



بررسی روند تغییرات محصول تولید شده در طی هیدرولیز نشاسته به وسیلهی آنزیمهای آلفاآمیلاز و دکستروزایم با دیالکتریک

کریم شمس‌الدینی لری^۱، احمد بناکار^۲، محمدهادی خوش تقاضا^۳ و حسن احمدی گاولیقی^۴

دانشجوی کارشناسی ارشد مکانیک بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس، k.shamsoddini@modares.ac.ir

^۲دانشیار گروه مکانیک بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس، ah_banakar@modares.ac.ir و khoshtag@modares.ac.ir

^۴استادیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس، ahmadi_ha@modares.ac.ir

چکیده

محصولات کشاورزی حاوی مقادیر زیادی نشاسته‌اند، که به عنوان منبع غذایی و هم‌چنین در تولید اتانول، بیومس و صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مهم‌ترین آنزیم هیدرولیز کننده‌ی نشاسته آلفاآمیلاز می‌باشد که محصولات حاصل گلوکز و مالتوز می‌باشد و برای تبدیل کامل نشاسته به گلوکز از آنزیم دکستروزایم استفاده می‌شود. در این پژوهش از نشاسته ۱ درصد و مقدار ۵ میکرولیتر آنزیم برای هیدرولیز نشاسته استفاده شد. در مدت یک ساعت، تغییرات ضریب دی‌الکتریک در ۶ فرکانس اندازه‌گیری شد که با مقدار گلوکز رابطه‌ای معکوس با $R^2 = 0/97$ داشت. ضریب همبستگی برای هیدرولیز با آنزیم آلفاآمیلاز ۰/۸۶ و در حالت هیدرولیز با دکستروزایم ۰/۳۳ است. با افزایش گلوکز، ضریب دی‌الکتریک کاهش می‌یابد.

کلمات کلیدی: هیدرولیز نشاسته، آنزیم آلفاآمیلاز، آنزیم دکستروزایم، ضریب دی‌الکتریک

Investigation of the Process of Changes in the Product Produced During Starch Hydrolysis by Alpha-Amylase and Dextrozyme Enzymes with Dielectric

K. Shamsoddini lori^a, A. Banakar^b, M. H. Khoshtaghaza^c and H. Ahmadi Gavlighi^d

^{a, b, c}Biosystems Engineering Department, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

^dFood Industry Department, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

Agricultural products that contain large amounts of starch are used directly as a food source, and are also used in the production of Ethanol, Biomass and Food industries. The most important starch hydrolyzing enzyme is α -amylase, which is a product of glucose and maltose, and is used to completely transform starch into glucose from Dextrozyme enzyme. In this study, starch 1% and 5 microliter enzyme were used for starch hydrolysis. During one hour, the variation of the dielectric coefficient was measured at 6 frequencies, with a glucose reverse relationship with $R^2 = 0.97$. This coefficient for hydrolysis with the enzyme Alpha-amylase 0.86 and hydrolysis with Dextrozyme is 0.33, and decreases the dielectric coefficient by increasing glucose concentration.

Keywords: Starch Hydrolysis, Alpha-Amylase and Dextrozyme Enzyme, Dielectric Coefficient.

۱- مقدمه

محصولات کشاورزی حاوی نشاسته، بخش مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. علاوه بر استفاده مستقیم از قسمت‌های حاوی نشاسته گیاهی به عنوان منبع غذایی، نشاسته پس از استخراج از دانه به همان صورت یا پس از تغییرات شیمیایی یا آنزیمی برای تبدیل به محصولات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. منابع صنعتی نشاسته به طور عمده ذرت، سیب زمینی، گندم، برنج و تاپوکا هستند. حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد از وزن خشک ذرت، گندم و سایر محصولات از نشاسته قابل هیدرولیز تشکیل شده است (Goyal, Gupta, & Soni, 2005). نشاسته دارای دو نوع پلیمری گلوکزی می‌باشد: ۱- آمیلوز^۲ - آمیلوپکتین^۳. آمیلوز منحصراً دارای پیوند گلیکوزیدی α -۱ و ۴ می‌باشد. بنابراین یک پلیمر خطی است. آمیلوپکتین علاوه بر دارا بودن پیوندهای α -۱ و ۴ دارای تعداد زیادی شاخه‌های جانبی است، پیوند گلیکوزیدی در محل انشعاب از نوع α -۱ و ۶ می‌باشد در هر ۱۵ تا ۴۵ واحد گلوکزی یک انشعاب وجود دارد (Hamilton, Kelly, & Fogarty, 1999). از نشاسته برای تولید اتانول (Xu, Cui, Cheng, & Stomp, 2011)، تهیه‌ی شیرین کننده‌ها و شربت‌ها (Kirk, Borchert, & Fuglsang, 2002) و تهیه‌ی اسید لاکتیک (Yew, Mohd

^۱نویسنده‌ی مسئول: احمد بناکار، کیلومتر ۱۷ آزادراه تهران-کرج، دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

Ah_banakar@modares.ac.ir

Amylose^۲

Amylopectin^۳



استفاده می‌شود. (Yusof, Mohd Ishak, & Ishiaku, 2005)

۱-۱- آنزیم‌های مورد استفاده در هیدرولیز نشاسته

چهار گروه آنزیم مؤثر بر نشاسته وجود دارد: ۱- اندوآمیلازها^۱، ۲- اگزوآمیلازها^۲، ۳- آمیلازهای شاخه‌شکن^۳ و ۴- ترانسفرازها^۴ (Hamung Patel, 2014; Ibrahim Khalil Adam, 2013). اما مهم‌ترین کاربرد هیدرولیز نشاسته، در تهیه‌ی دکستروز می‌باشد. صنعت تولید دکستروز با استفاده از نشاسته شامل مراحل متعددی است که از آنزیم‌های مقاوم حرارتی آلفا-آمیلاز^۵ و گلوکوآمیلاز^۶ نیز استفاده می‌شود. آنزیم‌ها در واقع کاتالیزور تبدیل نشاسته به مونومر گلوکز هستند (Singh, Dartois, & Kaur, 2010). در مرحله‌ی اول دوغاب نشاسته از طریق پخت در حرارت بالا ژلاتینی می‌شود. نشاسته ژلاتینی ابتدا توسط آلفاآمیلاز مقاوم به گرما مایع شده و به دکسترین تبدیل می‌شود. این شربت برای مرحله قندسازی آماده است. در طی مراحل مایع‌سازی و دکسترینی‌شدن نشاسته، کیفیت نشاسته، غلظت آن، میزان آنزیم آلفاآمیلاز، دما، pH و زمان باید کاملاً دقیق بررسی شود تا عمل پخت و تبدیل دکسترین به خوبی انجام پذیرد. چنانچه مراحل عمل به خوبی انجام نشود محصول نهایی حاوی نشاسته هیدرولیز نشده می‌باشد و همچنین در محصول نهایی نیز ناخالصی مالتوز ایجاد می‌شود که از لحاظ طعم با محصول اصلی شربت غلیظ فروکتوز متفاوت است (Slominska, 1989).

۱-۲- فعالیت آنزیم در هیدرولیز نشاسته

بر اثر فعالیت آنزیم روی نشاسته، نشاسته به قندهای ساده‌تری شکسته می‌شود. بر اثر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز، نشاسته به گلوکز، مالتوز و دکسترین تبدیل می‌شود در حالی که با افزودن دکستروزایم کل نشاسته به گلوکز تبدیل می‌شود (Słomińska, Klisowska, & Grzeskowiak, 2003). روش‌های آزمایشگاهی برای تعیین فعالیت آنزیم نیاز به تجهیزات گران‌قیمت و آماده‌سازی نمونه دارد (Yoo, Hong, & Hatch, 1987). امروزه استفاده از روش‌های نوین برای تعیین برخی ویژگی‌ها در حوزه‌ی کشاورزی نیز مورد توسعه یافته است. از بین این روش‌ها، روش دی‌الکتریک به دلیل سادگی، بر خط بودن و عدم نیاز به آماده‌سازی نمونه بیشتر مورد استفاده قرار گرفته است. از دی‌الکتریک در محصولات کشاورزی برای تعیین میزان رطوبت، ماده تشکیل دهنده‌ی و چگالی محصولات کشاورزی استفاده می‌شود. در حوزه‌ی صنایع غذایی نیز از خواص دی‌الکتریک استفاده شده است. خواص دی‌الکتریک در محصولات بیولوژیک و مواد غذایی پارامتر مهمی می‌باشد (IÇİer & Baysal, 2004). در تحقیقی اثر پارامترهایی از قبیل: درصد رطوبت، دما و مواد تشکیل دهنده‌ی ماده را روی خواص دی‌الکتریک اسیدهای چرب و روغن مورد بررسی قرار دادند و اثر این پارامترها را در فرکانس‌های مختلف دنبال شد. در این تحقیق گزارش شد که با زیاد شدن تعداد پیوندها و دوقطبی‌ها در اسید چرب ضریب دی‌الکتریک نیز افزایشی بوده است (Liao, Raghavan, Dai, & Yaylayan, 2003). در تحقیقی که روی محلول‌های متفاوت گلوکز در ۲۴۵۰ مگاهرتز انجام گرفت؛ مشخص شد که با افزایش غلظت گلوکز، ضریب دی‌الکتریک کاهش خواهد بود و همچنین ضریب دی‌الکتریک بدست آمده تابعی از دمای محلول نیز می‌باشد همچنین در تحقیقی که روی میزان قند خون افراد و خواص دی‌الکتریک پلاسمای آنان انجام گرفت مشخص شد که می‌توان با استفاده از رابطه بین مقدار قند خون و ضریب دی‌الکتریک بیماری دیابت را در افراد به خوبی پیش‌بینی کرد (Topsakal, Karacolak, & Moreland, 2011). اما تاکنون گزارشی مبنی بر اندازه‌گیری خواص دی‌الکتریک گلوکز در طی فرآیند هیدرولیز نشاسته نشده است. در این پژوهش خواص دی‌الکتریک محلول نشاسته در طی هیدرولیز با آنزیم آلفاآمیلاز و دکستروزایم در ۶ فرکانس مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- دستگاه ظرفیت‌سنج

دستگاه ظرفیت‌سنج طراحی شده در این تحقیق شامل بدنه، برد آردوینو، ماژول ارسال و دریافت سیگنال، برد انتقال بلوتوث و حسگر خازنی است (شکل ۱). پارامترهایی که می‌توان از یک ظرفیت‌سنج خازنی دریافت کرد عبارتند از ضریب دی‌الکتریک و ضریب اتلاف. با قرار دادن ماده‌ی دی‌الکتریک متفاوت در بین دو صفحه‌ی خازن میزان ضریب دی‌الکتریک متفاوت است. برنامه مربوط به ظرفیت‌سنج در نرم‌افزار MATLAB ورژن R2016b نوشته شد به طوری که با فراخوانی پورت، دو پارامتر خازن را ذخیره می‌کند. صفحات خازن مورد استفاده از جنس آلومینیوم انتخاب شد که

^۱ Endoamylase
^۲ Exoamylase
^۳ Branch Enzymes
^۴ Transferases
^۵ α-amylase
^۶ Glucoamylase
^۷ Dextrin

در برابر تغییرات شیمیایی و اثرات رطوبتی دارای مقاومت است و دچار خوردگی نمی‌شود. در این پژوهش از ۶ فرکانس ۱۱،۲۱،۳۱،۴۱ و ۵۱ مگاهرتز در سه تکرار استفاده شد.

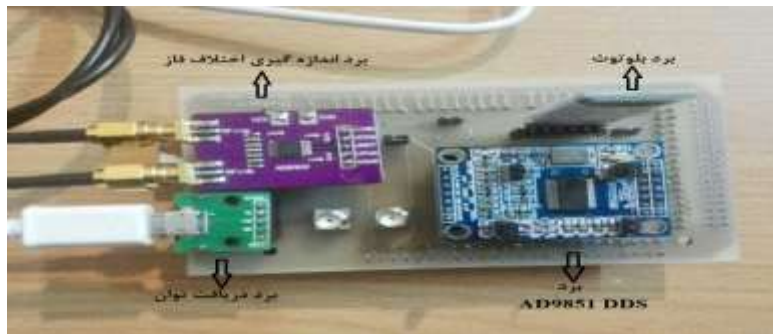


Figure1. The Electronic part of the Dielectric Coefficient measurement system

شکل ۱- بخش الکترونیکی سامانه‌ی اندازه‌گیری ضریب دی‌الکتریک

۲-۲ منحنی استاندارد گلوکز

از محلول گلوکز برای تهیه‌ی منحنی استاندارد گلوکز و همچنین اندازه‌گیری روند تغییرات ضریب دی‌الکتریک و ضریب اتلاف استفاده شد. در ابتدا گلوکز به صورت پودر با خلوص ۹۹ درصد از شرکت مرک آلمان تهیه شد. محلول استوک یک مولار گلوکز با آب مقطر ساخته شد و پس از آن نمونه‌هایی با مولاریته ۱ تا ۱۰ میلی‌مولار با سه بار تکرار در محفظه‌ی ظرفیت‌سنج خازنی قرار گرفت و ضریب دی‌الکتریک و ضریب اتلاف نمونه‌ها دریافت و ذخیره شد.

۲-۳ آلفا آمیلاز

محلول یک درصدی از نشاسته (محصول شرکت مرک آلمان با خلوص ۹۹ درصد و عدد جرمی 180 gr/lit) در بافر سدیم فسفات (pH=۶٫۸) تهیه شد و به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا نشاسته ژلاتینی شود و سپس روی هیتر مگنت (دمای 50°C و دور 870 rpm) قرار گرفت تا دمای آن کاهش یابد. پس از رسیدن به دمای ثابت 50°C درجه سانتیگراد، مقدار 10 میکرولیتر آنزیم آلفا آمیلاز (Termamyl محصول شرکت Novaza دانمارک) به آن اضافه گردید و در مدت یک ساعت با شرایط ثابت مقدار ضریب دی‌الکتریک آن دریافت و ذخیره شد.

۲-۴ آنزیم دکستروزایم

تمامی مراحل مربوط به آماده‌سازی نمونه با آنزیم آلفا آمیلاز تکرار شد و محلول به مدت یک ساعت با شرایط دمای 50°C و دور 870 rpm در محیط آزمایشگاه قرار داشت تا آنزیم آلفا آمیلاز در این شرایط حداکثر فعالیت روی نشاسته را داشته باشد. پس از این مرحله pH نمونه با اضافه کردن هیدروکلریک اسید (0.1 N HCL) از $6/8$ به $4/8$ کاهش یافت تا شرایط نمونه برای فعالیت دکستروزایم مناسب گردد. محلول روی هیتر مگنت با دمای 60°C و دور 870 rpm قرار گرفت و پس از ثابت شدن دما مقدار 10 میکرولیتر آنزیم دکستروزایم (Dextrozyme محصول شرکت Novaza دانمارک) به آن اضافه گردید و در مدت یک ساعت (زمان‌های 10 دقیقه‌ای) اندازه‌گیری و ذخیره گردید.

۲-۵ فعالیت آنزیم

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم از روش رنگ‌سنجی استفاده شد. تمام نمونه‌ها با معرف رنگ‌سنجی DNS ترکیب شد و پس از رقیق‌سازی در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Cary 60 UV-vis از شرکت Agilent Technologies) در آزمایشگاه صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس قرار گرفتند و میزان جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج 540 نانومتر اندازه‌گیری شد.

۳- نتایج و بحث

اندازه‌گیری خواص دی‌الکتریک محلول گلوکز با مولاریته ۱ تا 10 میلی‌مولار نشان داد که ضریب دی‌الکتریک با افزایش میزان غلظت گلوکز کاهش می‌یابد؛ همانطور که در تحقیقی که بر روی محلول‌های حاوی گلوکز توسط لیو و همکاران در سال 2003 انجام شد و مقدار ضریب دی‌الکتریک آن محاسبه گردید روند تغییرات ضریب دی‌الکتریک با مقدار گلوکز رابطه‌ای معکوس داشت. آنان گزارش دادند که با افزایش میزان غلظت گلوکز مقدار ضریب دی‌الکتریک کاهش یافته است که این موضوع از مقدار دمای آزمایش نیز تأثیرپذیر است و هر چه دما بیشتر باشد، مقدار ضریب دی‌الکتریک کمتر است و دلیل آن نیز ممکن است وجود مولکول آزاد بزرگتر در غلظت بیشتر نسبت به غلظت کمتر باشد.

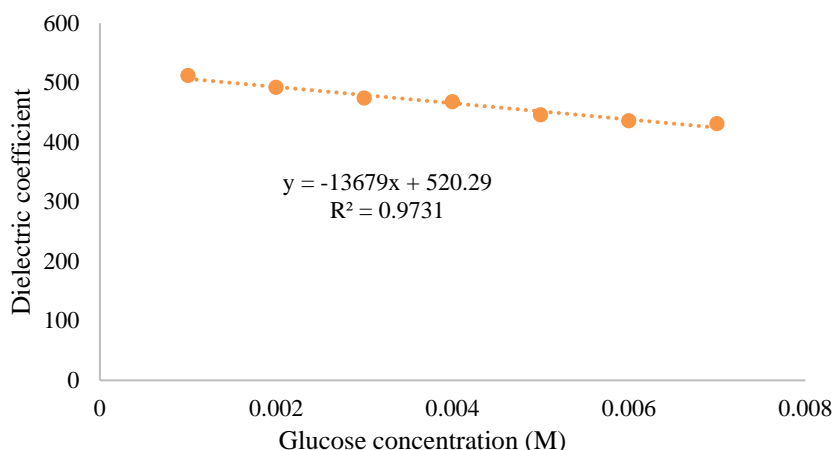


Figure 2. Changes of Dielectric Coefficient based on glucose concentration

شکل ۲- منحنی تغییرات ضریب دی الکتریک بر پایه غلظت گلوکز

تغییرات ضریب دی الکتریک مربوط به گلوکز موجود در خون نیز با افزایش میزان گلوکز موجود در خون کاهشی می‌باشد و با افزایش فرکانس از ۱۰۰ مگاهرتز تا ۲٫۵ گیگاهرتز مقدار ضریب دی الکتریک کاهش پیدا می‌کند. در این تحقیق بیشترین ضریب دی الکتریک را در فرکانس ۱ مگاهرتز بدست آمد و با افزایش فرکانس مقدار ضریب دی الکتریک کاهش پیدا کرد (شکل ۳). از بین شش فرکانس اعمالی به محلول گلوکز تغییرات ضریب دی الکتریک در فرکانس ۱ مگاهرتز بیشترین مقدار همبستگی یعنی $R^2 = 0.9731$ را داشت. نمودار تغییرات ضریب دی الکتریک هنگامی که تنها از آنزیم آلفا آمیلاز برای تجزیه نشاسته استفاده شده به همراه نمودار تغییرات ضریب دی الکتریک هنگامی علاوه بر آنزیم آلفا آمیلاز از آنزیم دکستروزایم استفاده شده است؛ در شکل ۳ نشان داده شده است.

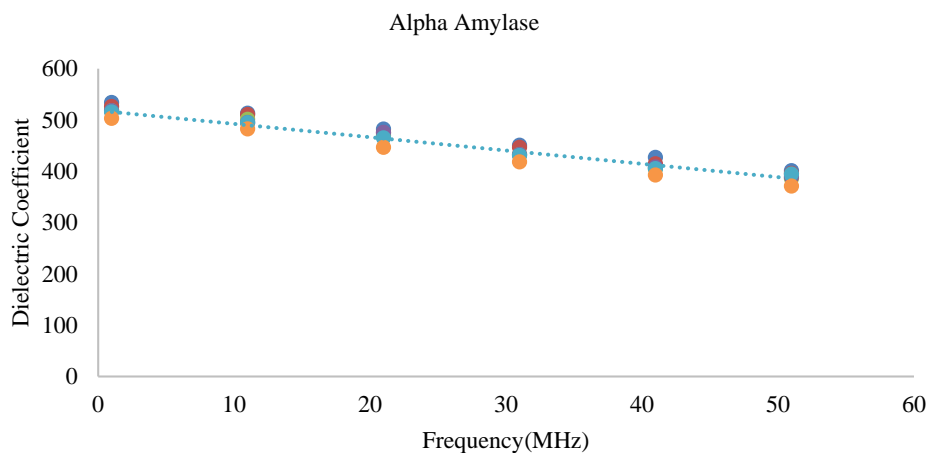


Figure 3. Changes in the Dielectric Coefficient at frequencies from 1-51 MHz

شکل ۳- تغییرات ضریب دی الکتریک در فرکانس‌های ۱ تا ۵۱ مگاهرتز

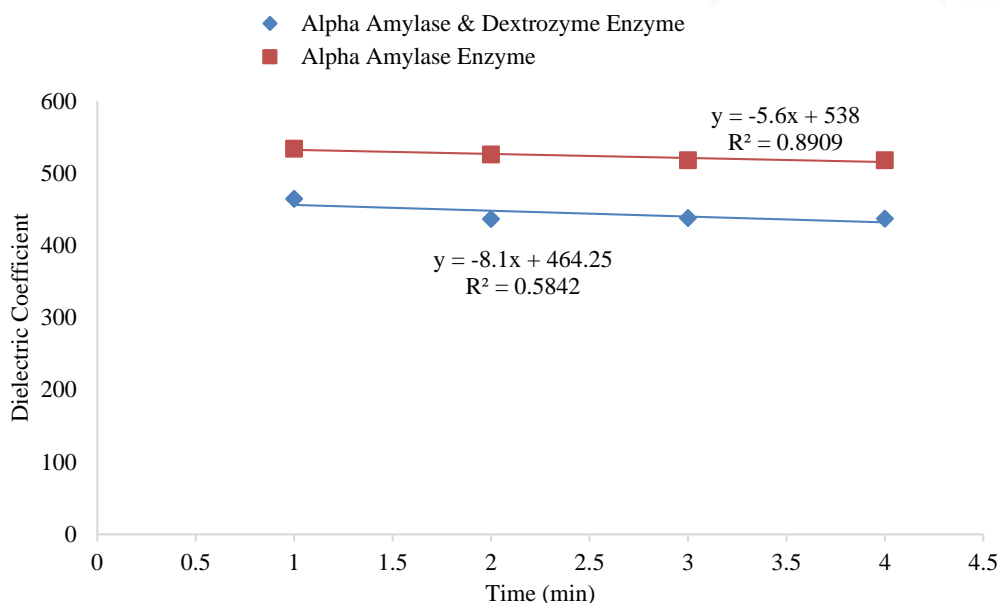


Figure 4. Changes in Dielectric Coefficient during Starch Hydrolysis: with Alpha Amylase Enzyme ■ Alpha Amylase Enzyme ◆ Alpha Amylase & Dextrozyme Enzyme

شکل ۴- روند تغییرات ضریب دیالکتریک در مدت یک ساعت هیدرولیز نشاسته با آنزیم آلفا آمیلاز و هیدرولیز آن با آنزیم دکستروزایم این شکل روند تغییرات ضریب دیالکتریک مربوط به هیدرولیز نشاسته در مدت زمان ۱ ساعت را نشان می‌دهد. همان‌طور که در بخش قبل اشاره شد تغییرات ضریب دیالکتریک با افزایش مقدار گلوکز کاهش پیدا می‌کند و این موضوع در نمودار به درستی بیان شده است. یعنی هنگامی که از آنزیم آلفا آمیلاز به تنهایی برای هیدرولیز نشاسته بهره گرفته می‌شود علاوه بر تولید گلوکز مقادیری مالتوز و هم‌چنین دکستروزین تولید می‌شود و هنگامی که بعد از هیدرولیز نشاسته به وسیله آنزیم آلفا آمیلاز به محلول آنزیم دکستروزایم اضافه می‌شود، کل نشاسته تبدیل به گلوکز می‌شود و به همین سبب نمودار ضریب دیالکتریک در هنگام استفاده از دو آنزیم پایین‌تر از نمودار ضریب دیالکتریک با آنزیم آلفا آمیلاز قرار گرفته است. علت آنکه نمودار در زمان‌های بالاتر از ۳۰ دقیقه تغییرات چندانی نداشته و به معنای دیگر مقدار ضریب دیالکتریک تقریباً ثابت بوده است آن است که در این زمان آنزیم بیشترین فعالیت را بر روی نشاسته داشته است و سطح گلوکز ثابت می‌ماند و با توجه به ثابت بودن سایر موارد مؤثر بر ضریب دیالکتریک در این آزمایش مقدار ضریب دیالکتریک ثابت می‌ماند.

اندازه‌گیری مقدار فعالیت آنزیم روی نشاسته از روش ناپیوسته و با استفاده از اسپکتوفوتومتر انجام شد. محلول استاندارد گلوکز برای مشخص کردن مقدار فعالیت از روش میلر تهیه شد و مقدار جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. روند تغییرات جذب محلول استاندارد گلوکز در شکل (۱) نمایش داده شده است. از جمله ویژگی‌های نمودار جذب محلول استاندارد داشتن $R^2 > 0.97$ می‌باشد که نمودار جذب محلول گلوکز دارای $R^2 = 0.9709$ می‌باشد.

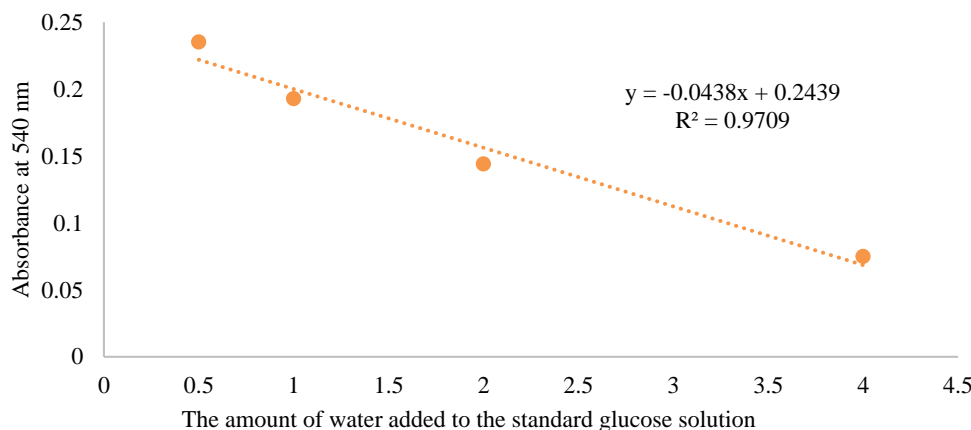


Figure 5. Absorption Curve at 540 nm on the Concentration of Glucose Standard Solution

شکل ۵- منحنی جذب نوری در طول موج ۵۴۰ نانومتر بر غلظت محلول استاندارد گلوکز



استفاده تنها از آلفا آمیلاز در هیدرولیز نشاسته سبب شکسته شدن پیوندهای $\alpha(1-4)$ آمیلوز و آمیلوپکتین می شود و حاصل هیدرولیز نشاسته قندهایی با وزن مولکولی کمتر مثل مالتوز، گلوکز و دکستروز می شود (Słomińska et al., 2003) و تغییرات ضریب دیالکتریک به سبب وجود گلوکز کاهشی خواهد بود اما چون سایر مواد نیز تشکیل شده است مقدار آن از هنگامی که تنها از دکستروز ایم استفاده شد بیشتر است چون که محصول حاصل از هیدرولیز نشاسته با دکستروز ایم فقط گلوکز است.

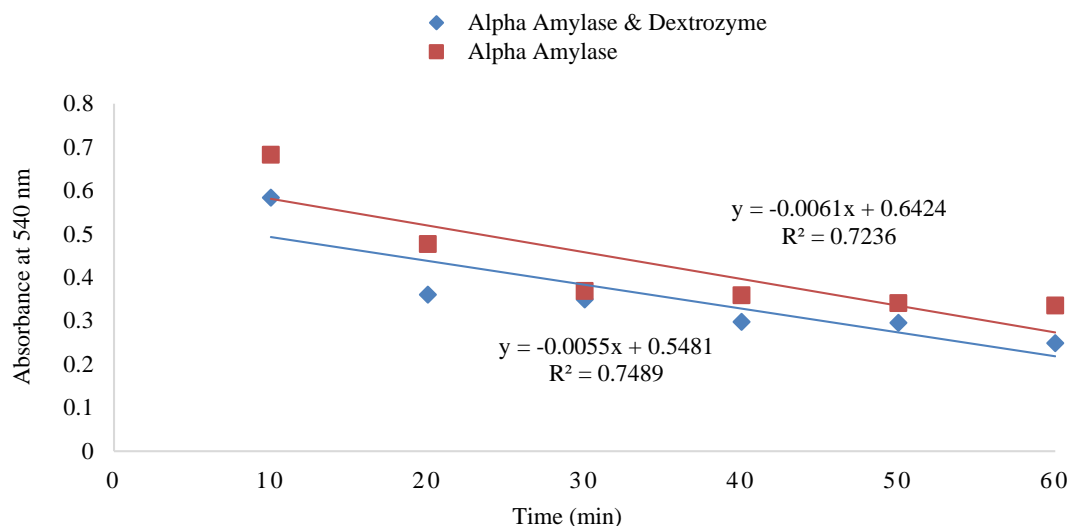


Figure 6. Absorption for 1 hour of Starch Hydrolysis with Alpha-Amylase Enzyme and Hydrolysis with Dextrozyme Enzyme

شکل ۶- مقدار جذب در مدت یک ساعت هیدرولیز نشاسته با آنزیم آلفا آمیلاز و هیدرولیز آن با آنزیم دکستروز ایم

۴- نتیجه گیری

در هیدرولیز نشاسته به وسیله آنزیم آلفا آمیلاز قندهایی با جرم مولکولی کمتر مانند مالتوز و گلوکز به وجود می آید که به وسیله ضریب دی الکتريک می توان مقدار گلوکز تولید شده را بدست آورد اما تأثیر مواد تولید شده مانند مالتوز روی تغییرات ضریب دی الکتريک اثر چندانی ندارد. روند تغییرات ضریب دی الکتريک با در طی هیدرولیز نشاسته کاهشی است که نشانگر تولید بیشتر گلوکز می باشد که این موضوع را روش رنگ سنجی به خوبی نشان می دهد. با ضریب دی الکتريک می توان فعالیت آنزیم را مشخص کرد.

۵- منابع

- Adam, I. K. (۲۰۱۳). Starch-based bioethanol process innovation. University of Leeds.
- Goyal, N., Gupta, J. K., & Soni, S. K. (۲۰۰۵). A novel raw starch digesting thermostable α -amylase from *Bacillus* sp. I- γ and its use in the direct hydrolysis of raw potato starch. *Enzyme and Microbial Technology*, ۳۷(۷), ۷۲۳-۷۳۴. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.04.017>
- Kirk, O., Borchert, T. V., & Füglsang, C. C. (۲۰۰۲). Industrial enzyme applications. *Current Opinion in Biotechnology*, ۱۳(۴), ۳۴۵-۳۵۱. doi: [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00328-2](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00328-2)
- Liao, X., Raghavan, G. S. V., Dai, J., & Yaylayan, V. A. (۲۰۰۳). Dielectric properties of α -D-glucose aqueous solutions at ۲۴۵۰ MHz. *Food Research International*, ۳۶(۵), ۴۸۵-۴۹۰. doi: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00196-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00196-5)
- Singh, J., Dartois, A., & Kaur, L. (۲۰۱۰) Starch digestibility in food matrix: a review. *Trends in Food Science & Technology*, ۲۱(۴), ۱۶۸-۱۸۰. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.12.001>
- Słomińska, L. (۱۹۸۹). Enzymatic modification of low conversion starch products. *Starch-Stärke*, ۴۱(۵), ۱۸۰-۱۸۳
- Słomińska, L., Klisowska, M., & Grześkowiak, A. (۲۰۰۳). Degradation of starch granules by amylases. *Electron. J. Polish Agric. Univ. Series Food Sci. Technol.*, (۲)۶
- Xu, J., Cui, W., Cheng, J. J., & Stomp, A.-M. (۲۰۱۱). Production of high-starch duckweed and its conversion to bioethanol. *Biosystems Engineering*, ۱۱۰(۲), ۶۷-۷۲. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2011.06.007>
- Yew, G. H., Mohd Yusof, A. M., Mohd Ishak, Z. A., & Ishiaku, U. S. (۲۰۰۵). Water absorption and enzymatic degradation of poly(lactic acid)/rice starch composites. *Polymer Degradation and Stability*, ۹۰(۳), ۴۸۸-۵۰۰. doi: <https://doi.org/10.1016/j.polydegradstab.2005.04.006>
- Yoo, Y. J., Hong, J., & Hatch, R. T. (۱۹۸۷). Comparison of α -amylase activities from different assay methods. *Biotechnology and bioengineering*, ۳۰(۱), ۱۴۷-۱۵۱