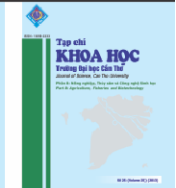




Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
website: sj.ctu.edu.vn



TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN TINH BỘT BẰNG ENZYME AMYLASE TRONG CHẾ BIẾN SỮA GẠO SỬ DỤNG MÔ HÌNH PHỨC HỢP TRUNG TÂM VÀ BỀ MẶT ĐÁP ỨNG

Nguyễn Minh Thủy¹, Đinh Công Dinh¹ và Nguyễn Thị Mỹ Tuyền¹

¹ Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 30/06/2014

Ngày chấp nhận: 27/04/2015

Title:

Enzymatic hydrolysis optimization of rice starch for rice milk processing using the Central Composite Design (CCD) and response surface methodology

Từ khóa:

Enzyme, mô hình phức hợp trung tâm, thủy phân, tinh bột, tối ưu hóa

Keywords:

Enzyme, Central composite design, hydrolysis, starch, optimization

ABSTRACT

The rice starch was hydrolysed by two-step enzymatic treatment using α -amylase and gluco-amylase. The effects of temperature, enzyme dose and time on hydrolysis efficiency (viscosity and DE index) were investigated. The Central composite design (CCD) and response surface methodology were used for the experimental design and results analysis. The results showed that all three factors (including temperature, enzyme dose and time) had significantly effect on viscosity and DE index in liquefaction and saccharification. In both hydrolysis steps, the models were established with 32 experiments for each step. The response surface model predicted the minimum viscosity to be 30.899 cP at a temperature of 74,71°C, α -amylase dose 0.13% and hydrolysis time of 40.54 minutes. The maximum DE index (77.382%) could be obtained at optimal conditions (at temperature of 60.39°C in 210 minutes and gluco-amylase dose of 0.077%). Verification results showed the value of theoretical viscosity and DE index corresponding to practical value.

TÓM TẮT

Giai đoạn thủy phân tinh bột gạo trong quy trình sản xuất sữa gạo được thực hiện theo hai bước với 2 loại enzyme amylase (α -amylase và gluco-amylase). Ảnh hưởng của nhiệt độ, tỷ lệ enzyme (α -amylase, gluco-amylase) và thời gian thủy phân đến hiệu quả thủy phân tinh bột được khảo sát (thông qua độ nhớt và chỉ số DE - Dextrose Equivalence). Ở cả hai bước thủy phân, mô hình bề mặt đáp ứng có ý nghĩa và thỏa các điều kiện được xây dựng dựa trên 32 đơn vị thí nghiệm ở mỗi bước thủy phân. Mô hình dự đoán độ nhớt thấp nhất có thể đạt được (30,899 cP) tại điều kiện thủy phân tối ưu ở nhiệt độ 74,71°C, tỷ lệ enzyme α -amylase sử dụng 0,13% và thời gian thủy phân 40,54 phút. Chỉ số DE cao 77,38% có thể thu được khi quá trình đường hóa được thực hiện ở nhiệt độ 60,39°C trong 210 phút với tỷ lệ enzyme gluco-amylase 0,077%. Kết quả kiểm định giả thuyết cho thấy giá trị độ nhớt và chỉ số DE lý thuyết và giá trị thực tế tương đồng với nhau.

1 GIỚI THIỆU

Lúa gạo là một ngành hàng chủ đạo có tầm quan trọng chiến lược hàng đầu trong mục tiêu phát triển nông nghiệp của nước ta. Định hướng đến năm 2020, Việt Nam sẽ nâng tỷ lệ bình quân chế biến công nghiệp lương thực, thực phẩm chủ yếu lên trên 70%, trong đó lúa gạo trên 65%. Sản xuất sữa gạo cũng nhằm mục tiêu đa dạng hóa các sản phẩm từ gạo, tăng giá trị sử dụng nguồn nguyên liệu dồi dào ở Đồng bằng sông Cửu Long, góp phần nâng cao giá trị kinh tế và thương hiệu lúa gạo của Việt Nam trong nước và quốc tế. Phát triển các sản phẩm mới từ gạo cũng là một trong những giải pháp nâng cao thu nhập cho người trồng lúa.

Trong quá trình sản xuất sữa gạo, công đoạn thủy phân tinh bột đóng vai trò đặc biệt quan trọng. Hiện nay, trong lĩnh vực thực phẩm các phương pháp thủy phân tinh bột bằng biện pháp sinh học-enzyme đã được sử dụng để thay thế phương pháp xử lý bằng hóa chất với mục đích đảm bảo sức khỏe cho người tiêu dùng. Hiệu quả thủy phân tinh bột của enzyme phụ thuộc vào nhiều điều kiện, đặc biệt là nhiệt độ, nồng độ sử dụng và thời gian thủy phân (Kunamneni và Singh, 2005). Bên cạnh đó, sử dụng mô hình bề mặt đáp ứng và mô hình phức hợp trung tâm trong thiết kế thí nghiệm đem lại hiệu quả cao và tiết kiệm được chi phí và thời gian so với các cách bố trí nhân tố đầy đủ theo truyền thống (Full factorial design-FFD) (Betiku *et al.*, 2013). Ưu điểm lớn nhất của cách bố trí này là giảm được số đơn vị thí nghiệm cần thiết nhưng vẫn mang lại kết quả có ý nghĩa và khả năng chấp nhận về mặt thống kê.

Trong nghiên cứu này, tinh bột gạo được thủy phân theo hai bước (i) dịch hóa bằng enzyme α -amylase nhằm giảm nhanh độ nhớt của dung dịch nhờ quá trình thủy phân ngẫu nhiên các liên kết 1,4 glycosis và (ii) đường hóa sử dụng enzyme glucoamylase để thu được dung dịch đường đơn. Mô hình bề mặt đáp ứng và mô hình phức hợp trung tâm được sử dụng để xác định các điều kiện tối ưu cho cả hai quá trình dịch hóa và đường hóa.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Chuẩn bị nguyên liệu tinh bột gạo

Gạo (giống Một Bụi Đỏ) nguyên hạt có độ ẩm và hàm lượng tinh bột tương ứng khoảng 15-16% và 79-81%. Gạo được rửa 2 lần bằng nước sạch trước khi nghiền đến kích thước hạt $\leq 0,45$ mm. Hỗn hợp được hồ hóa hoàn toàn ở 90°C.

2.2 Bố trí thí nghiệm

2.2.1 Thủy phân tinh bột gạo bằng enzyme theo 2 bước

Dịch hồ tinh bột được thủy phân thông qua 2 bước dịch hóa và đường hóa. Quá trình dịch hóa được thực hiện bằng enzyme α -amylase (Novozyme, 132,5 Unit/gram). Các nhân tố được khảo sát trong quá trình dịch hóa bao gồm nhiệt độ (X_1), tỷ lệ enzyme sử dụng (X_2) và thời gian thủy phân (X_3). Mức độ của các nhân tố tương ứng được thể hiện ở Bảng 1. Bố trí thí nghiệm dịch hóa tinh bột gạo được thực hiện theo mô hình phức hợp trung tâm với 3 nhân tố, 5 mức độ. Các đơn vị thí nghiệm ở các nghiệm thức thừa và trục được lặp lại 2 lần và 4 nghiệm thức trung tâm. Như vậy, thí nghiệm được thực hiện với 32 đơn vị thí nghiệm trong đó có 16 điểm thừa, 12 điểm trục (với $\alpha = \pm 1,5$) và 4 điểm trung tâm (Bảng 3).

Bảng 1: Các nhân tố và mức độ khảo sát trong thí nghiệm dịch hóa theo mô hình phức hợp trung tâm

Ký hiệu	Nhân tố	Đơn vị	Mức độ				
			-1.5	-1	0	1	1.5
X_1	Nhiệt độ	°C	65	70	80	90	95
X_2	Tỷ lệ enzyme	%	0.025	0.05	0.1	0.15	0.175
X_3	Thời gian	phút	15	20	30	40	45

Bảng 2: Các nhân tố và mức độ khảo sát trong thí nghiệm đường hóa theo mô hình phức hợp trung tâm

Ký hiệu	Tên biến	Đơn vị	Mã của các mức độ				
			-1.5	-1	0	1	1.5
X_4	Nhiệt độ	°C	45	50	60	70	75
X_5	Tỷ lệ enzyme	%	0.015	0.03	0.06	0.09	0.105
X_6	Thời gian	phút	30	60	120	180	210

So sánh với cách tiếp cận truyền thống (bố trí 3 nhân tố đầy đủ và 2 lần lặp lại) cần sử dụng 54 đơn vị thí nghiệm (cho 3 mức độ ở mỗi nhân tố) hoặc

250 đơn vị thí nghiệm (cho 5 mức độ ở mỗi nhân tố) thì phương pháp bố trí thí nghiệm mô hình phức hợp trung tâm thể hiện ưu điểm rất cao, giúp tiết kiệm thời gian và chi phí. Đồng thời, với phương

pháp bố trí mở rộng từ 3 mức độ lên 5 mức độ cho phép đánh giá mô hình có độ chính xác cao hơn.

Tương tự, quá trình đường hóa được thực hiện bằng enzyme gluco-amylase (Novozyme, Amyloglucosidase 296,5 Unit/gram) dựa trên bố trí thí nghiệm theo mô hình phức hợp trung tâm với 32 đơn vị thí nghiệm (Bảng 3). Đồng thời, các nhân tố được khảo sát trong quá trình đường hóa bao gồm nhiệt độ (X_4), tỷ lệ enzyme gluco-amylase sử dụng (X_5) và thời gian thủy phân (X_6). Mức độ của các nhân tố tương ứng được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 3: Bố trí thí nghiệm theo mô hình phức hợp trung tâm

STT	X_1	X_2	X_3	Nghiệm thức
1	-1	-1	-1	Thừa
2	-1	-1	-1	Thừa
3	1	-1	-1	Thừa
4	1	-1	-1	Thừa
5	-1	1	-1	Thừa
6	-1	1	-1	Thừa
7	1	1	-1	Thừa
8	1	1	-1	Thừa
9	-1	-1	1	Thừa
10	-1	-1	1	Thừa
11	1	-1	1	Thừa
12	1	-1	1	Thừa
13	-1	1	1	Thừa
14	-1	1	1	Thừa
15	1	1	1	Thừa
16	1	1	1	Thừa
17	-1,5	0	0	Trực
18	-1,5	0	0	Trực
19	1,5	0	0	Trực
20	1,5	0	0	Trực
21	0	-1,5	0	Trực
22	0	-1,5	0	Trực
23	0	1,5	0	Trực
24	0	1,5	0	Trực
25	0	0	-1,5	Trực
26	0	0	-1,5	Trực
27	0	0	1,5	Trực
28	0	0	1,5	Trực
29	0	0	0	Trung tâm
30	0	0	0	Trung tâm
31	0	0	0	Trung tâm
32	0	0	0	Trung tâm

2.2.2 Phương pháp xác định chỉ số DE

Chỉ số DE được tính toán theo công thức: DE (%) = (Hàm lượng đường khử tính theo glucose/hàm lượng chất khô của mẫu) x 100. Trong đó, hàm lượng đường khử được xác định

bằng phương pháp DNS (3,5 dinitrosalicylic acid) (Miller, 1959), cho 1 ml mẫu vào 3 ml dung dịch DNS, sau đó gia nhiệt ở 95°C trong 15 phút và làm nguội nhanh xuống nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của mẫu thí nghiệm được đo ở bước sóng 540 nm. Tính toán lượng đường khử dựa trên đường chuẩn của glucose ($y = 1,4293 x - 0,2744$, với y là hàm lượng đường khử và x là độ hấp thụ).

2.2.3 Phương pháp xác định độ nhớt

Độ nhớt của dịch hồ tinh bột sau quá trình dịch hóa được đo ở 25±1°C bằng máy đo độ nhớt (Viscometer, Brookfield DV-E, Mỹ).

2.3 Xử lý số liệu

Số liệu thu thập từ quá trình thí nghiệm được xử lý thống kê và xây dựng mô hình bề mặt đáp ứng sử dụng chương trình Design-Expert version 8.0.7.180 (StatEase Inc., Minneapolis, USA). Mô hình tổng quát có dạng:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i X_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k b_{ij} X_i X_j + c \quad (1)$$

Trong đó, b_0 là hệ số chặn, b_i ($i = 1, 2, \dots, k$) là hệ số phương trình bậc 1, b_{ij} là hệ số tương tác, b_{ii} là hệ số phương trình bậc 2 của biến X_i , Y là giá trị lý thuyết theo mô hình (trong trường hợp này là độ nhớt và chỉ số DE) và e là sai số ngẫu nhiên.

Phân tích phương sai ANOVA được dùng để đánh giá mức độ phù hợp của mô hình. Từ mô hình thu được, tối ưu hóa các thông số được thực hiện với độ dao động của các biến trong khoảng mức độ [-1,5;+1,5] đã bố trí thí nghiệm ở Bảng 1 và 3 (được đề cập ở trên). Chọn lựa các phương án có mức độ mong muốn cao nhất (độ nhớt thấp nhất trong quá trình dịch hóa và chỉ số DE lớn nhất trong quá trình đường hóa tiếp theo).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tối ưu hóa quá trình dịch hóa tinh bột gạo

Quá trình dịch hóa tinh bột được thực hiện dựa trên khả năng thủy phân ngẫu nhiên các liên kết 1,4-glycosis trong phân tử tinh bột của enzyme α -amylase, làm giảm nhanh độ nhớt dung dịch. Kết quả phân tích thống kê ở Bảng 4 cho thấy mô hình tương quan thu được gồm các hệ số tuyến tính, hệ số tương tác và hệ số bậc hai, các hệ số này đều thể hiện mức ý nghĩa $p < 0,05$. Với giá trị F 397,47 và giá trị $p < 0,0001$ chứng tỏ mô hình thu được có ý nghĩa thống kê cao.

Mô hình tương quan theo mã (coded) của các biến độc lập (nhân tố):

$$Y = 58,44 - 15,76X_1 - 30,66X_2 - 43,82X_3 + 19,69 X_1X_2 + 18,44 X_1X_3 + 18,56 X_2X_3 + 13,91 X_1^2 + 19,13X_2^2 + 20,47X_3^2 \quad (1)$$

Phương trình tương quan theo mức độ thực của các biến độc lập (nhân tố):

$$V = 2397,30 - 33,3 T - 6407,7 E - 35,13 t + 39,38 TE + 0,18 Tt + 37,13 Et + 0,14 T^2 + 7653,8 E^2 + 0,21 t^2 \quad (2)$$

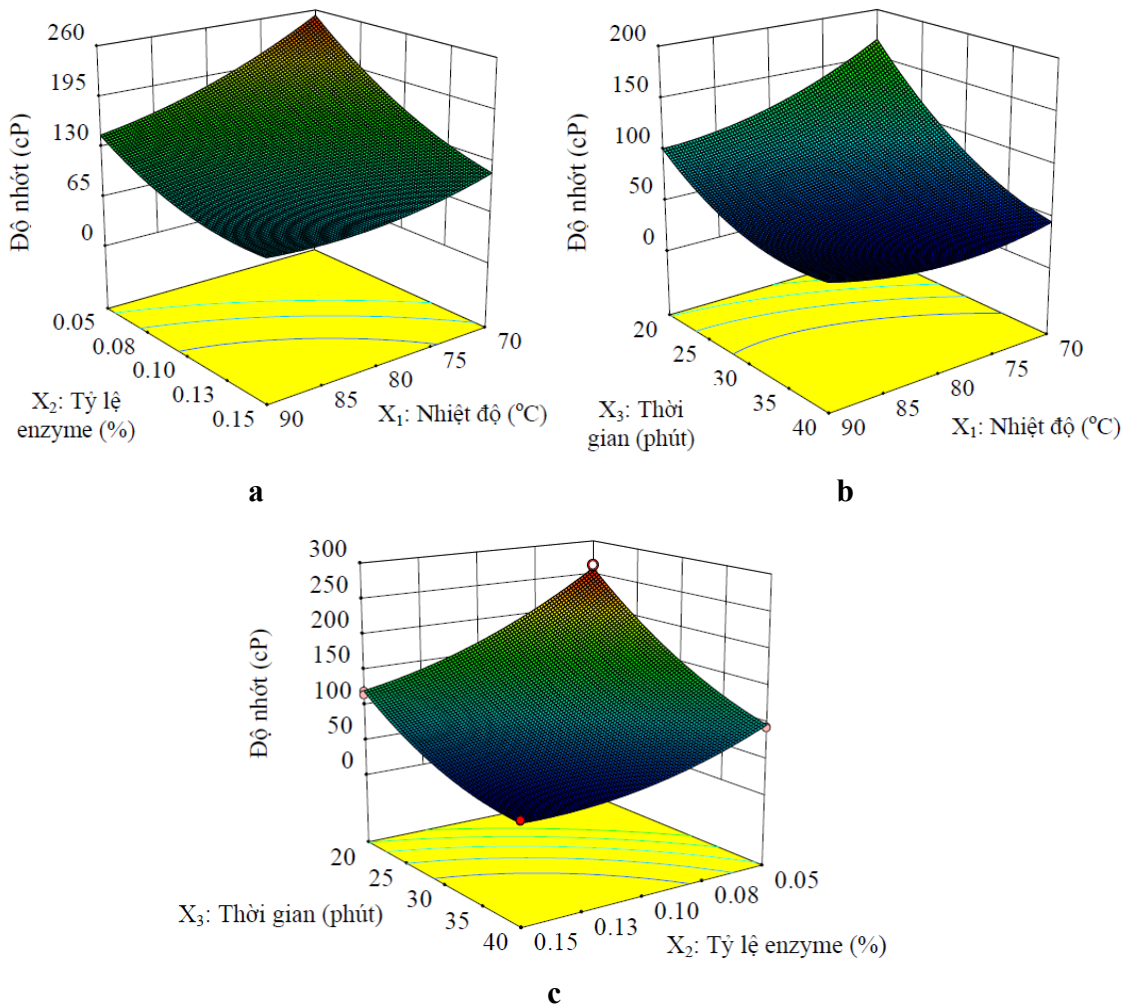
Trong đó: V là độ nhớt (cP), T là nhiệt độ (°C), E là tỷ lệ enzyme (%) và t là thời gian (phút)

Bảng 4: Phân tích thống kê ANOVA cho giá trị độ nhớt

Nguồn	Tổng bình phương	Độ tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị p Prob > F	
Model	104572,9	9	11619,21	397,471	< 0,0001	Ý nghĩa
X ₁	6209,44	1	6209,44	212,413	< 0,0001	
X ₂	23500,89	1	23500,89	803,921	< 0,0001	
X ₃	48004,81	1	48004,81	1642,154	< 0,0001	
X ₁ X ₂	6201,563	1	6201,563	212,144	< 0,0001	
X ₁ X ₃	5439,063	1	5439,063	186,06	< 0,0001	
X ₂ X ₃	5513,063	1	5513,063	188,592	< 0,0001	
X ₁ ²	2869,899	1	2869,899	98,174	< 0,0001	
X ₂ ²	5428,809	1	5428,809	185,709	< 0,0001	
X ₃ ²	6211,752	1	6211,752	212,492	< 0,0001	
Residual	643,1223	22	29,232			
Lack of Fit	204,8723	5	40,974	1,589	0,216	Không có ý nghĩa
Pure Error	438,25	17	25,779			
R-Squared	0,9939					
Adj R-Squared	0,9914					
Pred R-Squared	0,987048					
Adeq Precision	74,51217					

Mức độ phù hợp của mô hình cũng được đánh giá thông qua giá trị F của Lack of fit. Mô hình tương quan tốt cần sự phù hợp giữa số liệu thực tế và lý thuyết, vì vậy mô hình thu được với kiểm định Lack of fit (sự không phù hợp) không có ý nghĩa thống kê là điều mong muốn (Zabeti *et al.*, 2009). Từ bảng phân tích số liệu cho thấy Lack of fit không thể hiện ý nghĩa thống kê, nên khả năng phù hợp của mô hình là rất cao. Phần trăm còn lại (21,63%) có khả năng do nhiễu số liệu tạo thành. Theo Guan and Yao (2008) thì mô hình tương quan tốt cần có hệ số xác định tương quan R² (R-Squared) lớn hơn 0,8 và theo Zabeti *et al.* (2009) thông số Adeq Precision lớn hơn 4 là cần thiết. Mô hình tương quan thu được từ thí nghiệm đã thỏa các điều kiện trên với thông số R-squared cao (R² = 0,99) và Adeq Precision là 74,51 rất lớn hơn so với 4, cho thấy mô hình đủ độ chính xác để sử dụng dự đoán độ nhớt của dịch tinh bột gạo trong quá trình dịch hóa.

Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy cả ba nhân tố nhiệt độ, tỷ lệ enzyme α-amylase và thời gian thủy phân đều có ảnh hưởng đến khả năng thủy phân của tinh bột gạo và sự thay đổi độ nhớt của dung dịch. Đồ thị bề mặt đáp ứng 3D thể hiện mối liên hệ tác động tương hỗ của nhiệt độ, tỷ lệ enzyme và thời gian thủy phân đến độ nhớt của dung dịch được thể hiện ở Hình 1. Hình biểu diễn cho thấy độ nhớt giảm mạnh khi sử dụng tỷ lệ enzyme cao và tăng nhiệt độ thủy phân từ 70 đến 80°C. Tuy nhiên, độ nhớt không ảnh hưởng nhiều khi tăng nhiệt độ từ 80 đến 90°C. Bên cạnh đó, giá trị độ nhớt giảm dần theo thời gian thủy phân, cho thấy thời gian có ảnh hưởng lớn đến độ nhớt. Từ mô hình (1) và (2) cũng cho thấy nồng độ enzyme và thời gian thủy phân là hai nhân tố quan trọng hơn khi tiến hành dịch hóa tinh bột gạo trong điều kiện nhiệt độ thủy phân từ 70 - 90°C.



Hình 1: Đồ thị bề mặt đáp ứng của độ nhớt

- (a) Dưới tác động của nhiệt độ tương tác với tỷ lệ enzyme (tại thời gian thủy phân 30 phút)
- (b) Dưới tác động của nhiệt độ tương tác với thời gian thủy phân (sử dụng tỷ lệ enzyme 0,1%)
- (c) Dưới tác động của tỷ lệ enzyme tương tác với thời gian thủy phân (ở nhiệt độ 70°C)

Từ mô hình thu được, phân tích tối ưu hóa nhằm xác định điều kiện thủy phân để dịch gạo có độ nhớt thấp nhất (giới hạn dưới và trên của độ nhớt là [30; 263] cP) với các biến dao động trong khoảng mức độ [-1,5;+1,5]. Kết quả tối ưu hóa cho

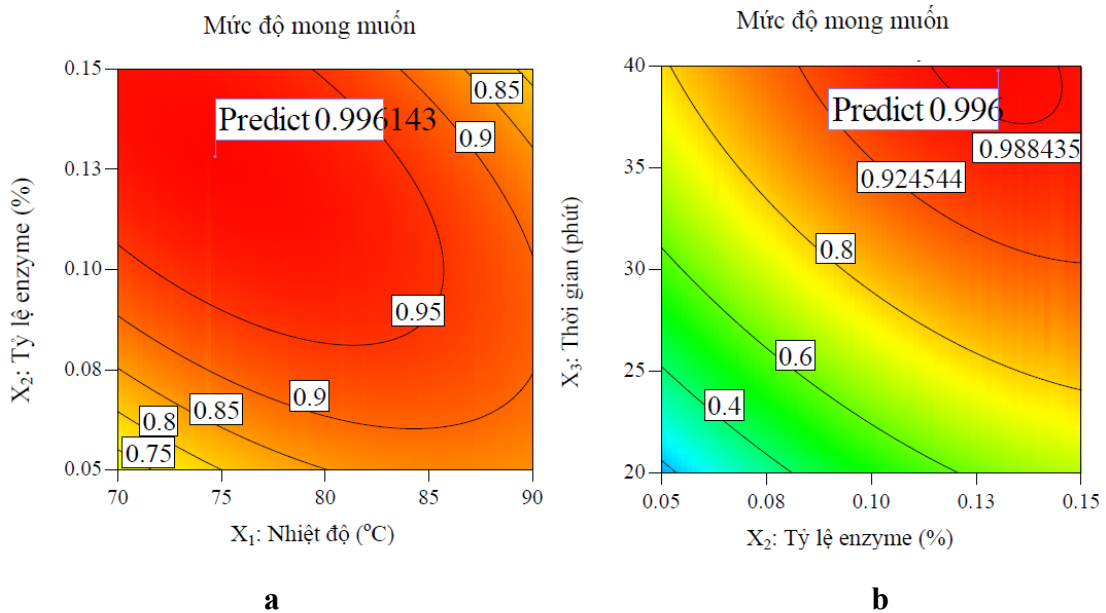
được 3 phương án với mức độ mong muốn cao (0,996) (Bảng 5). Các phương án cho độ mong muốn tương đương nhau với giá trị độ nhớt tối thiểu có thể đạt được là 30,899 cP.

Bảng 5: Các phương án tối ưu cho quá trình dịch hóa tinh bột gạo

STT	Nhiệt độ (°C)	Tỷ lệ enzyme (%)	Thời gian (phút)	Độ nhớt (cP)	Mức độ mong muốn
1	74,71	0,13	40,54	30,899	0,996
2	74,71	0,13	40,53	30,899	0,996
3	74,61	0,13	40,55	30,900	0,996

Biểu đồ thể hiện mức độ mong muốn theo phương án 1 theo các cặp tương tác Nhiệt độ – Tỷ lệ enzyme và Tỷ lệ enzyme - Thời gian thủy phân được trình bày ở Hình 2. Từ đồ thị có thể thấy mức

độ mong muốn có thể đạt được cao ở nhiệt độ từ 70 đến dưới 80°C, nồng độ enzyme trong khoảng 0,13–0,15% và thời gian thủy phân từ 35 đến 40 phút.



Hình 2: Mức độ mong muốn theo các cặp tương tác (a) Nhiệt độ – Tỷ lệ enzyme và (b) Tỷ lệ enzyme - Thời gian thủy phân, phương án 1 được thể hiện trên mặt phẳng

3.2 Tối ưu hóa quá trình đường hóa

Từ các số liệu đã thu thập, mô hình tương quan giữa chỉ số DE với nhiệt độ, tỷ lệ enzyme gluco-amylase và thời gian thủy phân được xây dựng và thể hiện ở phương trình (4) và (5). Kết quả phân tích thống kê ANOVA (Bảng 6) cho thấy mô hình tương quan có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$). Các hệ số trong mô hình bao gồm các hệ số tuyến tính, hệ số tương tác và hệ số bậc hai, trong đó các hệ số không có ý nghĩa có thể được lược bỏ nhằm rút gọn phương trình.

Mô hình tương quan theo mã (coded) của các biến độc lập (nhân tố):

$$Y (\%) = 64,29 + 0,69X_4 + 2,73X_5 + 8,19X_6 - 8,70 X_4^2 - 2,37X_6^2 \quad (4)$$

Phương trình tương quan theo mức độ thực của các biến độc lập (nhân tố):

$$DE (\%) = - 293,45 + 10,66 T + 560,6 E + 0,14 t - 0,0874 T^2 - 2632,724 E^2 \quad (5)$$

Trong đó: T là nhiệt độ (°C), E là tỷ lệ enzyme (%) và t là thời gian thủy phân (phút)

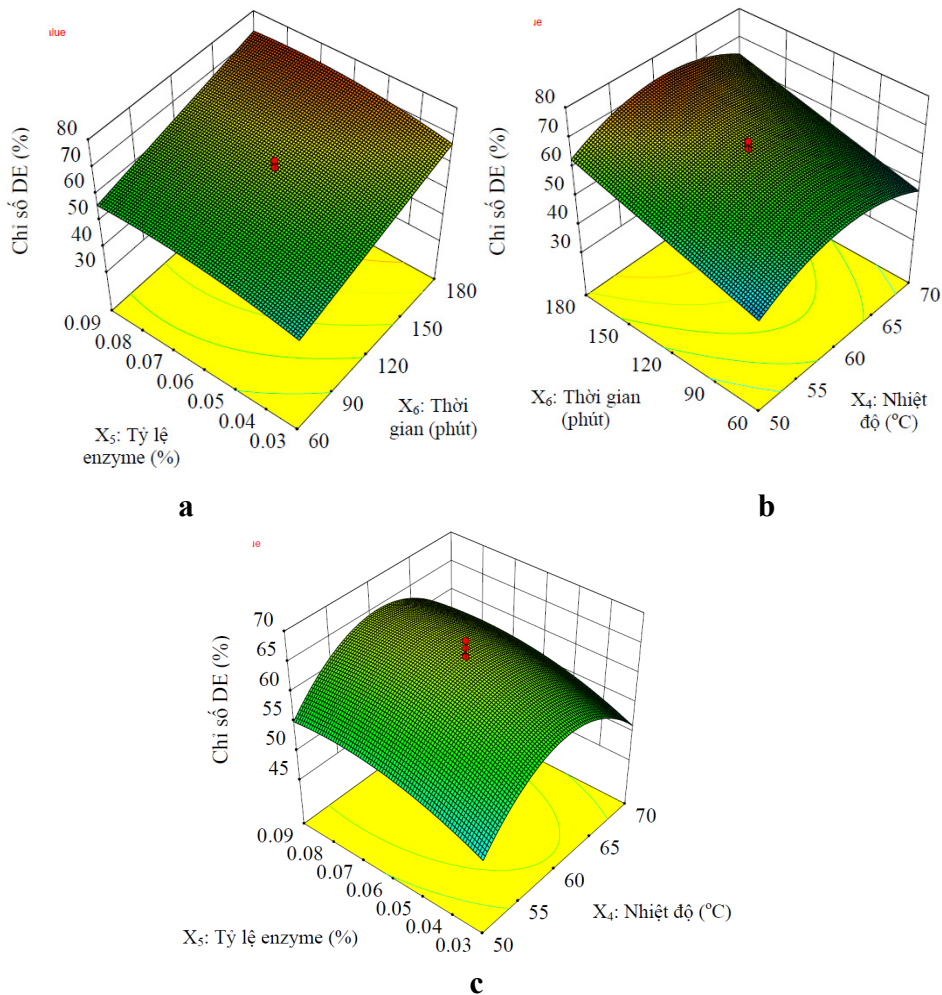
Trong mô hình này, các hệ số tương tác không có ý nghĩa đã được lược bỏ. Hệ số tuyến tính nhiệt độ tuy không có ý nghĩa ($p = 0,0603$) nhưng vẫn được giữ trong mô hình nhằm đảm bảo tính hệ thống của mô hình. Giá trị R-Squared (0,975), Adj.

R-Squared (0,97) và Pred. R-Squared (0,962) cho thấy mô hình có độ chính xác tương đối cao. Bên cạnh đó, kiểm tra độ phù hợp của mô hình thông qua kiểm tra Lack of fit không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,0583$). Vì vậy, khả năng phù hợp của mô hình là rất cao. Kết quả thí nghiệm cho thấy cả ba nhân tố nhiệt độ, tỷ lệ enzyme gluco-amylase và thời gian thủy phân đều có ảnh hưởng đến khả năng thủy phân của tinh bột gạo. Đồ thị bề mặt đáp ứng thể hiện mối liên hệ tác động tương hỗ của tỷ lệ enzyme và thời gian thủy phân đến chỉ số DE của dịch gạo được thể hiện ở Hình 3.

Từ bảng kết quả phân tích thống kê và Hình 3 cho thấy hiệu suất thủy phân (đánh giá thông qua giá trị DE) phụ thuộc rất lớn vào nhiệt độ thủy phân và ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thủy phân theo mô hình bậc 2 thể hiện rõ hơn bậc 1. Chỉ số DE tăng theo thời gian thủy phân (từ 30-210 phút) và thể hiện tăng theo kiểu tuyến tính rõ ràng hơn theo mô hình bậc 2. Tỷ lệ enzyme sử dụng ảnh hưởng có ý nghĩa đến chỉ số DE, thông qua hệ số đi kèm trong mô hình cho thấy ảnh hưởng theo khuynh hướng mô hình bậc 2 lớn hơn khuynh hướng tuyến tính, như vậy khi tăng nồng độ enzyme thì chỉ số DE tăng, tuy nhiên khi bổ sung enzyme cao hơn mức độ thích hợp thì hiệu suất thủy phân không cao hơn do hệ đạt được sự cân bằng giữa nồng độ cơ chất và sản phẩm.

Bảng 6: Phân tích thống kê ANOVA cho chỉ số DE

Nguồn	Tổng bình phương	Độ tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị p Prob > F	
Model	3089,068	5	617,814	199,559	< 0,0001	Có ý nghĩa
X ₁	11,945	1	11,945	3,859	0,0603	
X ₂	186,179	1	186,179	60,137	< 0,0001	
X ₃	1678,348	1	1678,348	542,121	< 0,0001	
X ₁ ²	1207,851	1	1207,851	390,146	< 0,0001	
X ₂ ²	89,677	1	89,677	28,966	< 0,0001	
Residual	80,493	26	3,096			
Lack of Fit	44,952	9	4,995	2,389	0,0583	Không có ý nghĩa
Pure Error	35,541	17	2,091			
R-Squared	0,975					
Adj R-Squared	0,970					
Pred R-Squared	0,962					
Adeq Precision	45,898					



Hình 3: Đồ thị bề mặt đáp ứng của chỉ số DE

- (a) Dưới tác động của tỷ lệ enzyme và thời gian thủy phân (ở nhiệt độ 60°C)
- (b) Dưới tác động của nhiệt độ và thời gian thủy phân (sử dụng tỷ lệ enzyme 0,06%)
- (c) Dưới tác động của nhiệt độ và tỷ lệ enzyme (tại thời điểm thủy phân 120 phút)

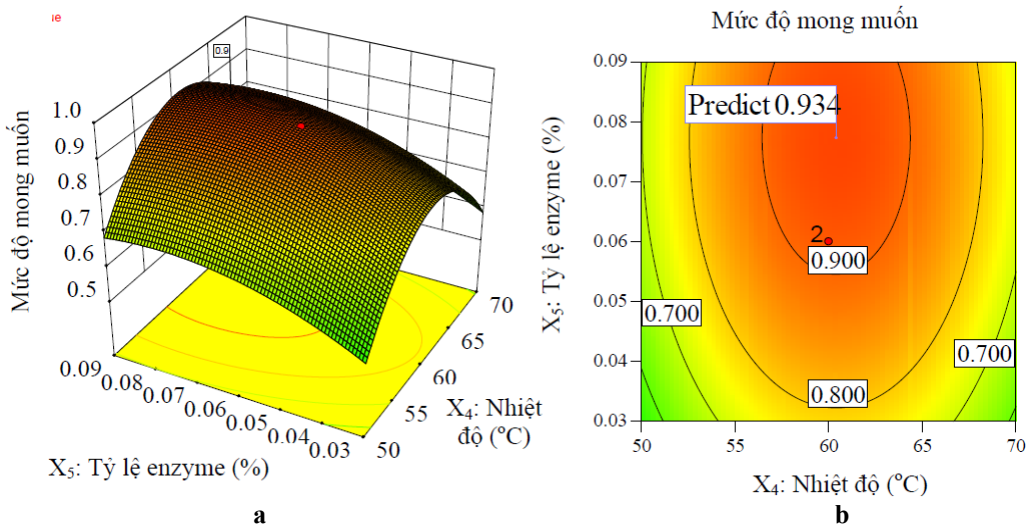
Dựa trên mô hình xây dựng được, phân tích tối ưu hóa quá trình đường hóa với các biến dao động trong khoảng [+1,5;-1,5] nhằm đạt được chỉ số DE (%) tối đa trong 2 khoảng giới hạn dưới và trên [40; 80]. Kết quả phân tích thu được 15 phương án cho giá trị DE cao (77,38%) ở điều kiện thủy phân theo phương án từ 1 đến 6 (Bảng 7). Các giá trị của các thông số trong phương án từ 1 đến 6 tương đương nhau, có thể áp dụng phương án 1 cho quá trình sản xuất thực tế. Đồ thị Hình 4 thể hiện bề mặt đáp ứng cho mức độ mong muốn theo Nhiệt độ (°C) – Tỷ lệ enzyme gluco-amylase (%) và thể hiện vị trí của phương án 1.

Ở thí nghiệm đường hóa, chỉ số DE phụ thuộc vào thời gian thủy phân và trong các mức độ khảo

sát từ 30 đến 210 phút, chỉ số DE có khuynh hướng tăng tuyến tính nhiều hơn khuynh hướng đường cong của phương trình bậc 2. Kết quả phân tích tối ưu hóa cũng cho thấy thời gian thủy phân 210 phút cho hiệu quả tối ưu. Có thể thấy chỉ số DE có khả năng tăng thêm khi nâng thời gian thủy phân. Tuy nhiên, kéo dài thời gian thủy phân sẽ mang đến những bất lợi khác như tiêu hao nhiều năng lượng. Quan trọng hơn nữa là ảnh hưởng đến chất lượng sữa gạo do dịch sữa được giữ nhiệt trong khoảng 50-70°C và môi trường có nhiều đường đơn là điều kiện rất tốt cho vi sinh vật hoạt động. Do vậy, thời gian thủy phân 210 phút được cho là tối đa có thể chấp nhận được cho quá trình đường hóa dịch sữa gạo.

Bảng 7: Các phương án tối ưu hóa cho quá trình đường hóa

STT	Nhiệt độ (°C)	Tỷ lệ enzyme (%)	Thời gian (phút)	DE (%)	Mức độ mong muốn
1	60,39	0,077	210	77,382	0,934
2	60,41	0,078	210	77,381	0,934
3	60,46	0,077	210	77,381	0,934
4	60,33	0,077	210	77,381	0,934
5	60,45	0,077	210	77,38	0,934
6	60,34	0,078	210	77,38	0,934
7	60,43	0,080	210	77,365	0,934
8	60,53	0,080	210	77,362	0,934
9	60,24	0,078	209	77,327	0,933
10	61,35	0,083	210	77,219	0,930
11	60,70	0,070	210	77,217	0,930
12	59,39	0,084	210	77,175	0,929
13	58,76	0,084	210	77,046	0,926
14	58,71	0,071	210	77,035	0,926
15	59,85	0,065	210	76,988	0,924



Hình 4: Bề mặt đáp ứng (a) và contour (b) của giá trị mức độ mong muốn theo nhiệt độ và tỷ lệ enzyme thể hiện phương án 1

3.3 Kiểm định các điều kiện tối ưu

Để kiểm định các giá trị tối ưu thu được từ 2 mô hình đã xây dựng, các thí nghiệm được thực hiện theo các phương án tốt nhất đã đề ra. Kết quả kiểm định được thể hiện ở Bảng 8 cho thấy kết quả thu được từ thực nghiệm tương đương với kết quả lý thuyết tính toán từ mô hình. Độ nhớt thực nghiệm sau quá trình dịch hóa (32,52 cP) cao hơn giá trị lý thuyết nhưng không đáng kể. Đối với thí nghiệm đường hóa, kết quả thu được khá khả quan với chỉ số DE cao (79,53%) lớn hơn so với chỉ số DE lý thuyết.

Bảng 8: Độ nhớt và chỉ số DE lý thuyết và thực nghiệm ở điều kiện tối ưu

Chỉ tiêu theo dõi	Đơn vị	Giá trị thực nghiệm	Giá trị lý thuyết
Độ nhớt – Dịch hóa	cP	32,52 ± 2,25	30,899
Chỉ số DE – Đường hóa	%	79,53 ± 0,85	77,382

Kết quả kiểm định một lần nữa khẳng định tính chính xác cao của các mô hình đã được xây dựng. Các mô hình có thể sử dụng để dự đoán độ nhớt và chỉ số DE trong các điều kiện thủy phân khác nhau.

4 KẾT LUẬN

Mô hình bề mặt đáp ứng cho độ nhớt trong quá trình dịch hóa và chỉ số DE trong quá trình đường hóa được xây dựng dựa trên bố trí thí nghiệm theo phương pháp mô hình phức hợp trung tâm có độ chính xác cao. Áp dụng các mô hình vào phân tích tối ưu hóa điều kiện thủy phân tinh bột trong quá

trình chế biến sũa gạo thu được các kết quả vượt trội và tương đương với giá trị lý thuyết. Quá trình dịch hóa có thể được thực hiện ở 74,71°C, tỷ lệ enzyme α -amylase 0,13% trong thời gian thủy phân 40,54 phút cho giá trị độ nhớt 32,52 cP. Chỉ số DE cao 79,53% có thể thu được khi thực hiện quá trình đường hóa ở điều kiện tối ưu (nhiệt độ: 60,39°C; tỷ lệ enzyme gluco-amylase: 0,077% trong thời gian thủy phân 210 phút.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Betiku E., Akindolani OO and Ismaila AR. 2013. Enzymatic hydrolysis optimization of sweet potato (*Ipomoea batatas*) peel using a statistical approach. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 30(3), 467-476.
- Guan X. and Yao H. 2008. Optimization of viscozyme L assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry*, 106, 345-351.
- 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.
- Zabeti M, Daud WMAW and Aroua MK. 2009. Optimization of the activity of CaO/Al₂O₃ catalyst for biodiesel production using response surface methodology. *Applied Catalysis A: General*, 366(1), 154-159.