

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC CHẤT HỖ TRỢ LÀM SẠCH TRONG QUÁ TRÌNH TÁCH TINH BỘT ĐẾN SỰ THAY ĐỔI CẤU TRÚC VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG TIÊU HÓA CỦA TINH BỘT ĐẬU XANH

Nguyễn Thị Mai Hương^{1,2,*}, Phan Ngọc Hòa², Phạm Văn Hùng³

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định sự thay đổi về hàm lượng amyloza, cấu trúc phân tử và khả năng kháng tiêu hóa của tinh bột đậu xanh có sử dụng các chất hỗ trợ làm sạch trong quá trình tách tinh bột bằng phương pháp nghiền ướt. Ba loại dung dịch gồm Na_2SO_3 0,2%; NaOH 0,1% và NaHSO_3 0,15% được bổ sung vào công đoạn ngâm huyền phù tinh bột trước khi lắng, rửa và sấy khô tinh bột. Mẫu tinh bột tách bằng nước không dùng chất hỗ trợ cũng được thực hiện làm mẫu đối chứng. Kết quả cho thấy, dung dịch ngâm bằng NaOH 0,1% có ảnh hưởng lớn đến hàm lượng amyloza, tỷ lệ phân bố chuỗi trong amylopectin, mô hình nhiễu xạ tia X, cấu trúc phân tử tầm ngắn phân tích bằng FT - IR và hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa. Mẫu tinh bột sử dụng chất hỗ trợ Na_2SO_3 0,2% có kết quả khác biệt so với mẫu đối chứng ở tất cả các chỉ tiêu xác định ngoại trừ hàm lượng tinh bột kháng. Không có sự khác biệt về các chỉ tiêu phân tích được tìm thấy trong mẫu dùng dung dịch NaHSO_3 0,15% so với mẫu đối chứng. Các mẫu khảo sát đều thể hiện cấu trúc kết tinh dạng A. Như vậy, việc dùng dung dịch ngâm NaOH 0,1% và Na_2SO_3 0,2% trong quá trình tách và làm sạch tinh bột đậu xanh có ảnh hưởng đáng kể đến cấu trúc phân tử của tinh bột đậu xanh, trong khi đó cấu trúc này không bị ảnh hưởng khi tách bằng dung dịch NaHSO_3 0,15%.

Từ khóa: Tinh bột đậu xanh, tinh bột kháng tiêu hóa, cấu trúc phân tử, nhiễu xạ tia X.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu xanh (*Vigna radiata*) là một trong những loại hạt đậu đỗ cung cấp chủ yếu protein, carbohydrate, vitamin và khoáng chất. Đậu xanh chứa khoảng 31% tinh bột trên tổng khối lượng hạt [18]. Các nghiên cứu gần đây mang tính khám phá về tinh bột, trong đó tập trung chủ yếu liên quan đến việc thực hiện những biến đổi trong cấu trúc phân tử của tinh bột nhằm làm thay đổi những tính chất vốn có của tinh bột, hoặc tạo ra những loại tinh bột có khả năng kháng tiêu hóa (RS-resistant starch) hoặc tiêu hóa chậm (SDS-slow digestion starch) [14], [19], [15], [27]. Trong các nghiên cứu này, phương pháp thu nhận tinh bột đều sử dụng là nghiền ướt nhưng với các điều kiện thực hiện được đề cập khác nhau nên khó so sánh kết quả và đánh giá tác động của các phương pháp biến đổi. Vấn đề đặt ra là có sự thay đổi nào không trong cấu trúc phân tử của tinh bột

đậu xanh khi tiến hành tách tinh bột bằng phương pháp nghiền ướt có hoặc không sử dụng chất hỗ trợ làm sạch. Phương pháp nghiền ướt trong quá trình tách tinh bột với nhiều chất hỗ trợ làm sạch khác nhau thường được sử dụng như nước, Na_2SO_3 0,2%, NaOH 0,1% và NaHSO_3 0,15% [5], [24], [19], [8], [10], do đó cần phải có các nghiên cứu về sự ảnh hưởng của các chất làm sạch này được sử dụng trong phân tách tinh bột đậu xanh để phục vụ cho mục đích nghiên cứu chuyên sâu về loại tinh bột này. Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá sự thay đổi của hàm lượng amyloza, cấu trúc phân tử và khả năng kháng tiêu hóa của tinh bột đậu xanh khi tách bằng phương pháp sử dụng các chất hỗ trợ làm sạch khác nhau. Kết quả của nghiên cứu sẽ giúp cho việc chọn lựa phương pháp tốt nhất trong phân tách tinh bột cho những mục đích nghiên cứu chuyên sâu về cấu trúc phân tử của tinh bột.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Hạt đậu xanh trong nghiên cứu từ giống DX044 được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển đậu đỗ, Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm. Đây là loại thuộc dòng đậu xanh hạt to (65 g/1.000

¹ Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh

² Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

³ Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Quốc tế

*Email: nguyenthimaihuong@iuh.edu.vn

hạt đến 70 g/1.000 hạt), vỏ xanh vàng, bóng, ruột vàng.

Test kit RS của Magaenzyme, các enzym α -amylaza, amyloglucosidaza, pullulanaza mua từ Công ty TNHH Sigma Aldrich. Các hóa chất khác dùng trong phân tích được mua từ Công ty Merck (Darmstadt, Germany).

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Tinh bột đậu xanh DX044 được tách dựa theo phương pháp của Li và cs (2011) [16] với một vài thay đổi trong dung dịch ngâm khác nhau cụ thể là nước cất, Na_2SO_3 0,2%, NaOH 0,1%, hoặc NaHSO_3 0,15% với tỷ lệ đậu/dịch là 1/3 theo 500 g đậu xanh ban đầu tại công đoạn ngâm huyền phù tinh bột. Sau thời gian ngâm 24 giờ ở 4°C, gạn bỏ phần dung dịch trong ở trên, hòa tan lại bằng 3 phần nước cất và để lắng rửa tinh bột trong vòng 1 giờ/mỗi lần, thực hiện lặp lại 3 lần. Thu phần tinh bột sa lắng và sấy ở 45°C trong 24 giờ cho đến khi tinh bột đạt độ ẩm < 10%. Phần tinh bột khô sẽ được nghiền và qua rây 125 μm , đóng túi PE để bảo quản, sử dụng cho nghiên cứu.

Độ tinh khiết của tinh bột xác định theo Van Hung và Morita (2005) [23] dựa theo công thức:

% Độ tinh khiết của tinh bột (theo chất khô) = $100\% - \% \text{protein} - \% \text{lipid} - \% \text{tro}$

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xác định hàm amylose của tinh bột

Sử dụng phương pháp AACC 61-03.01. Hỗn hợp gồm 10 mg tinh bột, 0,2 ml ethanol và 1 ml nước cất được trộn đều, sau đó đem đun nóng ở 100°C trong 10 phút. Tiếp tục hòa tan tinh bột trong 0,5 ml dung dịch NaOH 1M, điều chỉnh về pH = 6,5 bằng HCl 1M, thêm nước cất đến 10 ml. Hút 0,4 ml dịch hồ trộn với 0,4 ml dung dịch iốt 0,2%, ủ trong 2 giờ. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 620 nm. Hàm lượng amylose được xác định từ đường chuẩn AM/AP theo tiêu chuẩn với phương trình sau khi dựng là $\text{Abs} = 0,00277a + 0,12565$.

2.3.2. Sự phân bố chiều dài chuỗi trong amylopectin

Dùng hệ thống sắc ký trao đổi ion hiệu năng cao với đầu dò xung điện (HPAEC-PAD) Dionex ICS 3000 (Dionex Corporation, Hoa Kỳ) theo phương pháp được mô tả bởi Bertoft (2017) [2]. Tinh bột (4 mg) hòa tan bằng DMSO (1 ml) và phân nhánh bằng isoamylaza (700 đơn vị/ml). Mẫu qua màng lọc 0,45

μm được bơm vào hệ thống HPIC. Sử dụng pha động gồm dung môi A (150 mM NaOH) và dung môi B (150 mM NaOH, 500 mM NaOAc). Dạng gradient của pha động như sau: 15% - 36% B trong 0 phút đến 9 phút, 36% - 45% B trong 9 phút đến 18 phút và 45% - 100% B trong 18 phút đến 110 phút. Tốc độ dòng là 0,4 ml/phút, nhiệt độ cột 30°C. Phổ chuẩn được chạy trên dãy maltosedextrin từ 3-70 gốc glucoza.

2.3.3. Xác định cấu trúc tinh thể của tinh bột bằng XRD

Phân tích nhiễu xạ tia X được thực hiện bằng máy đo nhiễu xạ tia X (Rigaku Co., Ltd, loại Rint 2000, Tokyo, Nhật Bản), hoạt động từ 2° đến 35° góc quét 2 θ với tốc độ quét 8°/phút và bước đóng hộp 0,02° ở 40 kV và 80 mA [13], [26], [8]. Mức độ kết tinh tương đối (RC, %) được tính bằng tỷ số giữa diện tích kết tinh với tổng diện tích nhiễu xạ.

2.3.4. Xác định cấu trúc tinh bột

Phân tích phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR): Sử dụng máy quang phổ ATR PRO ONE-JASCO FT/IR-4700 thông lượng cao (Deutschland GmbH, Đức) theo phương pháp của Ma và cs (2018) [18]. Tinh bột (2 mg, tính theo chất khô) được trộn với KBr (200 mg) và sau đó ép thành tấm. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) của tinh bột thu được bằng cách quét từ 4.000 cm^{-1} đến 500 cm^{-1} ở độ phân giải 4 cm^{-1} với sự tích lũy của 64 lần quét. Mức độ trật tự phân tử (DO) được tính theo tỷ lệ 1047/1022 cm^{-1} và mức độ xoắn kép (DD) là 995/1022 cm^{-1} .

2.3.5. Hàm lượng RS của tinh bột đậu xanh

Đánh giá bằng bộ xét nghiệm tinh bột kháng (Testkit RS) của Megazyme (Megazyme International, Wicklow, Ireland) theo phương pháp AOAC 2002.02. Tinh bột (100 mg) được trộn với 4 ml hỗn hợp enzyme α -amylaza tuyến tụy và amyloglucosidaza-AMG (3 U/ml), để trong tủ ủ ổn nhiệt có lắc 16 giờ ở 37°C. Cho 4 ml ethanol tuyệt đối và ly tâm ở 1.500 g trong 10 phút. Cặn lắng thu được sẽ hòa tan trong 2 ml KOH 2M và trung hòa bằng đệm natri axetat 1,2 M (pH = 3,8). Mẫu được trộn với 0,1 ml AMG (3.300 U/ml) trong bể ổn nhiệt 50°C trong 30 phút. Dung dịch được ly tâm ở 1.500 x g trong 10 phút. Lấy 0,1 ml phần dịch nổi trộn với 3 ml glucose oxidaza và peroxidaza 4-aminoantipyrine (GOPOD), ủ ở 50°C trong 20 phút. Đo độ hấp thụ của dịch tinh bột ở 510 nm. Mỗi mẫu được phân tích

trong ba lần. Lượng RS được tính bằng công thức sau:

$$RS (\%) = \Delta E \times F/W \times 90$$

Trong đó: ΔE là độ hấp thụ đã trừ mẫu trắng; F là hệ số chuyển đổi từ độ hấp thụ sang micrograms của mẫu tiêu chuẩn chia cho độ hấp thụ của mẫu GOPD; W là khối lượng mẫu; 90 là kết quả của phép chia 162/180 (hệ số chuyển đổi từ D-glucosa tự do sang dạng anhydro-D-glucosa).

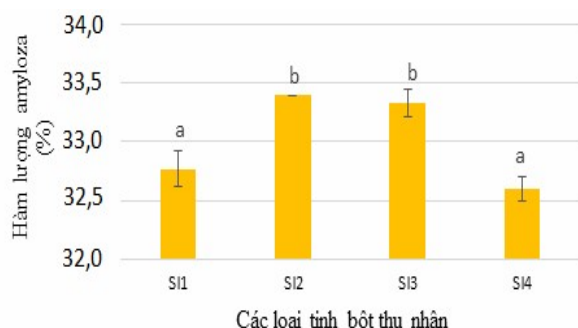
2.4. Phương pháp xử lý số liệu

- Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại thí nghiệm. Kết quả được phân tích thống kê trên phần mềm Microsoft Excel và Statgraphics với $p < 0,05$.

- Phần mềm Orizin: đọc và vẽ phổ với Xray và FTIR.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định hàm lượng AM của các mẫu tinh bột đậu xanh



Hình 1. Hàm lượng amyloza của các mẫu tinh bột khác nhau

Ghi chú: SI1, SI2, SI3, SI4 là ký hiệu của các mẫu tinh bột khi sử dụng dung dịch ngâm tương ứng là nước cất, Na_2SO_3 0,2%, $NaOH$ 0,1% và $NaHSO_3$ 0,15%; các chữ cái ký hiệu chỉ mức độ khác nhau có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$.

Hàm lượng amyloza (AM) của các mẫu tinh bột phân tách có sử dụng các chất hỗ trợ làm sạch khác nhau có sự thay đổi từ 32,8% - 33,4% (Hình 1). Mẫu SI1 (32,8%) và SI4 (32,6%) không có sự khác nhau có nghĩa trong khi SI2 (33,4%) và SI3 (33,3%) có hàm lượng AM cao hơn so với hai mẫu SI1 và SI4 ở mức có ý nghĩa $p \leq 0,05$. Điều này có thể khẳng định, việc sử dụng $NaOH$ và Na_2SO_3 trong quá trình ngâm phân tách tinh bột đã có tác động đến cấu trúc phân tử của tinh bột. Kết quả được công bố bởi Uthumporn và cs (2012) [22] cũng cho thấy tinh bột ngô và tinh bột gạo dễ dàng bị tác động bởi dung dịch $NaOH$ dẫn

đến bề mặt tinh bột gồ ghề hơn và có nhiều lỗ hơn so với tinh bột tự nhiên. Hàm lượng AM ở mẫu SI1 cao hơn so với nghiên cứu của Barua và Srivastav (2017) [1] ở mức 27,99%, nhưng thấp hơn so với kết quả trong nghiên cứu của Zou và cs (2019) [27] với đậu xanh Trung Quốc (36,21%), hay kết quả nghiên cứu của Kim và cs (2018) [15] trên đậu xanh Hàn Quốc (36,9% - 38,5%) và của Gunaratne và cs (2018) [9] trên đậu xanh Srilanka khi cùng sử dụng nước cất trong phân tách tinh bột. Sự khác nhau về hàm lượng AM trong các loại đậu đỗ được quy về một số lý do như sự khác biệt về giống [12], [7], [21] và điều kiện sinh trưởng của cây trồng [20]. Ngoài ra, các phương pháp tách khác nhau cũng ảnh hưởng đến độ tinh khiết của tinh bột [11]. Mẫu SI2 (dung chất hỗ trợ Na_2SO_3) có hàm lượng amyloza cao hơn so với nghiên cứu của Chang và cs (2006) [5] trên mẫu đậu xanh Đài Loan là 31%. Với mẫu SI3 (dung chất hỗ trợ $NaOH$) cho hàm lượng amyloza cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Phrukkiwattanakul và cs (2014) [19] trên đậu xanh Thái Lan là 24,56%. Ở mẫu dung chất hỗ trợ $NaHSO_3$ (SI4), giá trị amyloza thấp hơn kết quả nghiên cứu của Xu (2013) [24] trên đậu xanh của Mỹ (33,7% - 35,1%), nhưng tương đồng với kết quả của Yao và cs (2019) [25] với đậu xanh Trung Quốc (31,26% - 31,97%). Kết quả này cũng cho thấy, có sự ảnh hưởng nhiều hơn từ việc sử dụng dung dịch $NaOH$ như một chất hỗ trợ làm sạch so với các dung dịch ngâm khác. Từ kết quả trên có thể khẳng định nếu sử dụng Na_2SO_3 0,2% và $NaOH$ 0,1% sẽ gây ra sai số dương trong việc xác định kết quả hàm lượng amyloza trong nghiên cứu.

3.2. Kết quả xác định cấu trúc phân tử qua HPAEC - PAD, Xray và FTIR

Sự phân bố chiều dài chuỗi nhánh của amylopectin thu được từ sắc ký đồ HPAEC-PAD có thể được phân chia thành nhóm chuỗi A (DP 6 - 12), nhóm chuỗi B1 (DP 13 - 24), nhóm chuỗi B2 (DP 25 - 36) và nhóm chuỗi B3 (DP ≥ 37) như trình bày trong bảng 1. Các mẫu SI1, SI2, SI4 không có sự khác biệt nhiều về tỷ lệ phần trăm các chuỗi, trong khi mẫu SI3 (dung chất hỗ trợ $NaOH$) có tỷ lệ phần trăm chuỗi B2 và chuỗi B1 giảm xuống. Sự phân bố chuỗi có điểm tương đồng trong công bố của Kim và cs (2018) [15]; Phrukkiwattanakul và cs (2014) [19]. Kết quả sự giảm tỷ lệ phần trăm các chuỗi có khối lượng phân tử lớn trong thu nhận của tinh bột đậu xanh có thể là do sự thủy phân một phần của các

chuỗi này bởi sự tác động của dung dịch ngâm NaOH. Cai và cs (2014) [4] cũng công bố rằng dung dịch NaOH có ảnh hưởng lên cấu trúc phân tử amylopectin của tinh bột gạo khi làm giảm phần trăm amylopectin của loại tinh bột này. Kết quả này cũng thống nhất với kết quả hàm lượng AM ở trên do sự tác động của dung dịch ngâm NaOH đến thủy phân

nhẹ các chuỗi amylopectin tạo thành các chuỗi ngắn hơn, dẫn tới hàm lượng AM cao hơn. Từ kết quả ở bảng 1 có thể nhận xét về sự ảnh hưởng từ hoạt động ngâm có sử dụng chất hỗ trợ NaOH trong làm sạch tinh bột có ảnh hưởng đến cấu trúc phân tử amylopectin trong khi các chất hỗ trợ khác không có sự khác biệt nhiều.

Bảng 1. Cấu trúc hạt tinh bột đậu xanh ở các phương pháp khác nhau ^{1,2}

Mẫu	Phân bố chiều dài chuỗi nhánh trong amylopectin (%)			
	DP 6-12	DP13-24	DP 25-36	DP ≥37
SI1	26,5±0,2 ^a	45,3±0,2 ^{ab}	17,8±0,2 ^c	10,5±0,2 ^a
SI2	26,5±0,2 ^a	45,5±0,2 ^{bc}	17,2±0,2 ^{ab}	10,8±0,2 ^{ab}
SI3	27,2±0,2 ^b	44,8±0,2 ^a	16,8±0,2 ^a	11,2±0,2 ^b
SI4	26,2±0,2 ^a	45,9±0,2 ^c	17,5±0,2 ^{bc}	10,4±0,2 ^a

Ghi chú: ¹SI1, sử dụng nước cất; SI2, sử dụng Na₂SO₃ 0,2%; SI3, sử dụng NaOH 0,1%; SI4, sử dụng NaHSO₃ 0,15%. ²Các chữ cái sau số liệu khác nhau thể hiện sự khác nhau đáng kể trong cùng một cột với mức ý nghĩa p<0,05.

Bảng 2. Cấu trúc kết tinh của tinh bột đậu xanh ở các phương pháp khác nhau ^{1,2}

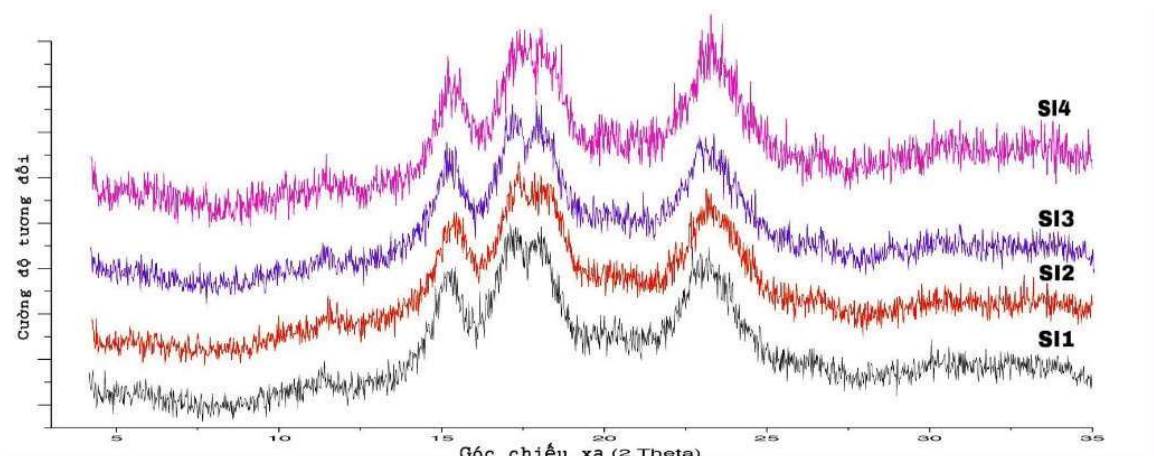
Mẫu tinh bột	Độ kết tinh theo XRD (%)	DO theo FTIR (1047/1022)	DD theo FTIR (995/1022)
SI1	25,1±1,0 ^b	0,747±0,001 ^b	1,26±0,01 ^b
SI2	24,6±0,5 ^a	0,743±0,001 ^a	1,21±0,02 ^a
SI3	23,9±0,8 ^a	0,751±0,002 ^c	1,21±0,02 ^a
SI4	25,4±0,4 ^b	0,746±0,001 ^b	1,24±0,01 ^b

Ghi chú: ¹SI1, sử dụng nước cất; SI2, sử dụng Na₂SO₃ 0,2%; SI3, sử dụng NaOH 0,1%; SI4, sử dụng NaHSO₃ 0,15%. ²Các chữ cái sau số liệu khác nhau thể hiện sự khác nhau đáng kể trong cùng một cột với mức ý nghĩa p<0,05.

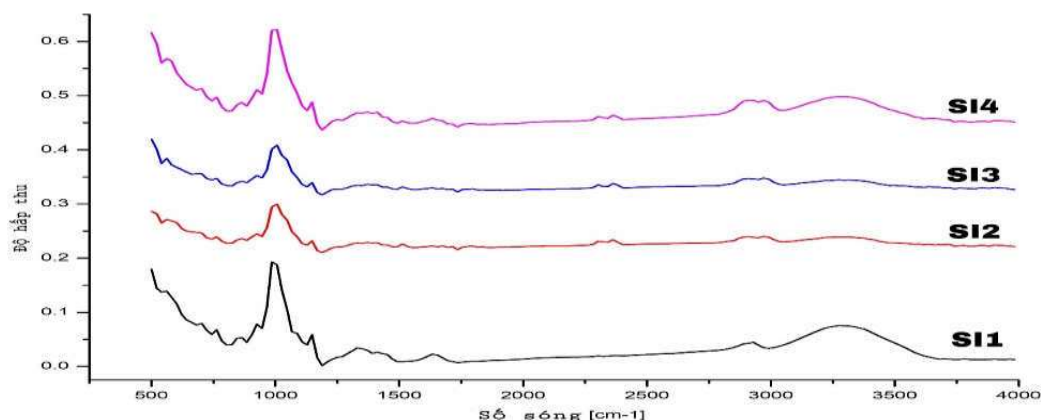
Các dạng nhiễu xạ tia X của tinh bột đậu xanh dùng nước cất và tinh bột sử dụng các chất hỗ trợ làm sạch khác nhau được trình bày trong hình 2. Các mẫu tinh bột cho thấy kiểu nhiễu xạ tia X là không khác nhau, tất cả đều có cấu trúc kết tinh dạng A điển hình với đỉnh kép ở 17°2θ và 18°2θ và các đỉnh riêng biệt ở 15°2θ và 23°2θ (Hình 2), tương tự như phát hiện của Zhang và Jin (2011) [26]; Barua và Srivastav (2017) [1]; Liu và cs (2020) [17]. Ngoài ra, tinh bột đậu xanh còn có cấu trúc kết tinh dạng C là cấu trúc lai giữa dạng A và dạng B được công bố trong nghiên cứu của Xu (2013) [24], Yao và cs (2019) [25] và Kim và cs (2018) [15]. Các loại tinh bột đậu xanh có các dạng cấu trúc kết tinh khác

nhau là do sự khác nhau về giống và nơi trồng [24], [15], [25]. Cấu trúc kết tinh dạng C được cho là có ảnh hưởng đến % tinh thể được sắp xếp của các phân tử trong cấu tạo của hạt tinh bột. Các mẫu tinh bột trong nghiên cứu này đều có cấu trúc kết tinh dạng A nhưng có sự thay đổi ở chiều cao của các peak thể hiện qua độ kết tinh tương đối của các mẫu. Độ kết tinh tương đối được tính toán từ đồ thị nhiễu xạ tia X của SI4 không có sự khác biệt so với SI1, trong khi độ kết tinh của các mẫu SI2 và SI3 là thấp hơn (Bảng 2). Các nghiên cứu đều cho thấy, sự giảm độ kết tinh tương đối khi sử dụng các chất hỗ trợ làm sạch có thể là do sự phá vỡ các liên kết hydro giữa các xoắn kép đã xảy ra. Kết quả độ kết tinh của các mẫu tinh bột thay đổi từ 23,9% - 25,4%, cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Phrukkiwattanakul và cs (2014) [19] có độ kết tinh là 20,8% và kết quả nghiên cứu của Zou và cs (2019) [27] công bố là 17,12%, nhưng thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Liu và cs (2020) [17] công bố là 34,52%, của Yao và cs (2019) [25] ở trong khoảng 31,26% - 31,97% và của Kim và cs (2018) [15] công bố là 29,5% - 30,4%. Sự khác biệt về độ kết tinh của mẫu tinh bột trong nghiên cứu này so với các nghiên cứu trước đó có thể là do sự ảnh hưởng của nguồn gốc tinh bột và chất hỗ trợ làm sạch. Qua kết quả của nghiên cứu này có thể khẳng định các chất hỗ trợ làm sạch trong quá trình ngâm như NaOH và Na₂SO₃ có tác động đến cấu trúc phân tử thể hiện bằng sự thay đổi hàm lượng amyloza như đã đề cập ở trên, qua đó có thể làm thay đổi sự đan xen của các

chuỗi bên ngoài của amylopectin (chuỗi A - và B1) ở "phiến tinh thể" của các hạt tinh bột [3].
dạng xoắn kép đã tạo ra các vùng có trật tự hoặc



Hình 2. Cấu trúc tinh thể của các mẫu tinh bột qua XRD



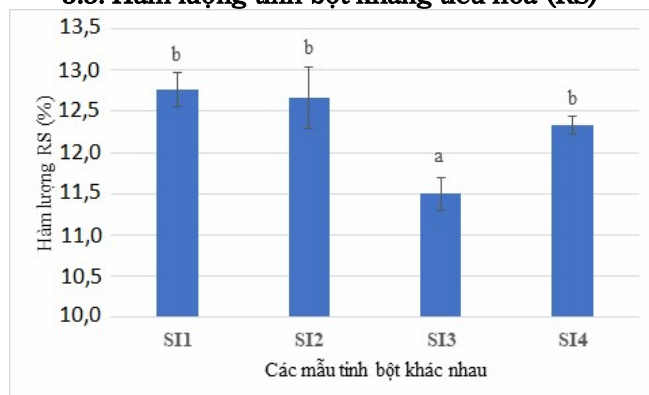
Hình 3. Cấu trúc của các mẫu tinh bột qua FTIR

Kết quả phân tích quang phổ hồng ngoại (FT-IR) của 4 loại tinh bột phân tách sử dụng các chất hỗ trợ khác nhau được thể hiện qua sắc ký phổ FT-IR trong khoảng $500\text{ cm}^{-1} - 4.000\text{ cm}^{-1}$ (Hình 3). Phổ FT - IR của tinh bột có thể cung cấp thông tin về những thay đổi trong trật tự phân tử và mức độ xoắn kép ở phạm vi ngắn (gần bề mặt hạt của tinh bột) [6]. Các dải hấp thụ hồng ngoại (IR) ở bước sóng 995 cm^{-1} và 1047 cm^{-1} có liên quan đến cấu trúc có trật tự và tinh thể ngâm nước của tinh bột, trong khi đỉnh ở 1022 cm^{-1} liên quan đến cấu trúc vô định hình [6]. Do vậy, tỷ lệ diện tích tích hợp của các dải hấp thụ ở $1.047/1.022\text{ cm}^{-1}$ và $995/1.022\text{ cm}^{-1}$ được sử dụng để định lượng các thay đổi bên trong về mức độ trật tự (DO) và mức độ xoắn kép (DD) của phân tử tinh bột [18]. Giá trị DO trong khảo sát thay đổi từ 0,743% - 0,751% thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Zou và cs (2019) [27]. Tỷ lệ IR $1047/1022\text{ cm}^{-1}$ của mẫu tinh bột dùng NaOH (SI3) cao hơn so với các mẫu tinh bột khác cho thấy rằng, các hạt tinh bột của loại tinh bột này có mức độ

trật tự phân tử tầm ngắn cao hơn, trong khi mẫu SI1 và SI4 là tương đương và cao hơn so với mẫu SI2. Kết quả này cho thấy, mẫu dùng chất hỗ trợ Na_2SO_3 và NaOH đã có tác động phá vỡ cấu trúc ban đầu bề mặt ngoài của hạt và có sự sắp xếp lại cấu trúc. Giá trị DD của các mẫu tinh bột cho thấy, khả năng tạo xoắn kép cao hơn ở mẫu SI1 và SI4 nhưng thấp hơn ở mẫu SI2 và SI3. Do đó, kết quả của phân tích FT-IR phù hợp với kết quả của độ kết tinh tương đối như đã mô tả ở trên. Hơn nữa, kết quả tỷ lệ IR $995/1.022\text{ cm}^{-1}$ của các mẫu SI2 và SI3 thấp hơn so với các mẫu SI1 và SI4, cho thấy việc sử dụng các chất hỗ trợ làm sạch đã ảnh hưởng đến mức độ tạo xoắn của các mạch bên ngoài của tinh bột.

Từ các kết quả trên có thể khẳng định việc tách tinh bột có sử dụng các chất hỗ trợ làm sạch có ảnh hưởng đến cấu trúc phân tử của tinh bột, trong đó NaHSO_3 0,15% ít bị ảnh hưởng nhất so với mẫu sử dụng các chất hỗ trợ khác.

3.3. Hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa (RS)



Hình 4. Hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa (RS) của các mẫu tinh bột

(Các chữ viết tắt giống bảng 1)

Hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa (% RS) của các mẫu tinh bột thu được trong nghiên cứu này thể hiện trên hình 4. Kết quả % RS thay đổi từ 11,5% đến 12,8% tương đồng với kết quả nghiên cứu của Yao và cs (2019) [25] là 5,86% - 10,95% khi khảo sát trên 4 giống đậu xanh Trung Quốc, nhưng cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Phrukwiwattanakul và cs (2014) [19] là 4,04% và thấp hơn kết quả nghiên cứu của Xu (2013) [24] là 31,1% - 35%. Hình 4 cho thấy, có sự khác biệt giữa các mẫu, trong đó % RS của mẫu SI3 thấp hơn so với các mẫu còn lại. Điều này có thể giải thích là do mẫu tinh bột ngâm với NaOH tạo ra nhiều lỗ hổng trên bề mặt, do đó các enzyme dễ dàng xâm nhập vào bên trong hạt để thủy phân tạo ra hàm lượng đường cao hơn và hàm lượng RS thấp hơn các mẫu còn lại, tương tự như kết quả được công bố bởi Uthumporn và cs (2012) [22]. Từ các kết quả dung dịch hỗ trợ NaOH có ảnh hưởng đến cấu trúc và hàm lượng RS của tinh bột đậu xanh, trong khi đó các chất hỗ trợ khác gần như tác động không đáng kể đến cấu trúc và tính chất của tinh bột.

4. KẾT LUẬN

Kết quả về hàm lượng amyloza và cấu trúc phân tử của các loại tinh bột được xác định thông qua xác định tỷ lệ phân bố chuỗi nhánh trong amylopectin, phân tích nhiễu xạ tia X và quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier cho thấy, có sự ảnh hưởng bởi việc sử dụng các chất hỗ trợ làm sạch trong công đoạn ngâm trong quá trình phân tách và làm sạch tinh bột. Ngoài ra, hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa cũng bị ảnh hưởng bởi việc sử dụng các chất này. Trong đó mức độ thay đổi rõ ràng nhất ở tất cả các chỉ tiêu kể trên là việc dùng chất hỗ trợ NaOH 0,1%. Mẫu tinh bột có sử dụng chất hỗ trợ Na_2SO_3 0,2% chỉ có sự

khác biệt về hàm lượng amyloza, độ kết tinh tương đối, trật tự sắp xếp và mức độ tạo xoắn kép nhưng không sai khác về hàm lượng tinh bột kháng tiêu hóa so với mẫu đối chứng dùng nước cất. Mẫu tinh bột thu được sử dụng chất hỗ trợ NaHSO_3 không thể hiện sự khác biệt so với mẫu tinh bột thu nhận dùng nước cất ở tất cả các chỉ tiêu phân tích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barua, S. and P. Srivastav (2017). Effect of heat - moisture treatment on resistant starch functional and thermal properties of mung bean (*Vigna radiate*) starch. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 7 (4): 00248.
2. Bertoft, E. (2017). Understanding Starch Structure: Recent Progress. *Agronomy*, 7 (3): 56.
3. Bertoft, E. and R. Manelius (1992). A method for the study of the enzymic hydrolysis of starch granules. *Carbohydrate Research*, 227: 269-283.
4. Cai, J., Yang, Y., Man, J., Huang, J., Wang, Z., Zhang, C.,... & Wei, C. (2014). Structural and functional properties of alkali - treated high - amylose rice starch. *Food chemistry*, 145, 245 - 253.
5. Chang, Y. -H., C. -L. Lin and J. -C. Chen (2006). Characteristics of mung bean starch isolated by using lactic acid fermentation solution as the steeping liquor. *Food Chemistry*, 99 (4): 794 - 802.
6. Chung, H. -J., Q. Liu and R. Hoover (2009). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*, 75 (3): 436 - 447.
7. Chung, H. J., Q. Liu, E. Donner, R. Hoover, T. D. Warkentin and B. Vandenberg (2008). Composition, molecular structure, properties and in vitro digestibility of starches from newly released Canadian pulse cultivars. *Cereal Chemistry*, 85 (4): 471 - 479.
8. Dome, K., E. Podgorbunskikh, A. Bychkov and O. Lomovsky (2020). Changes in the Crystallinity Degree of Starch Having Different

Types of Crystal Structure after Mechanical Pretreatment. *Polymers* (Basel) 12 (3).

9. Gunaratne, A., R. Gan, K. Wu, X. Kong, L. Collado, L. V. Arachchi, K. Kumara, S. M. Pathirana and H. Corke (2018). Physicochemical Properties of Mung Bean Starches Isolated From Four Varieties Grown in Sri Lanka. *Starch – Stärke*, 70 (3 - 4): 1700129.

10. Nguyễn Thị Thu Hòa, Lương Hồng Nga, Bùi Đức Hợi, Lê Thị Song (2006). *Nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất đến hiệu quả tách tinh bột đậu xanh*. Hội nghị khoa học lần thứ 20 – Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.

11. Hoover, R., T. Hughes, H. J. Chung and Q. Liu (2010). Composition, molecular structure, properties and modification of pulse starches: A review: *Food Research International*, 43 (2): 399 - 413.

12. Huang, J., H. A. Schols, J. J. van Soest, Z. Jin, E. Sulmann and A. G. Voragen (2007). Physicochemical properties and amylopectin chain profiles of cowpea, chickpea and yellow pea starches. *Food Chemistry*, 101 (4): 1338 - 1345.

13. Hung, P., T. Maeda, D. Miskelly, R. Tsumori and N. Morita (2008). Physicochemical characteristics and fine structure of high-amylose wheat starches isolated from Australian wheat cultivars. *Carbohydrate Polymers*, 71 (4): 656 - 663.

14. Jiang, B., W. Li, X. Hu, J. Wu and Q. Shen (2014). Rheology of Mung Bean Starch Treated by High Hydrostatic Pressure. *International Journal of Food Properties*, 18 (1): 81-92.

15. Kim, Y. Y., K. S. Woo and H. J. Chung (2018). Starch characteristics of cowpea and mungbean cultivars grown in Korea. *Food Chem*, 263: 104 - 111.

16. Li, W., Shu, C., Zhang, P., & Shen, Q. (2011). Properties of starch separated from ten mung bean varieties and seeds processing characteristics. *Food and Bioprocess Technology*, 4 (5), 814 - 821.

17. Liu, D., W. Tang, Y. Xin, J. Yang, L. Yuan, X. Huang, J. Yin, S. Nie and M. Xie (2020). Comparison on structure and physicochemical properties of

starches from adzuki bean and dolichos bean. *Food Hydrocolloids*, 105: 105784.

18. Ma, Z., X. Yin, D. Chang, X. Hu and J. I. Boye (2018). Long - and short - range structural characteristics of pea starch modified by autoclaving, alpha - amylolysis, and pullulanase debranching. *Int J Biol Macromol*, 120 (Pt A): 650 - 656.

19. Phrukkiwattanakul, P., S. Wichienchotand and P. Sirivongpaisal (2014). Comparative Studies on Physico-Chemical Properties of Starches from Jackfruit Seed and Mung Bean. *International Journal of Food Properties*, 17 (9): 1965 - 1976.

20. Singh, N., J. Singh, L. Kaur, N. S. Sodhi and B. S. Gill (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food chemistry*, 81 (2): 219 - 231.

21. Tiwari, B. K. and N. Singh (2012). Pulse chemistry and technology, Royal Society of Chemistry.

22. Uthumporn, U., Shariffa, Y. N., Fazilah, A., & Karim, A. A. (2012). Effects of NaOH treatment of cereal starch granules on the extent of granular starch hydrolysis. *Colloid and Polymer Science*, 290 (15), 1481 - 1491.

23. Van Hung, P., & Morita, N. (2005). Physicochemical properties and enzymatic digestibility of starch from edible canna (*Canna edulis*) grown in Vietnam. *Carbohydrate polymers*, 61 (3), 314 - 321.

24. Xu, Y. (2013). Resistant starch content, molecular structure and physicochemical properties of starches in Virginia - grown corn, potato and mungbean. *Journal of Cereals and Oilseeds*, 4 (1): 10- 18.

25. Yao, M., Y. Tian, W. Yang, M. Huang, S. Zhou and X. Liu (2019). The multi - scale structure, thermal and digestion properties of mung bean starch. *Int J Biol Macromol*, 131: 871 - 878.

26. Zhang, H. and Z. Jin (2011). Preparation of products rich in resistant starch from maize starch by an enzymatic method. *Carbohydrate polymers*, 86 (4): 1610 - 1614.

27. Zou, J., M. Xu, R. Wang and W. Li. (2019). annealing and their *in vitro* digestibility. *International Journal of Food Properties*, 22 (1): 898 - 910.
- bean starch as affected by repeated and continuous

EFFECT OF ASSISTED CHEMICALS FOR PURIFICATION DURING STARCH ISOLATION ON STRUCTURE AND DIGESTIBILITY OF MUNGBEAN STARCH

Nguyen Thi Mai Huong^{1,2}, Phan Ngoc Hoa², Pham Van Hung³

¹*Institute of Biotechnology and Food Technology, Industrial University of Ho Chi Minh city*

²*Food Technology Department, Ho Chi Minh city University of Technology, Vietnam National University in Ho Chi Minh city*

³*School of Biotechnology, International University*

Email: nguyenthimaihuong@iuh.edu.vn

Summary

The objective of this study was to determine the changes in amylose content, molecular structure, and resistant starch content of mungbean starch with utilization of chemicals for purification during isolation by wet milling method. Three chemicals including Na₂SO₃ 0.2%, NaOH 0.1% and NaHSO₃ 0.15% were added into soaking solution of starch suspension before filtrating, settling, and drying. A control starch was isolated using distilled water. The results indicated that the soaking solution with 0.1% NaOH had significant effect on amylose content, amylopectin chain length distributions, crystalline structure evaluated by X - ray diffraction, molecular structure determined by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and resistant starch content. The isolated mungbean starch using 0.2% Na₂SO₃ was different from the control starch for all determined parameters except the resistant starch content. No significant difference in the determined parameters was found between the isolated starch using 0.15% NaHSO₃ and the control starch. All isolated starches exhibited the type A crystalline structure. Thus, the utilization of 0.1% NaOH and 0.2% NaOH in the soaking process for purification of mungbean starch had a considerable effect on molecular structure, while the structure of isolated starch using 0.15% NaHSO₃ was not affected.

Keywords: *Mung bean starch, resistant starch, molecular structure, X-ray diffraction.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Mạnh Dũng

Ngày nhận bài: 05/7/2021

Ngày thông qua phản biện: 05/8/2021

Ngày duyệt đăng: 12/8/2021