

## ẢNH HƯỞNG CỦA QUÁ TRÌNH SẤY MALT THÓC ĐẾN HOẠT TÍNH CỦA ENZYME

### Effect of Drying Process of Malting Rice on Enzymatic Activity

Nguyễn Thạch Minh, Trịnh Xuân Ngọ

*Viện Công nghệ sinh học và thực phẩm, Trường Đại học Công nghệ Tp.HCM*

#### TÓM TẮT

Nghiên cứu này tìm hiểu sự tác động của quá trình sấy lên hoạt tính của enzyme  $\alpha$  - amylase,  $\beta$  - amylase, protease và năng lực đường hóa trong malt thóc. Thóc (*Oryza sativa*) được ngâm ở nhiệt độ 30°C trong 50h, uơm mầm tại nhiệt độ 30°C trong 7 ngày và sấy tại nhiệt độ 50°C trong 24h. Thay đổi độ ẩm và hoạt tính của enzyme đã được tìm hiểu trong giai đoạn sấy. Kết quả chỉ ra rằng độ ẩm giảm từ 42,1% xuống còn 3,9% sau 24h sấy ở nhiệt độ 50°C. Hoạt tính cao nhất đạt được của enzyme protease, năng lực đường hóa,  $\alpha$ -amylase và  $\beta$ -amylase trong điều kiện thí nghiệm lần lượt là: 12, 10, 12 và 6h trong giai đoạn sấy. Hoạt tính protease của malt thóc và malt đại mạch gần như nhau. Mặc dầu theo nghiên cứu thu được hoạt tính của hệ enzyme amylase trong thóc là thấp hơn so với đại mạch nhưng malt thóc chỉ ra tiềm năng như là một thành phần trong công nghiệp ngũ cốc và đồ uống.

Từ khoá: Hoạt tính enzyme, malt, sấy, thóc.

#### SUMMARY

This study investigated the effect of drying on  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, and protease activities and diastase power in rice malt. Common rice (*Oryza sativa*) was soaked at 30°C for 50 hours, germinated at 30°C for 7 days and dried at 50°C for 24 h. The change in moisture content and enzymatic activities was determined throughout the drying period. Results showed that moisture content reduced from 42.1% to 3.9% after 24 hours drying at 50°C. Maximum activity of protease, diastase power,  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -amylase occurred after 12, 10, 12, and 6 hours of drying, respectively. Proteolytic activity in rice malt when compared to the barley malt control was almost similar. All enzymatic activities were found to decrease during the drying process. Although amylolytic activity was low in malted rice, rice malt shows potential as an ingredient for the brewing and cereal industry.

Key words: Drying, enzymatic activity, rice malt.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quá trình sấy malt được sử dụng với mục đích chính để duy trì hoạt tính của enzyme trong các sản phẩm nông nghiệp (Briggs, 2000; Bandonill & Sanchez, 2003; Runze, 1999). Quá trình sấy liên quan tới việc tách vật liệu dễ bay hơi (thông thường là nước) từ vật liệu ẩm hoặc độ ẩm của vật liệu giảm đi bởi sự bay hơi (Hoàng Đình Hoà, 2002; Nguyễn Văn May, 2004; Dennis et al., 1981). Trong quá trình sấy cũng có một số quá trình biến đổi xuất hiện (Jesus, 2002).

Thóc (*Oryza sativa*) là một sản phẩm rất phổ biến là nguồn cung cấp lương thực chính ở Việt Nam. Chúng có giá trị thấp hơn so với đại mạch. Thóc được sản xuất trong nước trong khi đại mạch phải nhập từ nước ngoài. Một số địa phương nước ta cũng sử dụng malt thóc làm mạch nha. Một số nước trên thế giới làm đồ uống và bổ sung vào thức ăn bổ dưỡng (Morris & Bryce, 2000). Bởi vì có sự khác nhau về thực vật học, sản phẩm enzyme và quá trình làm malt có thể khác nhau giữa thóc và đại mạch.

Bài báo này trình bày ảnh hưởng của quá trình sấy lên độ ẩm và hoạt tính của enzyme đặc biệt là  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, năng lực đường hóa, protease trong malt thóc, so sánh kết quả này với malt đại mạch sử dụng trong sản xuất đồ uống. Từ đó tìm ra đường hướng trong sản xuất đồ uống ở Việt Nam.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

#### *Thóc và malt đại mạch*

Thóc (*Oryza sativa*) giống OM4088 được cung cấp từ Viện lúa Ô Môn, Cần Thơ. Malt đại mạch lấy từ malt thương mại Đức.

#### *Trình tự làm malt thóc*

Thóc được làm malt ngâm trong nước 50h, Cứ sau 4h ngâm trong nước có sục khí, hạt được đưa ra ngoài 30 phút nhằm tạo điều kiện tiếp xúc oxy trong không khí. Ươm mầm trong vải thấm nước giữ ẩm và luôn duy trì độ ẩm trong 7 ngày. Trong quá trình ươm mầm thường xuyên đảo trộn hạt và duy trì sự thoáng khí. Quá trình sấy tiến hành ở 50°C trong 24h. Sau khi sấy, rỗ và mầm được loại bỏ. Phần nội nhĩ còn lại là malt thóc. Mẫu được bảo quản tại nhiệt độ -80°C (Máy GFL, Đức).

### 2.2. Phương pháp phân tích

Phân tích tiến hành làm 3 lần và mức ý nghĩa trong các kết quả đã được xem xét.

#### *Độ ẩm trong malt thóc (%)*

Độ ẩm (%) được xác định theo phương pháp sấy đến khối lượng không đổi theo Nzelibé và Nwasike (Lê Thanh Mai và cs., 2005).

#### *Năng lực đường hóa (WK)*

Xác định hoạt tính của amylase trong các điều kiện tiêu chuẩn. Kết quả tính bằng số gam maltose tạo thành từ 100 gam malt trong điều kiện chuẩn (Hoàng Đình Hoà, 2002; Lê Thanh Mai và cs., 2005; Nguyễn Văn May, 2004).

#### *Hoạt tính $\alpha$ -amylase, $\beta$ -amylase (mg/g.h)*

Hoạt tính của  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase biểu diễn bằng số lượng maltose tạo thành do tác dụng của 1 g malt lên tinh bột sau 1 h ở điều kiện pH = 5,5 - 5,8. Hoạt tính của  $\alpha$ -amylase dựa trên sự phá hủy  $\beta$ -amylase bởi nhiệt độ 70°C. Hoạt tính  $\beta$ -amylase tính bằng hiệu số hoạt tính chung  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase trừ đi hoạt tính  $\alpha$ -amylase (Dyera & Novellieb, 1966; Warchalewsbkis et al, 1995).

#### *Hoạt tính protease (mg/g.h)*

Hoạt tính protease được đo theo phương pháp Welstester. Phương pháp này dựa trên việc xác định nitơ amin trong quá trình thủy phân cơ chất là gelatin bởi enzyme protease trong malt (Lê Thanh Mai và cs., 2005).

#### *Phân tích dịch chiết*

Protein trong thóc và malt được xác định thông qua hàm lượng nitơ. Hàm lượng nitơ được xác định bằng phương pháp Kjeldahl. Protein trong dịch chiết xác định bằng phương pháp Lowry (Lê Thanh Mai và cs., 2005).

#### *Độ hòa tan*

Độ hòa tan là lượng chất khô trong malt có thể hòa tan vào dung dịch ở điều kiện phòng thí nghiệm biểu thị bằng phần trăm (%) so với khối lượng của malt (Hoàng Đình Hoà, 2002; Lê Thanh Mai và cs., 2005; Briggs et al., 1981).

#### *Màu dịch chiết*

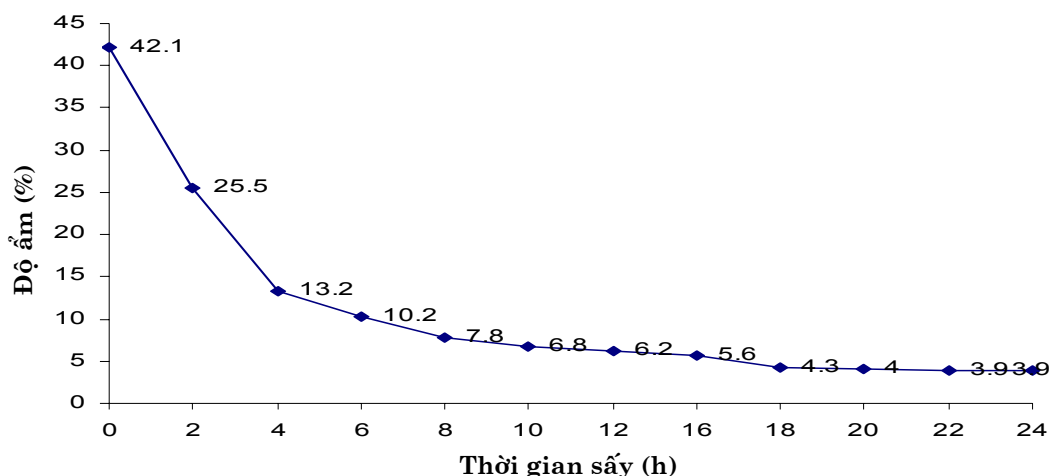
Độ màu đo theo phương pháp tiêu chuẩn EBC (Lê Thanh Mai và cs., 2005).

Toàn bộ phương pháp phân tích hóa học và hóa sinh được tiến hành ba lần kết quả có giá trị thống kê bởi độ lệch tiêu chuẩn có ý nghĩa (mức ý nghĩa chấp nhận  $P \leq 0,05$ ).

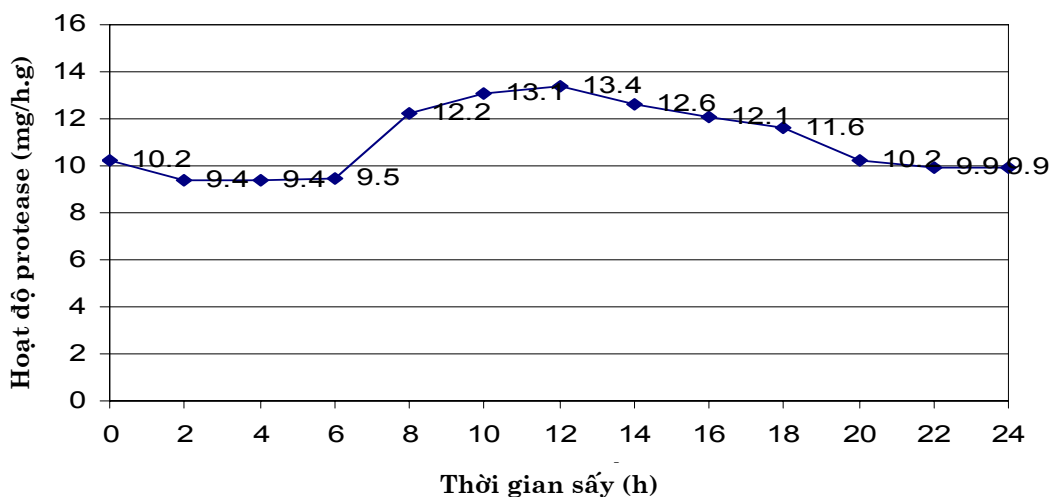
## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Sự thay đổi độ ẩm trong quá trình sấy

Tác dụng của thời gian lên độ ẩm của hạt được biểu thị trong hình 1. Nhiệt độ của quá trình sấy giữ cố định tại 50°C trong 24 h.



Hình 1. Sự thay đổi độ ẩm (%) của malt thóc trong thời gian sấy (h)



Hình 2. Hoạt tính của protease (mg/h.g) của malt thóc theo thời gian sấy (h)

Các giai đoạn sấy gồm: Giai đoạn đầu còn gọi là giai đoạn nung nóng vật liệu sấy đến nhiệt độ bay hơi của ẩm, giai đoạn thứ nhất tốc độ sấy không đổi, giai đoạn cuối tốc độ sấy giảm dần (Nguyễn Văn May, 2004). Trong giai đoạn bay hơi nước tự do, độ ẩm vật liệu giảm từ 42,1% xuống 25,5% trong malt thóc sau 2 h sấy. Giai đoạn này chủ yếu

làm bay hơi nước tự do trong malt. Tốc độ thoát ẩm giảm xuống tương tự như sấy malt đại mạch, độ ẩm giảm từ 42,1% đến 10,2% sau 6 h sấy. Giai đoạn cuối cùng tốc độ sấy giảm dần, độ ẩm từ 10,2% xuống còn 3,9% sau 18 h sấy. Trong giai đoạn này phân làm ba vùng rõ rệt trong vật liệu; vùng ẩm, vùng bay hơi và vùng khô nên lượng bay hơi nước

ra khỏi vật liệu chậm lại (Nguyễn Văn May, 2004). Kết quả này tương tự thu được như quá trình sấy malt đại mạch (Dennis et al., 2000). Kết quả thu được chỉ ra rằng độ ẩm cuối cùng ổn định là 3,9% trong thời gian sấy 24 h ở nhiệt độ 50°C.

### 3.2. Enzyme protease

Sự khác nhau của endo- và exo-protease đã được nghiên cứu trong malt xanh (Jones et al., 1993). Trong nghiên cứu này, hoạt tính protease được đo cùng gelatin như là cơ chất, thủy phân cơ chất này để chỉ ra hoạt tính tổng của protease trong hạt. Sự thay đổi hoạt tính protease trong quá trình sấy của malt thóc được biểu thị trong hình 2. Kết quả cho thấy, sự giảm đi hoạt tính protease từ 10,2 mg/h.g xuống 9,4 mg/h.g trong 4 h sấy. Điều này Dickson và Shands (1942) cũng đã quan sát được trong sự giảm đi hoạt lực protease của malt đại mạch trong các giờ đầu tiên của quá trình sấy tại 45°C. Giảm hoạt tính này có thể liên quan đến enzyme protease (endo-peptidase) không hoạt tính trong quá trình sấy có thể liên quan đến sự thay đổi nhiệt độ và đơn giản nó không hoạt tính trong khi sấy (Jones et al., 1993).

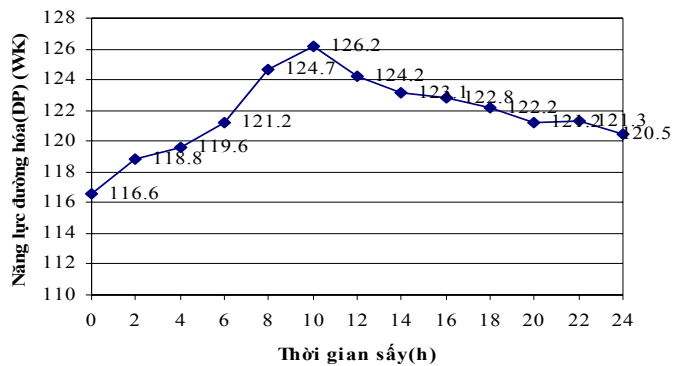
Hoạt độ của protease tăng lên từ 9,4 mg/h.g đến 13,4 mg/h.g vượt qua 6 h sấy (6 - 12 h) của malt thóc. Tăng trưởng này có thể cho là bởi bắt đầu của quá trình phân hủy protein do tăng nhiệt độ trong hạt. Theo Taylor and Boyd (Taylor et al., 1986) phân hủy protein xuất hiện tại nhiệt độ tối ưu 43°C đến 50°C trong hạt lúa miến. Mặt khác sự tăng lên có thể do sự hiện diện của exo-peptidases. Theo Lewis và Young (1995), exo-peptidases bền nhiệt trong quá trình sấy bởi vì chúng bền nhiệt và vẫn còn trong nội nhũ sau quá trình sấy.

Kết quả chỉ ra rằng trong 12 h cuối cùng (12 - 24 h) có sự giảm đi của enzyme protease từ 13,4 mg/h.g xuống 9,9 mg/h.g. Điều này Dickson và Shands (1942) cũng đã quan sát và cho rằng, giảm đi ít và hầu như

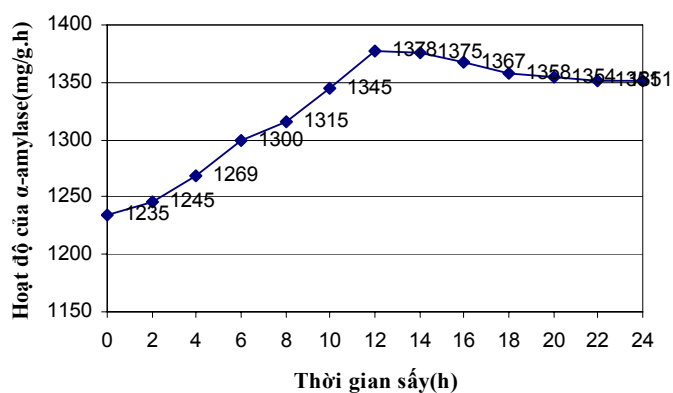
không giảm đi vào giai đoạn gần kết thúc của sấy malt đại mạch. Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy hoạt tính của protease tăng lên khi sử dụng thóc làm malt. Kết quả này cũng phù hợp với sự quan sát của Dennis et al. (2000). Sau quá trình sấy, malt thóc thu được có hoạt tính protease là 9,9 mg/h.g. Hầu hết chúng được tổng hợp trong quá trình ươm mầm và vẫn duy trì được trong quá trình sấy tại 50°C. Malt xanh đã tìm được có hoạt tính protease là 10,2 mg/h.g. Hoạt tính protease trong malt đại mạch 7,1 mg/h.g là thấp hơn so với malt thóc. Tuy vậy trên cơ chất khác nhau có thể tác động của protease trong phá vỡ protein ở các malt ngũ cốc là khác nhau (Jones et al., 1993).

### 3.3. Năng lực đường hóa (Diastatic power)

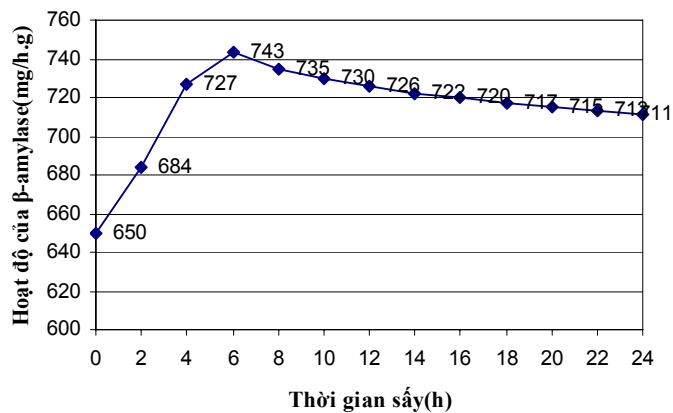
Theo Sabramanian và cs. (1995), đặc tính quan trọng nhất của malt tốt là hàm lượng enzyme cao để thủy phân tinh bột và thu được hàm lượng dịch chiết cao. Hoạt tính amylase của malt đại mạch luôn luôn là thích hợp và quá trình thủy phân hoàn thành khi kết thúc trong giai đoạn nấu. Okolo và cộng sự (1997) cho rằng, tác động của amylase có thể ảnh hưởng bởi nhiệt độ hồ hóa. Năng lực đường hóa (DP) là chỉ số quan trọng nhất trong quá trình làm đồ uống từ malt. DP ảnh hưởng chủ yếu lên độ hòa tan trong quá trình nấu (Agu et al., 1997). Theo dõi quá trình sấy malt thóc (Hình 3) thể hiện sự tăng lên của DP từ 116,6 WK lên 126,2 WK trong thời gian sấy từ 0h đến 10h và sau đó thì giảm đi. DP cao nhất là 126,2 WK đã được ghi nhận trong giờ thứ 10 của quá trình sấy. DP thấp nhất là 116,6 WK đã được ghi nhận khi bắt đầu của quá trình sấy. DP có liên quan hoạt tính trực tiếp lên xuống của hệ enzyme amylase. So sánh DP của malt từ thóc và đại mạch cho ta thấy rằng malt thóc được dùng cho nghiên cứu có DP thấp hơn rất nhiều so với malt đại mạch. Malt đại mạch có hoạt lực là 210 WK gần gấp 2 lần so với malt từ thóc có DP là 123 WK (Bảng 1).



Hình 3. Sự thay đổi của năng lực đường hóa trong quá trình sấy malt



Hình 4. Hoạt tính của  $\alpha$ -amylase (mg/h.g) của malt thóc theo thời gian sấy (h)



Hình 5. Hoạt tính của  $\beta$ -amylase (mg/h.g) của malt thóc theo thời gian sấy (h)

**Bảng 1. Một số đặc tính của thóc, malt thóc và malt đại mạch**

Chỉ tiêu	Thóc chưa làm malt	Malt thóc (OM4088)	Malt đại mạch
Độ ẩm(%)	11,5	3,8	6,4
Độ hòa tan(%)	--	66,3	75
Màu (Đơn vị EBC)	--	7,1	7,5
Lượng malt mát mát (%)	--	22,7	--
Protein (%)	8,65	6,8	8,8
Chỉ số KI (%)	--	34,5	36,8
DP (WK)	26	123	210
Hoạt tính $\alpha$ -amylase (mg/g)	75	1351	1120
Hoạt tính $\beta$ -amylase (mg/g)	125	741	2100
Hoạt tính protease (mg /h.g)	4,2	9,9	7,1

### 3.4. Enzyme $\alpha$ - amylase

Kết quả thu được ở hình 4 cho thấy, sự thay đổi trong hoạt tính  $\alpha$ -amylase trong quá trình sấy malt thóc. Kết quả chỉ ra rằng, hoạt tính  $\alpha$ -amylase tăng lên liên tục trong 12 h sấy từ 1.235 mg/h.g lên đến 1.378 mg /h.g. Điều này phù hợp với kết quả của Uriyo và Eigel (1999) khi làm thí nghiệm với -amylase của lúa miến và chỉ ra sự bền nhiệt của chúng trong quá trình sấy ở nhiệt độ thấp. Sự tăng lên của hoạt tính enzyme có thể vẫn là thuộc tính trong giai đoạn ươm mầm ở nhiệt độ sấy thấp (Dennis et al., 2000). Kết quả thu được chỉ ra khi vượt quá 10 h, hoạt tính của  $\alpha$ -amylase giảm đi từ 1.378 mg/h.g xuống 1.351 mg/h.g. Có nghiên cứu cho rằng, sau 10 h sấy hoạt tính của enzyme trong malt lúa miến giảm đi bởi sự biến tính nhiệt (Lloyd, 1988; Uriyo et al., 1999). Giống như trong hạt đại mạch, enzyme amylase,  $\alpha$ -amylase là bền nhiệt hơn  $\beta$ -amylase (Kunze, 1999). Cả hai loại này hoạt tính tăng lên trong thời gian đầu của quá trình sấy (Hình 4 và 5). Tương tự như hạt đại mạch chưa làm malt, hạt thóc có hoạt tính  $\alpha$ -amylase rất thấp.  $\alpha$ -amylase tạo ra nhiều trong quá trình ươm mầm. So sánh hoạt tính của malt thóc và malt đại mạch ở bảng 1 cho thấy, hoạt tính  $\alpha$ -amylase malt thóc sau quá trình sấy là 1.351 mg/h.g cao hơn so với malt đại

mạch 1.120 mg/h.g. Có mối liên quan giữa hoạt tính của enzyme  $\alpha$ -amylase và protein trong các giai đoạn của quá trình sấy malt. Enzyme có kết hợp với các protein khối lượng phân tử lớn (Kunze, 1999). Kết quả của quá trình nhiệt trong khi sấy làm cho cấu trúc của protein thay đổi, chúng trở lại biến tính. Khi kết thúc quá trình sấy, hoạt tính của  $\alpha$ -amylase tăng lên gần 9,3% so với malt xanh. Đối với malt đại mạch cũng tương tự hoạt tính của  $\alpha$ -amylase tăng lên gần 15% khi kết thúc giai đoạn sấy (Agu et al., 1997; Kunze, 1999).

### 3.5. $\beta$ - amylase

$\beta$ -amylase là enzyme thủy phân liên kết  $\alpha$ -1,4 glucosid giải phóng maltose từ đầu không khử của tinh bột và các polysaccarit tương tự cho đến điểm nhánh đầu tiên  $\alpha$ -1,6 glucosid.  $\beta$ -amylase trong ngũ cốc là quan trọng trong quá trình làm rượu bia đóng góp chính đối với năng lực đường hóa (Lê Thanh Mai và cs., 2005; Dennis et al., 1981).

$\beta$ -amylase là enzyme không bền nhiệt (Lewis et al., 1995) hiện diện trong hạt ngũ cốc ở nhiều dạng (Jone et al., 1993). Hình 5 chỉ ra sự thay đổi hoạt tính của  $\beta$ -amylase trong quá trình sấy. Hoạt tính  $\beta$ -amylase của thóc và malt thóc được trình bày ở bảng 1.

Kết quả cho thấy trong 6 h sấy đầu tiên hoạt tính  $\beta$ -amylase trong malt thóc tăng lên từ 650 mg/h.g lên 743 mg/h.g. Trong nghiên cứu của Okungbowa và cs. (2002) cũng chỉ ra rằng, khi sấy malt lúa miến ở nhiệt độ thấp 40°C, phần biến tính enzyme không bị xâm hại và hoạt tính của enzyme đã được tăng lên. Thêm nữa có thể trong quá trình phân hủy protein của pha enzyme  $\beta$ -amylase trong quá trình sấy có thể làm tăng hoạt tính của  $\beta$ -amylase (Lauriere et al., 1992; Okungbowa et al., 2002). Vượt qua 8 h sấy hoạt tính của  $\beta$ -amylase giảm từ 735 mg/h.g xuống 711 mg/h.g. Một nguyên nhân cho rằng khi hạt malt trong quá trình sấy, trung tâm hoạt tính của  $\beta$ -amylase không hoạt tính mặc dù phù hợp với nhiệt độ thậm chí với nhiệt độ thấp khi sấy (Okungbowa et al., 2002). Bảng 1 chỉ ra sự khác nhau của hoạt tính  $\beta$ -amylase giữa thóc và malt thóc. Điều này cho thấy hoạt tính của  $\beta$ -amylase đã được tạo ra trong quá trình ngâm và ủ mầm. Hoạt tính của thóc và malt thóc sau quá trình sấy là 125 mg/h.g và 741 mg/h.g tương ứng. Trong khi đó malt đại mạch có hoạt tính 2100 mg/h.g. Hoạt tính  $\beta$ -amylase của malt thóc thấp hơn rất nhiều so với malt đại mạch (Bảng 1). Sau khi sấy, hoạt tính  $\beta$ -amylase tăng lên gần 90% so với malt xanh. Trái lại hoạt tính  $\beta$ -amylase trong malt đại mạch lại giảm đi khoảng 40% khi so sánh giữa malt xanh và malt kết thúc quá trình sấy (Kunze, 1999). Điều khác nhau này có thể do các chế độ sấy khác nhau. Malt thóc chỉ sấy ở nhiệt độ xác định là 50°C trong 24 h.

### 3.6. So sánh một số đặc tính của malt thóc sau sấy và malt đại mạch

So sánh các thông số của malt thóc sau sấy với malt đại mạch thương mại (Bảng 1) cho thấy, màu của chúng là gần như nhau: 7,1 đơn vị EBC của malt thóc và 7,5 đơn vị EBC của malt đại mạch, độ hòa tan của malt thóc 66,3% thấp hơn của malt đại mạch là 75% có thể hoạt tính yếu hơn của hệ enzyme

amylase hoặc do nhiệt độ chưa linh hoạt của chế độ chiết dịch. So sánh hàm lượng protein và nitơ hòa tan thì thấy rằng trong malt thóc thấp hơn so với malt đại mạch. Điều này cũng dễ nhận ra bởi hàm lượng protein trong đại mạch cao hơn trong thóc. Trong sản xuất bia hàm lượng nitơ có trong bia có thể tác động đến chất lượng cảm quan của sản phẩm (Lê Thanh Mai và cs. 2005; Dennis et al., 1981). Chỉ số Kolbach (KI) đánh giá mức độ thủy phân protein. Trong nghiên cứu này ở các điều kiện dịch chiết ta thấy chỉ số KI của malt đại mạch và malt thóc có sự chênh lệch không lớn; 34,5 và 36,8 tương ứng cho từng loại.

## 4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu thu được đã làm sáng tỏ ảnh hưởng của quá trình sấy lên hàm lượng ẩm và hoạt lực của enzyme đặc biệt như  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, protease và năng lực đường hóa trong malt thóc. Quá trình sấy kéo dài ở nhiệt độ 50°C làm tăng hoạt tính của enzyme  $\alpha$ -amylase so với  $\beta$ -amylase và protease. Chế độ sấy có ảnh hưởng rõ rệt đến hoạt tính của các enzyme trong malt thóc.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hoàng Đình Hòa (2002). Công nghệ sản xuất malt và bia. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
- Lê Thanh Mai và cộng sự (2005). Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
- Nguyễn Văn May (2004). Kỹ thuật sấy nông sản thực phẩm. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
- Briggs, D.E., Hough, J.S., Stevens, R. and Young, T.W. Malting and Brewing Science, Vol. 1, Chapman & Hall, London (1981) p 387.

- Agu, R. C. and Palmer, G. H., Effect of mashing procedures on some sorghum varieties germinated at different temperatures. *Process Biochem.*, (1997), 32, 147–158.
- Dennis E. Briggs. *Malts and malting*(2000). Blackie Academic & Professional
- Dickson, A. D. and Shands, H. L., (1942) The influence of the drying procedure on malt composition. *Cereal Chem.*, 19, 411– 419.
- Evelyn H. Bandonill and Priscilla C. Sanchez., (2003) Optimization of process parameters for rice (*oryza sativa* l.) beer production in the Philippines. Philippine Rice Research Institute (PHILRICE).
- Morris P. C. and J. H. Bryce. (2000) *Cereal biotechnology*. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- Jones, B. L., Wrobel, R., Marinae, L. and Zhang, N., (1993) Electrophoretic separation and characterisation of barley and green malt endoproteases. Proceedings of the European Brewing Convention Congress, Oslo, IRL Press: Oxford, pp. 53–60.
- Kunze, W., *Malt Production* (1999). Barley steeping, barley germination, malt kilning. *In: Technology Brewing and Malting*, 2nd ed. Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei: Berlin, pp. 123-143.
- Lauriere, C., Doyen, C., Thevenot, C. and Daussant, J., (1992).  $\beta$ -Amylase in cereals. *Plant Physiol.*, 100, 887–893.
- Lewis, M. J. and Young, T. W., (1995). *Brewing*, 1st Ed., Chapman and Hall: London, 451–464.
- Lloyd, W. J. W., (1988) Environmental effects on the biochemical phases of malt kilning. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 46(1), 8-13.
- Ogbonna, A. C., Obi, S. K. C. and Okolo, B. N., (2004) Optimization of proteolytic activities in malting sorghum. *Proc. Biochem.*, 39, 711–716.
- Okungbowa, J., Obeta, J. A. N. and Ezeogu, L. I.,(2002) Sorghum  $\beta$ -amylase production: Relationship with grain cultivar, steep regime, steep liquor composition and kilning temperature. *J. Inst. Brew.*, 108(3), 362–370.
- Taylor, J. R. N. and Boyd, H. K., (1986) Free  $\alpha$ -amino nitrogen production on sorghum beer mashing. *J. Sci. Food Agric.*, 37, 1109–1117.
- T. A. DYER and L. NOVELLIEB., (1966) Kaffircorn Malting And Brewing Studies XVI. The Distribution and Activity of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Amylases in Germinating Kaffircorn. *J. Sci. Fd Agric.*, Vol. 117, October.
- Uriyo, M. and Eigel, W. E., (1999) Duration of kilning treatment on  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, and endo-(1-3)(1-4)- $\alpha$ -D-glucanase activity of malted sorghum (*Sorghum bicolor*). *Process Biochem.*, 35, 433–436.
- Okolo, B. N., and Ugwuanyi, K. E. (1997) Amylolysis of sorghum starch as influenced by cultivar, germination time and gelatinization temperature. *J. Inst. Brew.* 103:371-376,.
- Warchalewsbkis J. R., B. Stasinska and D. Madaj. (1995) Changes in pH and some biological activities of extractable proteins during malting process of wheat grain. VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim.