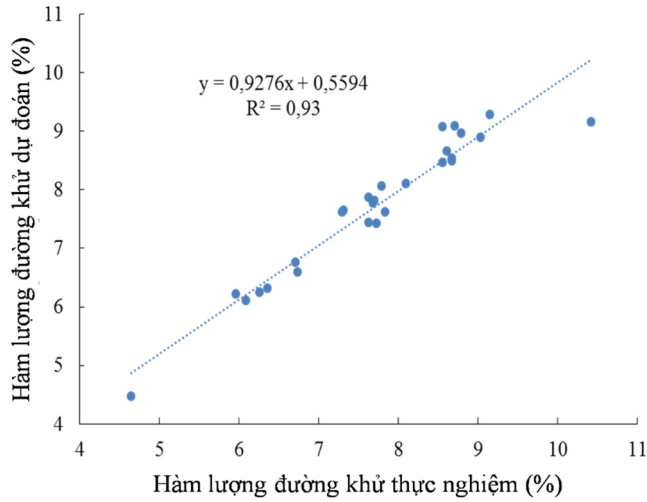
glucoamylase 0,75 - 1,25% và thời gian thủy phân 90 - 150 phút). Phương trình hồi quy đa chiều thể hiện sự tương quan giữa hàm lượng đường khử và các nhân tố được thiết lập (phương trình 6).

$$HLĐK (\%) = -74,8184 + 1,3547 X_1 + 32,1448 X_2 + 0,2584 X_3 - 0,0085 X_1^2 - 9,2770 X_2^2 - 0,0008 X_3^2 - 0,093 X_1X_2 - 0,0412 X_2X_3 \quad (R^2 = 0,92) \quad (6)$$

Trong đó: HLĐK là hàm lượng đường khử (%),

X_1 là nhiệt độ ($^{\circ}C$), X_2 là nồng độ enzyme (%) và X_3 là thời gian thủy phân (phút).

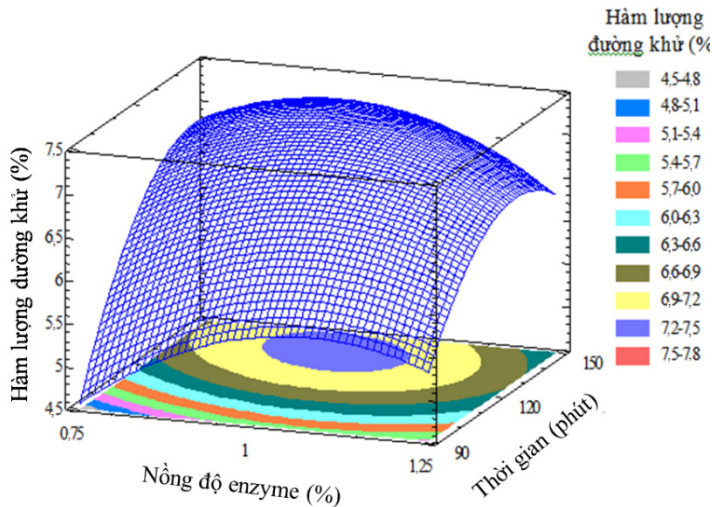
Phân tích thống kê cho thấy các giá trị P của nhân tố độc lập đều nhỏ hơn 0,05, do đó thể hiện mức độ ý nghĩa cao của các thành phần này khi tham gia vào phương trình. Trong đó, chỉ có giá trị P của tương tác thời gian (X_1) và thời gian (X_3) bằng 0,4003 (lớn hơn 0,05), do đó biến này đã được rút ra khỏi phương trình.



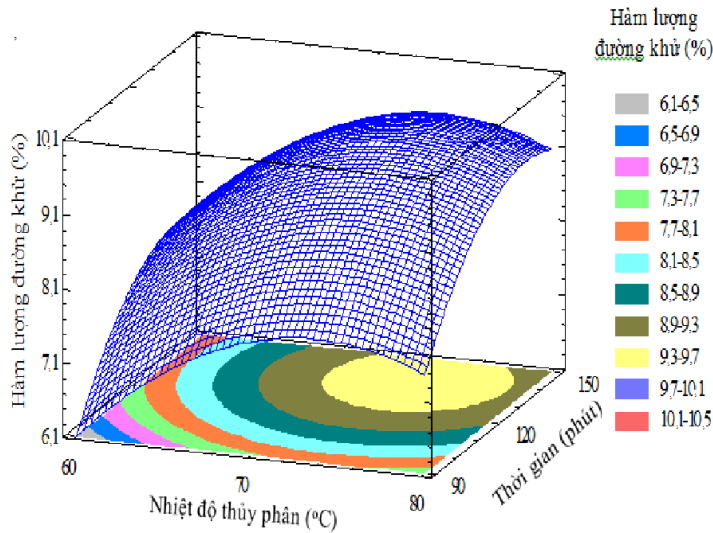
Hình 5: Tương thích giữa hàm lượng đường khử dự đoán và thực nghiệm (%)

Trong khoảng nhiệt độ thủy phân 60 - 80 $^{\circ}C$, nồng độ enzyme 0,75 - 1,25% và thời gian thủy phân 90 - 150 phút, hàm lượng đường khử được tính bằng cách thay giá trị $X_1 \in (60-80)$, $X_2 \in (0,75-1,25)$ và $X_3 \in (90-150)$ vào phương trình 6. Sự tương thích 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 khá cao $R^2=0,93$) (Hình 5).

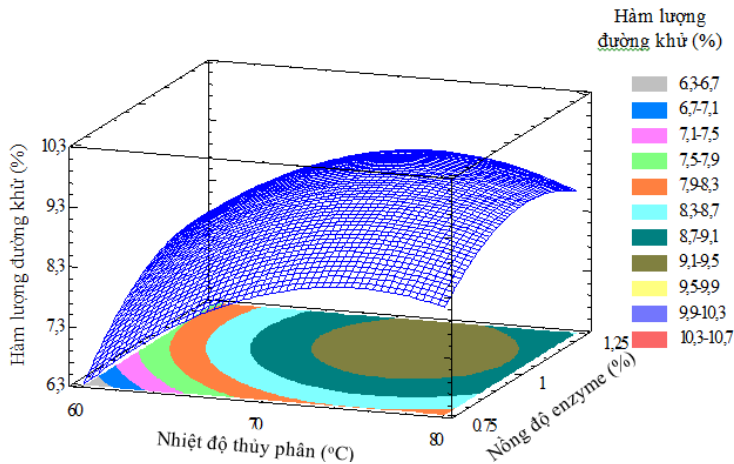
Các mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa hàm lượng đường khử với (i) nồng độ glucoamylase và thời gian thủy phân (nhiệt độ 70 $^{\circ}C$), (ii) nhiệt độ và thời gian thủy phân (nồng độ glucoamylase sử dụng 1,00%), (iii) nhiệt độ và nồng độ glucoamylase sử dụng (thời gian thủy phân 120 phút) được biểu diễn tương ứng ở các Hình 6, 7 và 8.



Hình 6: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa hàm lượng đường khử trong dịch thủy phân với nồng độ enzyme và thời gian thủy phân (nhiệt độ 70 $^{\circ}C$)



Hình 7: 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 1%)



Hình 8: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện tương quan giữa hàm lượng đường khử trong dịch thủy phân với nhiệt độ thủy phân và nồng độ enzyme glucoamylase sử dụng (thời gian thủy phân 120 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 8**. 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 khử ở nhiệt độ trong khoảng 73,34 đến 73,85°C, nồng độ enzyme sử dụng trong khoảng 0,97 đến 1,09% và thời gian thủy phân trong khoảng 137,52 đến 138,33 phút (tùy điều kiện sản xuất có thể chọn điều kiện thủy phân thích hợp).

Bảng 8: 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 (70°C) | 0,97%; 138,33 phút | 6 | 9,350 |
| Nhiệt độ và thời gian | Nồng độ (1,00%) | 73,85°C; 137,52 phút | 7 | 9,524 |
| Nhiệt độ và nồng độ enzyme | Thời gian (120 phút) | 73,34°C; 1,09% | 8 | 9,362 |

4 KẾT LUẬN

Mô hình bề mặt đáp ứng có thể được sử dụng để tối ưu hóa các điều kiện thủy phân dịch tinh bột cám gạo bằng hệ enzyme amylase nhằm thu hồi hàm lượng đường trong cám một cách có hiệu quả. Dịch đường glucose có thể là sản phẩm hữu dụng và được sử dụng cho các mục đích khác nhau trong ngành công nghệ thực phẩm. Kết quả thu nhận có thể được áp dụng ở các quy mô sản xuất nhằm tận dụng tối đa nguồn cám gạo phổ biến trong nước, đặc biệt ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bijttebier, A., Goesaert, H. and Delcour, J. A., 2008. Amylase action pattern on starch polymers. *Biologia* 63/6: 989-999, 2008 Section Cellular and Molecular Biology.

Crabb, W.D. and Colin, M., 1997. Enzymes involved in the processing of starch to sugar. *Trend in Biotechnology*, Vol. 15, pp. 349-352.

Hernandez, N., Rodriguez-Alegria, M.E., Gonzalez, F. and Lopez-Munguia, A., 2000. Enzymatic treatment of rice bran to improve processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Springer Berlin. Volume 77. Number 2. p. 177-180.

Hoàng Hương Quỳnh, Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Minh Hạnh, Nguyễn Bích Liên, Mai Thu Hiền, Phan Mỹ Từ, Vũ Kim Dung và Đỗ Thị Loan, 1986. Nghiên cứu sản xuất đường-mật tinh bột theo phương pháp enzyme. Báo cáo khoa học mã số 18.01.04.07. Viện Công nghiệp Thực phẩm Hà Nội. 62 trang.

Hoàng Văn Tuấn, Phạm Hương Sơn, Nguyễn Thị Hiền và Nguyễn Thị Lại, 2013. Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết cám gạo đến hoạt tính của vi khuẩn Probiotics. Trung tâm Sinh học thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ.

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.

Miller, G. L., 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing sugar. *Analytical Chemistry*, Vol.31, No. 3. (1 March 1959), pp. 426-428.

Nguyễn Đức Lượng, Cao Cường, Nguyễn Ánh Nguyệt, Lê Thị Thùy Tiên, Tạ Thu Hằng, Huỳnh Ngọc Oanh, Nguyễn Thủy Hương, Phan Thụy Huyền, 2004. Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

Nguyễn Trọng Căn, Nguyễn Thị Hiền, Đỗ Thị Giang và Trần Thị Luyến, 1998. Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh.

Sfalcin, P., Lunelli, F. C., Maleski, T. P. S, Foletto, V. S., Souza, M., Dal Pra, V., Kuhn, R. C. and Maz, M. A., 2015. Glucose obtained from rice bran by ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis. *Ing. Investig.* vol.35, n.2, pp.61-66.

Trần Thị Nhung, Phạm Thị Thu Phương, Nguyễn Thúy Hương và Nguyễn Thị Mai Phương, 2013. Nghiên cứu thu nhận Xylooligosaccharide (XOS) từ cám gạo bằng công nghệ enzyme. *Tạp chí Sinh học*, 35 (1): 67-73.