

NGHIÊN CỨU BIẾN TÍNH TINH BỘT CHUỐI XANH BẰNG PHƯƠNG PHÁP CARBOXYLMETHYL HÓA

Nguyễn Phan Hằng¹, Vũ Minh Tân², Nguyễn Thị Kim An²,
Hoàng Minh Quân³, Phạm Ngọc Anh⁴, Phạm Thị Thu Hà⁴,
Nguyễn Trung Đức^{4,*}, Nguyễn Thanh Tùng^{1,4}

¹Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

³Viện Công nghệ Phácogen

⁴Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

*Email: ducnt224@gmail.com

TÓM TẮT

Nồng độ NaOH ảnh hưởng đến sự thay thế nhóm carboxymethyl trong chuỗi polysaccharide và khả năng tiêu hóa của tinh bột chuối. Quá trình carboxymethyl hóa thể hiện độ thế DS cao từ 0,31 - 0,63, hàm lượng tinh bột kháng tiêu RS tăng từ 29,84% lên 41,67% khi tăng hàm lượng natri hydroxit từ 5 - 10%. Với hàm lượng NaOH 12%, cấu trúc hạt bị phá vỡ, độ kết tinh giảm đáng kể (từ 25,18% xuống 3,72%) dẫn đến DS và hàm lượng RS giảm (0,52 và 35,28%). Do đó, tinh bột chuối được xử lý với 10% theo khối lượng tinh bột là hàm lượng NaOH tối ưu. Tại hàm lượng này, các tính chất chức năng của tinh bột có các giá trị cao nhất như: Khả năng trương nở (35,14 g/g, 90°C), độ hòa tan trong nước (32,01%, 90°C), độ bền lạnh đông - tan giá (19,71% sau 4 chu kỳ lạnh đông - tan giá) và khả năng hấp thụ dầu và nước (OAC 1,78 mL/g và WAC 1,95 mL/g).

Từ khóa: Carboxymethyl hóa, tinh bột kháng tiêu RS4, tinh bột chuối xanh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tinh bột là một nguyên liệu quan trọng và tương đối rẻ tiền được sử dụng nhiều trong ngành thực phẩm. Khi đi vào cơ thể, tinh bột tiêu hóa bị phân hủy (thủy phân) bởi các enzyme α -amylase, glucoamylase và sucrase – isomaltase trong ruột non để tạo ra glucose tự do sau đó được hấp thụ. Tuy nhiên, không phải tất cả tinh bột trong thức ăn đều được tiêu hóa và hấp thụ ở ruột non [1]. Dựa vào khả năng tiêu hóa, tinh bột thường được chia thành 3 phần: Tinh bột tiêu hóa nhanh (RDS), tinh bột tiêu hóa chậm (SDS) và tinh bột kháng (RS). RDS và SDS là những phần tinh bột được thủy phân thành glucose bởi α -amylase trong vòng 20 - 120 phút sau khi ăn, tương ứng. RS là phần không bị thủy phân sau 120 phút và tiếp tục đi từ ruột non đến ruột già,

tại đó nó có thể được lên men bởi hệ vi sinh đường ruột [1, 2].

RS có thể được phân thành 5 loại, trong đó RS1 và RS2 là tinh bột kháng tiêu tự nhiên, RS3 là tinh bột kháng tiêu bị biến đổi về mặt vật lý, RS4 là tinh bột kháng tiêu bị biến tính hóa học và RS5 là tinh bột kháng tiêu dạng phức hợp amylose và lipid [3]. Trong đó, RS4 có cấu trúc phân tử khá cồng kềnh do các nhóm hydroxyl được thay thế thành các nhóm đặc trưng cho quá trình biến tính như: Nhóm phosphate (phản ứng phosphoryl hóa), nhóm carboxymethyl (phản ứng carboxymethyl hóa), nhóm acetyl (phản ứng acetyl hóa)... Chính điều này là nguyên nhân ngăn cản sự tiếp xúc của enzyme với tinh bột [4].

Ngoài ra, RS4 có độ ổn định khá tốt trong chế biến thực phẩm cũng như RS là thành phần

có lợi cho sức khỏe, giúp giảm độ pH của ruột kết, ngăn ngừa ung thư đại tràng, giảm lượng đường huyết và cholesterol trong máu, ức chế sự tích lũy chất béo [1, 3]. Vì vậy, nghiên cứu RS4 đang thu hút được nhiều sự quan tâm, đặc biệt là RS4 được tạo ra từ phản ứng carboxymethyl hóa [5, 6].

Tinh bột carboxymethyl (CMS) được tổng hợp từ phản ứng giữa tinh bột và natri monocloaxetat (SMCA) hoặc monocloaxetic axit (MCA) trong sự có mặt của natri hydroxit (NaOH) [7]. Sự hiện diện của nhóm chức CH_2COO^- gây cản trở cấu trúc không gian, tăng khả năng kháng tiêu hóa [5], cũng như cải thiện khả năng trương nở, độ tan của tinh bột và độ ổn định của gel [5 - 7]. Do đó, CMS với độ thế (DS) nhỏ hơn 0,4 có thể sử dụng trong thực phẩm như chất ổn định, chất làm đặc, chất nhũ hóa [6, 8].

Các nghiên cứu trước đây tập trung vào ảnh hưởng của điều kiện phản ứng đến độ thế (DS) của tinh bột và đối tượng nghiên cứu là tinh bột khoai tây [6, 9], ngô [10], sắn [11, 12], đậu xanh [13], sắn dây [14] và gạo [15], có rất ít nghiên cứu về mối liên hệ giữa DS, nồng độ NaOH và khả năng tiêu hóa của CMS. Nghiên cứu của Liu và cs (2012) [6] cho thấy, khi DS tăng từ 0,05 lên 0,32, hàm lượng RS trong tinh bột khoai tây CMS được tổng hợp trong lò vi sóng tăng từ 14,6% lên 20,0%, cao hơn nhiều so với tinh bột tự nhiên (10,8%). Khả năng kháng tiêu hóa trong ống nghiệm tinh bột khoai lang carboxymethyl khá cao ($\text{RS} = 57,8\%$) và sau khi ghép quercetin, tinh bột có $\text{DS} > 0,074$ và RS tăng nhẹ ($\text{RS} = 67,5\%$) [4]. Hà và cs (2024) [5] đã tổng hợp tinh bột hạt mít carboxymethyl có $\text{DS} = 0,57$ và $\text{RS} = 40\%$ khi phản ứng carboxymethyl hóa xảy ra ở nồng độ NaOH 10%.

Việc nghiên cứu và ứng dụng tinh bột ít phổ biến đang là xu hướng khi sự gia tăng nhu cầu tinh bột ngày càng cao và chuối xanh được biết đến là nguồn tinh bột dồi dào (60 - 80%). Hàm lượng RS2 trong tinh bột chuối xanh khoảng 50% [16], nên chuối xanh rất có lợi cho sức khỏe,

ngăn ngừa các bệnh mãn tính như: Ung thư ruột kết, cholesterol cao, đái tháo đường và béo phì. Tuy nhiên, RS2 dễ bị biến mất trong quá trình nghiền và chế biến [3], vì vậy một số phương pháp đã được áp dụng nhằm tăng hàm lượng RS trong tinh bột chuối xanh như: Phương pháp vật lý (chiếu xạ vi sóng [17], xử lý nhiệt - ẩm [18]), hóa học (hydroxypropyl hóa [19], phosphoryl hóa [20]), hoặc phương pháp xử lý bằng enzyme [21]. Ngoài ra, việc biến tính tinh bột chuối xanh không chỉ cải thiện RS mà còn cải thiện độ ổn định khi đông lạnh - rã đông, gelatin hóa, độ trong, mở rộng khả năng ứng dụng trong thực phẩm.

Hiện nay, chưa có nghiên cứu nào về quá trình carboxymethyl hóa tinh bột chuối xanh. Vì vậy, trong nghiên cứu này, đã tiến hành carboxymethyl hóa tinh bột chuối xanh và nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NaOH đến độ thế DS và khả năng tiêu hóa, đồng thời đánh giá các tính chất lý hóa, tính năng của tinh bột chuối sau quá trình xử lý.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, hóa chất

Chuối tiêu xanh (*Musa* sp.) được thu hoạch từ các vườn trồng chuối quy mô lớn trên địa bàn tỉnh Phú Thọ, ở mốc thời gian 85 - 90 ngày kể từ khi ra hoa.

Bộ kit thử K-RSTAR (xác định tinh bột kháng tiêu) của hãng Megazym, Ireland. Sodium hydroxide, sodium bisulfite, monochloroacetic axit, isopropanol, acetic axit, chloric axit, sodium chloride xuất xứ Sigma - Aldrich.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Quá trình tách, tinh chế tinh bột

Tinh bột chuối xanh (BS) được chiết xuất theo quy trình của Waliszewski và cs (2003) [22] có sửa đổi. Sau khi gọt vỏ, phần ruột chuối xanh được thái lát mỏng (2 - 3 mm) và ngâm trong dung dịch natri bisulfite 0,5%. Hỗn hợp được nghiền nhuyễn bằng máy xay và được lọc qua

vải lọc để loại bỏ phần bã. Huyền phù tinh bột được để lắng, gạn rửa nhiều lần với nước để loại bỏ hóa chất dư, rửa sạch tinh bột. Cuối cùng, huyền phù tinh bột được sấy khô ở 50°C và bảo quản trong túi polypropylene.

2.2.2. Quá trình carboxymethyl hóa

Phản ứng carboxymethyl hóa được thực hiện bằng monochloroacetic axit (MCA) với sự có mặt của NaOH theo Nisit và cs (2011) [7]. Cho 50 g tinh bột vào 250 mL nước cất chứa NaOH (khối lượng NaOH bằng 5 - 12% khối lượng tinh bột), khuấy đều trong 30 phút để tạo huyền phù. Sau đó, 250 mL dung dịch MCA ($m_{MCA} = 6\% m_{\text{tinh bột}}$) được thêm vào hỗn hợp huyền phù và tiếp tục khuấy. Kết thúc phản ứng, trung hòa hỗn hợp bằng CH_3COOH . Lọc và rửa sản phẩm bằng etanol 85%, sấy khô sản phẩm ở 50°C trong 14 giờ.

2.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng tiêu hóa

Hàm lượng tinh bột kháng tiêu (RS), tinh bột tiêu hóa nhanh (RDS) và tinh bột tiêu hóa chậm (SDS) được xác định theo AOAC 2002.02 [23] bằng bộ kit test tinh bột kháng tiêu Megazyme.

* Hàm lượng RS: 0,1 g tinh bột được ủ trong 4 mL dung dịch α -amylase tuyến tụy và amyloglucosidase ở 37°C trong 16 giờ. Phản ứng được kết thúc bằng dung dịch IMS 50% (tỷ lệ thể tích ethanol: methanol: nước là 19: 1: 20) và ly tâm để tách các thành phần nổi phía trên và cặn. Hòa tan cặn trong KOH 2M trong bể nước đá, bổ sung dung dịch đệm natri axetat 1,2 M và thủy phân thành glucose bằng amyloglucosidase ở 50°C trong 30 phút. Sau đó, bổ sung thuốc thử glucose oxidase/peroxidase (GOPOD) vào dung dịch và ủ ở 50°C trong 20 phút. Tiến hành đo độ hấp thụ quang của mẫu phân tích trên quang phổ kế UV-VIS tại bước sóng $\lambda = 510 \text{ nm}$.

* Hàm lượng RDS: Ủ 0,1 g mẫu với 4 mL hỗn hợp α -amylase và amyloglucosidase (AMG) ở 37°C trong 20 phút. Phản ứng được kết thúc

bằng cách thêm 4 mL ethanol vào huyền phù sau đó ly tâm. Định mức 2 mL phần dịch chứa RDS bằng dung dịch natri axetat (100 mM, pH = 4,5) đến 100 mL. Sau đó, thêm 0,1 mL dung dịch vừa định mức vào 0,01 mL dung dịch AMG (300 U/mL) ở 50°C trong 20 phút. Cuối cùng, thêm 3 mL thuốc thử GOPOD vào dung dịch và ủ ở 50°C trong 20 phút nữa. Độ hấp thụ quang của các mẫu được đo ở bước sóng $\lambda = 510 \text{ nm}$ trên quang phổ kế UV-VIS.

Mẫu trắng là hỗn hợp dung dịch đệm natri acetate (100 mM, pH = 4,5) với thuốc thử GOPOD. Mẫu chuẩn là hỗn hợp dung dịch D-glucose chuẩn với thuốc thử GOPOD.

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

$$RDS(\%) = (\Delta E \times F \times 45) / W$$

$$SDS(\%) = 100 - (RS + RDS)$$

Trong đó: ΔE là độ hấp thụ (phản ứng) đọc trên mẫu trắng; F là chuyển đổi từ độ hấp thụ sang microgam ($F = 100 \mu\text{g D-glucose}$) chia cho độ hấp thụ GOPOD của $100 \mu\text{g D-glucose}$ này; W là khối lượng khô của mẫu phân tích (mg).

2.2.4. Độ thế của tinh bột carboxymethyl

Độ thế (DS) được định nghĩa là số nhóm thế trung bình của mỗi đơn vị anhydroglucose (AGU). AGU chứa ba nhóm hydroxyl, vì thế DS có thể đạt tối đa là 3. Axit hóa các nhóm carboxymethyl trong CMS bằng dung dịch HCl 5%. Tinh bột axit hóa sau đó được kết tủa trong metanol. Lọc, rửa bằng metanol và sấy ở 50°C. Tinh bột khô được hòa tan bằng một lượng dư dung dịch NaOH 0,1M. Chuẩn độ lượng NaOH dư bằng dung dịch HCl 0,1M.

Độ thế của tinh bột CMS được tính theo công thức:

$$DS = \frac{W_c \times M_a}{(100 - W_c) \times M_c}$$

Trong đó: M_a là khối lượng mol của 1 đơn vị anhydroglucose (162 g/mol); M_c là khối lượng mol của nhóm carboxymethyl (58 g/mol); W_c là

hàm lượng nhóm carboxymetyl, tính theo % khối lượng mẫu:

$$W_c = \frac{C \times M_c \times (V_{tr} - V_m) \times 10^{-3}}{m_m} \times 100 \times \frac{100}{100 - W_m}$$

Trong đó: C là nồng độ dung dịch HCl dùng để chuẩn độ (mol/L); V_{tr} là thể tích dung dịch HCl dùng để chuẩn mẫu trắng (mL); V_m là thể tích dung dịch HCl dùng để chuẩn mẫu (mL); M là khối lượng của mẫu thử (g); W_m là độ ẩm của tinh bột CMS (%).

2.2.5. Tính năng và đặc trưng lý hóa của tinh bột

* Khả năng trương nở (SP) và độ tan (WSI):

Khoảng 1 g mẫu tinh bột được trộn kỹ với 10 mL nước và đặt vào bể ổn nhiệt ở các nhiệt độ khác nhau (60, 70, 80, 90°C) trong 30 phút. Huyền phù sau đó được làm nguội đến nhiệt độ phòng trước khi ly tâm ở tốc độ 1.600 vòng/phút trong 15 phút. Phần nổi phía trên được sấy khô ở nhiệt độ 110°C trong 24 giờ để xác định độ hòa tan. Phần cặn lắng phía dưới được dùng để xác định khả năng trương nở.

$$SP \text{ (g/g)} = (m_2 - m_0) / m_0$$

$$WSI \text{ (%) } = (m_1 / m_0) \times 100$$

Trong đó: m_1 là khối lượng phần hòa tan của mẫu (g); m_2 là khối lượng của cặn lắng (g); m_0 là khối lượng của mẫu khô ban đầu (g).

* Khả năng hấp thụ dầu (OAC) và hấp thụ nước (WAC):

Khả năng hấp thụ dầu/nước được xác định theo phương pháp của Beuchat (1977) [24]. Cân 1 g tinh bột cho vào ống nghiệm, sau đó thêm 25 mL nước cất (xác định WAC) hoặc 25 mL dầu thực vật (xác định OAC). Huyền phù được trộn kỹ, sau đó để yên trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi ly tâm (tốc độ 1.500 vòng/phút trong 10 phút). Phần nổi phía trên được dùng để xác định khả năng hấp thụ nước/dầu của tinh bột.

$$OAC \text{ (WAC)} \text{ (mL/g)} = (V_1 - V_2) / m_0$$

Trong đó: V_1 là thể tích dầu (hoặc nước) ban đầu (mL); V_2 là thể tích dầu (hoặc nước) sau ly tâm (mL); m_0 là khối lượng của mẫu khô ban đầu (g).

* Độ bền lạnh đông - tan giá:

Huyền phù của tinh bột trong nước (6%, w/v) được gia nhiệt cho đến khi hồ hóa hoàn toàn và sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng. Lấy khoảng 10 mL mẫu gel để tiến hành xác định độ bền đông lạnh - tan giá. Mẫu gel được để ở nhiệt độ -20°C trong 24 giờ, sau đó rã đông ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Tiếp theo, mẫu được ly tâm ở tốc độ 3.000 vòng/phút trong 15 phút, phần dịch nổi được lấy ra để xác định khối lượng, phần lắng phía dưới tiếp tục được đưa vào tủ đông. Chu kỳ lạnh đông - tan giá được lặp lại 4 lần.

$$\text{Độ bền lạnh đông - tan giá (\%)} = (m_1 / m_0) \times 100$$

Trong đó: m_1 là khối lượng nước thoát ra sau mỗi chu kỳ lạnh đông - tan giá (g); m_0 là khối lượng mẫu tinh bột đã hồ hóa (g).

* Đặc trưng lý hóa:

Hình thái bề mặt của tinh bột/bột được phân tích SEM trên thiết bị JMS-6510LV (JEOL, Nhật Bản) của Viện Kỹ thuật Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ hồng ngoại FTIR được thực hiện trên máy đo quang phổ FTIR Affinity-1S (Shimadzu, Nhật Bản) tại Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Cấu trúc tinh thể của tinh bột/bột chuỗi xanh được nghiên cứu bằng nhiễu xạ tia X (XRD) trên máy đo nhiễu xạ Siemens-D5000 với phạm vi quét từ 5 - 80° tại Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Độ kết tinh tương đối của tinh bột được tính bằng công thức:

$$RC(\%) = \frac{A_c}{A_c + A_a} \times 100$$

Trong đó: A_c là vùng tinh thể trên ảnh nhiễu xạ tia X; A_a là vùng vô định hình trên ảnh nhiễu xạ tia X.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Trong nghiên cứu này, mỗi thí nghiệm được thực hiện ba lần lặp lại. Dữ liệu thu thập được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010, sau đó phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định Bonferroni để đánh giá sự khác biệt giữa các số liệu thực nghiệm với mức ý nghĩa dưới 0,05.

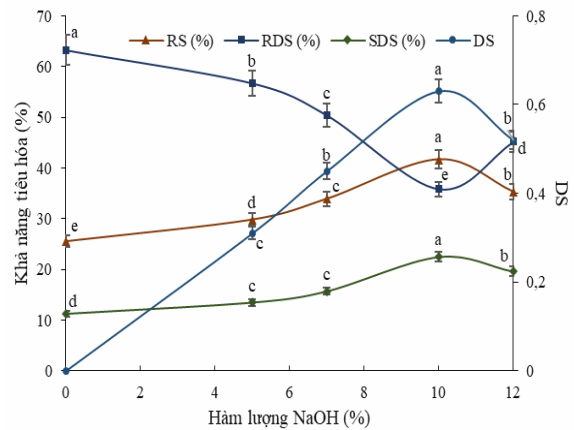
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Tinh bột chuối xanh biến tính CMS5, CMS7, CMS10, CMS12 được carboxymethyl hóa với hàm lượng NaOH 5%, 7%, 10%, 12% (so với khối lượng tinh bột), tương ứng.

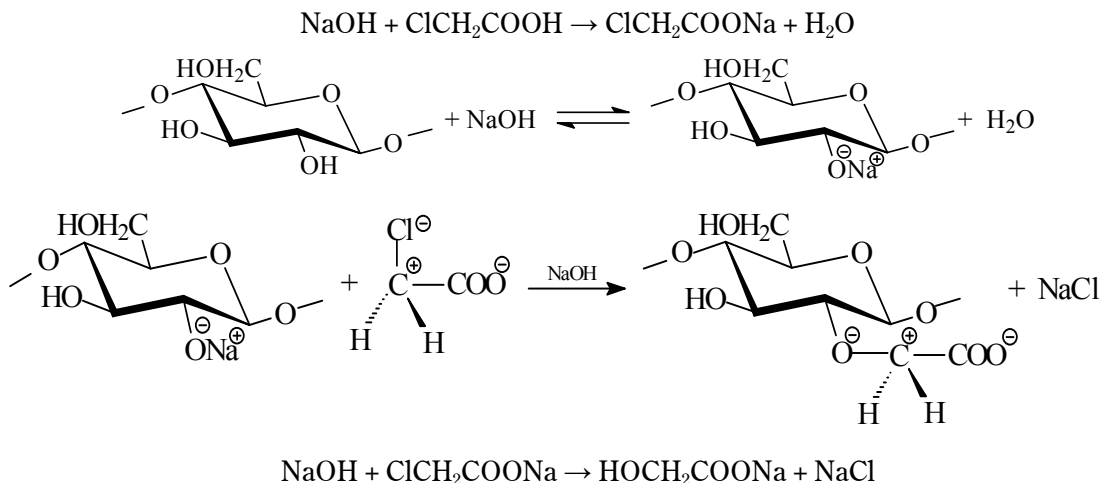
3.1. Độ thế và khả năng tiêu hóa

Khi tăng hàm lượng NaOH từ 5 - 10% thì DS tăng (từ 0,31 lên 0,63), điều này chứng tỏ môi trường kiềm đóng vai trò là chất trương nở tạo điều kiện thuận lợi cho sự khuếch tán và xâm nhập của các chất ethylene đến cấu trúc hạt của

tinh bột [25]. Tuy nhiên, khi tăng hàm lượng NaOH lên 12%, DS có xu hướng giảm (DS = 0,52), do môi trường kiềm mạnh gây hồ hóa tinh bột, ngăn cản tiếp xúc giữa MCA và tinh bột trong hỗn hợp phản ứng [5]. Mặt khác, nồng độ NaOH cao sẽ làm tăng khả năng tạo sản phẩm phụ là sodium glycolat làm cản trở sự tiếp xúc giữa MCA và tinh bột trong hỗn hợp phản ứng làm giảm hiệu quả của phản ứng.



Hình 1. Độ thế (DS) và khả năng tiêu hóa (RS, RDS, SDS) của tinh bột chuối carboxymethyl với hàm lượng NaOH khác nhau

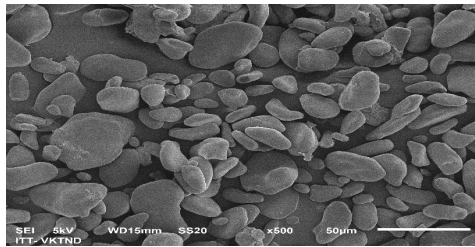


Hình 2. Sơ đồ phản ứng carboxymethyl hóa giữa tinh bột và monochloroacetic axit [25]

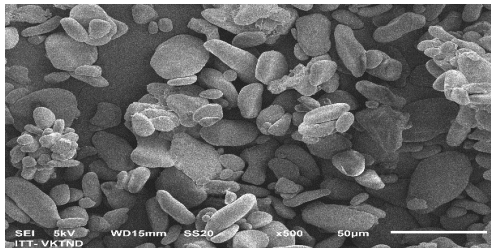
DS càng cao chứng tỏ nhóm carboxymethyl trong chuỗi polysaccharide càng nhiều, do đó cấu trúc tinh bột càng trở nên lỏng lẻo, cản trở cấu

trúc không gian, ngăn cản sự tiếp xúc của enzyme với tinh bột [5, 6], do đó hàm lượng RS trong tinh bột tăng lên. Với hàm lượng NaOH 10%, hàm

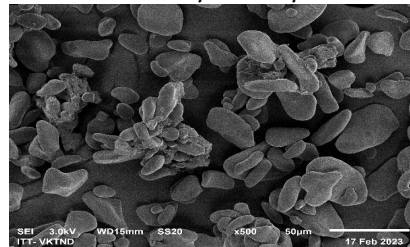
lượng RS và SDS đạt giá trị cao nhất (42,36% và 19,27%), RDS đạt giá trị thấp nhất (38,37%).



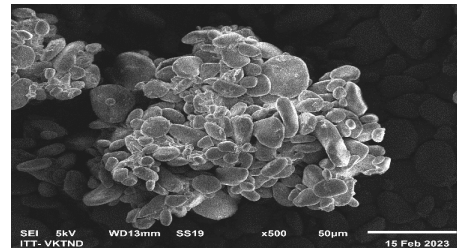
a. GB



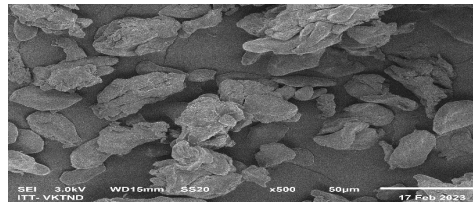
c. CMS7



b. CMS5



d. CMS10



e. CMS12

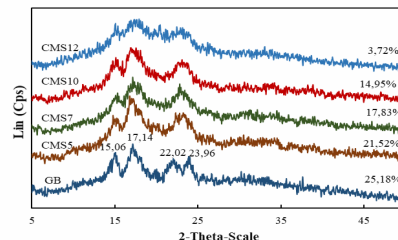
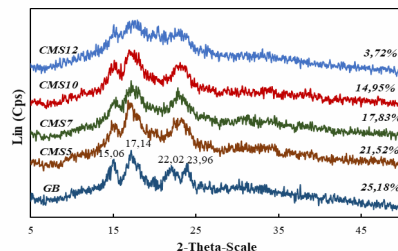
Hình 3. Ảnh SEM (x 500) của tinh bột chuối xanh trước và sau quá trình carboxymethyl hóa

Hạt GB có hình bầu dục hoặc thuôn dài tự do với kích thước khác nhau, bề mặt tương đối nhẵn, các hạt tách rời nhau (Hình 3a). Các hạt tinh bột CMS5, CMS7, CMS10 không có sự thay đổi nhiều so với hạt GB giống như hạt tinh bột CMS12. Khi hàm lượng NaOH trong quá trình biến tính càng cao, hiện tượng kết tụ thành khối và gel hóa xuất hiện càng nhiều (Hình 3b, c, d), đặc biệt ở hàm lượng NaOH 12%. Việc tăng hàm lượng NaOH dẫn đến hiện tượng hồ hóa kiềm

làm hỏng bề mặt của hạt tinh bột, gây mất hình thái và tính ổn định của cấu trúc phân tử của hạt tinh bột [5, 15].

Mặt khác, sự phá vỡ cấu trúc hạt ở hàm lượng 12% liên quan đến sự cắt chuỗi và giảm độ thế của tinh bột, tạo điều kiện để enzyme xâm nhập [5]. Điều này giải thích lý do RS giảm ở CMS12.

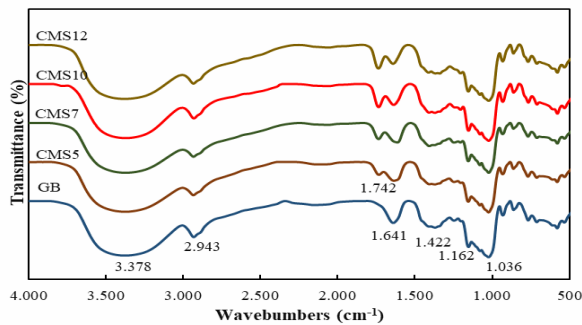
3.2.2. Nhiều xạ tia X



Hình 4. Giải đồ nhiễu xạ tia X của tinh bột chuối xanh trước và sau quá trình carboxymethyl hóa

Các peak ở $\sim 15^\circ$, $\sim 17^\circ$, $\sim 22 - 24^\circ$ trên mẫu GB đặc trưng cho cấu trúc kết tinh kiểu “B” có cường độ giảm dần khi tăng hàm lượng NaOH từ 5 - 12%. Hàm lượng NaOH càng cao thúc đẩy quá trình thủy phân các chuỗi amylose dẫn đến sự biến dạng của hạt tinh bột [5], kết quả là độ kết tinh giảm từ 25,18% (GB) xuống 3,72% (CMS12). Điều này chứng tỏ, cấu trúc hạt của tinh bột gần như bị phá vỡ, phù hợp với kết quả SEM (Hình 3).

3.2.3. Phổ hồng ngoại FTIR



Hình 5. Phổ FTIR của tinh bột chuối xanh ban đầu và tinh bột carboxymethyl hóa

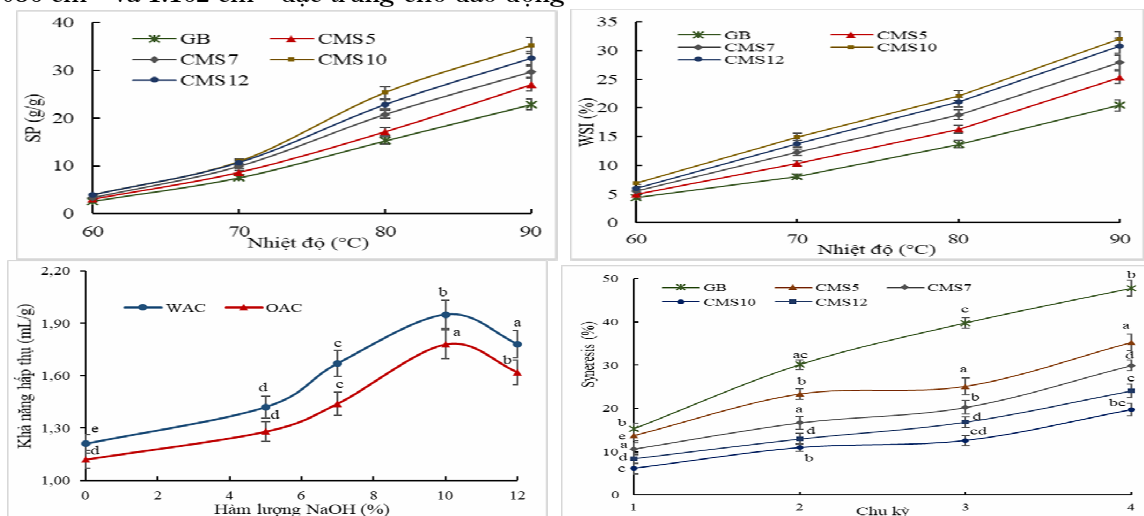
Về cơ bản, phổ hồng ngoại của tinh bột tự nhiên (GB) và các CMS không khác nhau nhiều, các phổ đều xuất hiện peak rộng 3.378 cm^{-1} và 2.943 cm^{-1} đặc trưng cho dao động hóa trị nhóm -OH và dao động hóa trị không đối xứng của liên kết $-\text{CH}_2\text{ no}$; peak 1.422 cm^{-1} đặc trưng cho dao động biến dạng của liên kết $-\text{CH}-\text{no}$. Các đỉnh ở 1.036 cm^{-1} và 1.162 cm^{-1} đặc trưng cho dao động

của các nhóm hydroxyl và các nhóm C–O–C của anhydroglucose. Peak 1.641 cm^{-1} biểu thị sự biến dạng rung động của nước hấp thụ.

Sự khác biệt rõ ràng nhất của GB và CMS là sự xuất hiện thêm vai peak 1.742 cm^{-1} bên cạnh peak 1.641 cm^{-1} đặc trưng cho dao động hóa trị của nhóm C = O và khi hàm lượng NaOH tăng, cường độ của peak 1.742 cm^{-1} càng mạnh còn peak 1.641 cm^{-1} càng giảm, điều này chứng tỏ đã xảy ra phản ứng carboxymethyl hóa [5, 13].

3.3. Tính năng của tinh bột

Độ trương nở (SP) và độ tan trong nước (WSI) của tinh bột được khảo sát ở các nhiệt độ khác nhau (60°C , 70°C , 80°C , 90°C). Nhiệt độ càng cao, SP và WSI của tinh bột tăng lên và các mẫu tinh bột có sự thay đổi đáng kể. Quá trình carboxymethyl hóa đã làm tăng SP và WSI của tinh bột. Ở 90°C , SP của tinh bột CMS tăng từ 4,14 – 12,30 g/g so với GB (22,84 g/g). Cụ thể, SP của CMS5, CMS7, CMS10, CMS12 lần lượt là 26,98, 29,63, 35,14, 132,52 g/g. Tương tự, WSI của tinh bột CMS tăng 4,89 – 11,55% so với GB (20,46%), WSI của CMS5, CMS7, CMS10, CMS12 lần lượt là 25,35, 27,94, 32,01, 30,82%. Như vậy, khả năng trương nở và độ tan trong nước được sắp xếp theo thứ tự: GB < CMS5 < CMS7 < CMS12 < CMS10.



Hình 6. Một số tính năng của tinh bột chuối xanh ban đầu và tinh bột carboxymethyl hóa

Sự xuất hiện của nhóm carboxymethyl ($-\text{CH}_2\text{COO}^-$) làm tăng độ phân cực trong tinh bột do lực đẩy tĩnh điện giữa các chuỗi polysaccharide [26] và sự biến dạng của các hạt tinh bột (Hình 2) có thể làm tăng khả năng thẩm thấu của các phân tử nước [5]. Điều đó làm tăng độ trương nở và độ hòa tan trong nước của CMS, cũng như giải thích lý do tại sao CMS10 có SP và WSI lớn nhất.

Khả năng hấp thụ nước và dầu (WAC và OAC) của tinh bột CMS cao hơn nhiều so với tinh bột chuỗi ban đầu (WAC và OAC lần lượt là 1,21 và 1,12 mL/g). WAC tăng mạnh (từ 1,42 lên 1,95 mL/g) khi hàm lượng NaOH tăng từ 5 - 10%, sau đó giảm khi hàm lượng NaOH là 12%. Xu hướng của OAC cũng tương tự WAC, OAC của CMS5, CMS7, CMS10 và CMS12, lần lượt là 1,28, 1,44, 1,78 và 1,62 mL/g.

Khả năng hấp thụ dầu và nước của tinh bột CMS tỷ lệ thuận với độ thể của quá trình carboxymethyl hóa do nhóm carboxymethyl ($-\text{CH}_2\text{COO}^-$) làm tăng khả năng hấp thụ chất lỏng. Ngoài ra, môi trường kiềm mạnh thúc đẩy sự phân cắt chuỗi polysaccharide dẫn đến sự gia tăng vùng vô định hình. Điều đó làm tăng sự hấp thụ chất lỏng của tinh bột biến tính bằng lực hút mao dẫn [8].

Việc giải phóng nước trong mỗi chu kỳ lạnh đông - tan giá có liên quan đến sự ổn định của gel tinh bột. Lượng nước giải phóng của mẫu GB tăng nhanh từ 15,24% (chu kỳ 1) đến 47,83% (chu kỳ 4). Các mẫu CMS có độ bền lạnh đông - tan giá cao hơn so với GB và tỷ lệ thuận với DS. Sau 4 chu kỳ, độ bền lạnh đông - tan giá của các mẫu CMS được sắp xếp theo thứ tự tăng dần: CMS5 (35,25%) < CMS7 (29,94%) < CMS12 (24,04%) < CMS10 (19,71%).

Độ bền lạnh đông - tan giá được cải thiện của CMS có thể do sự sắp xếp chuỗi tinh bột bị chậm lại, điều này liên quan đến nhóm hydroxyl có trong tinh bột. Tinh bột CMS có ít nhóm hydroxyl, độ bền lạnh đông - tan giá càng cao [6]. Ngoài ra, nhiều nhóm ưa nước $-\text{COO}^-$ trong

các mẫu CMS góp phần tăng khả năng giữ phân tử nước trong cấu trúc [5].

4. KẾT LUẬN

Quá trình carboxymethyl hóa với hàm lượng 10% cho độ thể cao nhất (0,63), hàm lượng tinh bột kháng tiêu đạt 41,67%, cao hơn so với tinh bột ban đầu 16,11%. Cấu trúc hạt bị biến dạng nghiêm trọng khi tăng hàm lượng NaOH lên 12% dẫn đến độ kết tinh giảm mạnh (từ 25,18% xuống 3,72%). Tinh bột chuỗi carboxymethyl có khả năng trương nở, độ tan trong nước, khả năng hấp thụ dầu/nước và độ bền lạnh đông - tan giá được cải thiện rõ rệt, đặc biệt là tinh bột được xử lý với hàm lượng NaOH 10%. Ở 90°C, SP và WSI của CMS10 lần lượt là 32,52 g/g và 30,82%. Sau 4 chu kỳ lạnh đông - tan giá, lượng nước CMS10 giải phóng ra khoảng 24%, thấp hơn đáng kể lượng nước GB giải phóng ra (47,83%). Sự thay đổi tính năng và hàm lượng RS giúp mở rộng khả năng ứng dụng trong ngành thực phẩm của tinh bột chuỗi carboxymethyl.

LỜI CẢM ƠN

Công trình nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Bộ Khoa học và Công nghệ thông qua đề tài mã số: DTĐL.CN-115/21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fuentes-Saragoza, E., Sánchez-Zapata, E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernández-López, J. & Pérez-Alvarez, J. A. (2011). Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch/Stärke*, 63, 406 – 415.
2. Sajilata, M. G., Singhal, R. S. & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch – A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4, 1 – 17.
3. Bojarczuk, A., Skapska, S., Mousavi Khaneghah, A. & Marszałek, K. (2022). Health benefits of resistant starch: A review of the literature. *Journal of Functional Foods*, 93, 105094.
4. Lv, X., Ye, F., Li, J., Ming, J. & Zhao, G. (2016). Synthesis and characterization of a novel antioxidant RS4 by esterifying carboxymethyl

- sweetpotato starch with quercetin. *Carbohydrate Polymers*, 152, 31 – 38.
5. Pham, T. T., Nguyen, T. D., Pham, N. A., Le, T. H. T., Nguyen, N. T., Nguyen, T. T. & Nguyen, T. T. (2024). The effects of substitution degree in the carboxymethylation of jackfruit seed starch on starch digestibility. *Food Biophysics*, 19, 1068 – 1076.
6. Liu, J., Ming, J., Li, W. & Zhao, G. (2012). Synthesis, characterisation and in vitro digestibility of carboxymethyl potato starch rapidly prepared with microwave-assistance. *Food Chemistry*, 133(4): 1196 – 1205.
7. Nisit, K., Suwakon, J. & Ornanong, K. (2011). Preparation of cross-linked carboxymethyl jackfruit starch and evaluation as a tablet disintegrant. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(4): 415 – 420.
8. Spsychaj, T., Wilpizewska, K. & Zdanowicz, M. (2012). Medium and high substituted carboxymethyl starch: Synthesis, characterization and application. *Starch/Stärke*, 65(1 – 2): 22 – 33.
9. Tijssen, C. J., Kolk, H. J., Stamhuis, E. J. & Beenackers, A. A. C. M. (2001). An experimental study on the carboxymethylation of granular potato starch in non-aqueous media. *Carbohydrate Polymers*, 45, 219 – 226.
10. El-Sheikh, M. A. (2010). Carboxymethylation of maize starch at mild conditions. *Carbohydrate Polymers*, 79, 875 – 881.
11. Jie, Y., Wen-Ren, C., Manurung, R. M., Ganzeveld, K. J. & Heeres, H. J. (2004). Exploratory studies on the carboxymethylation of cassava starch in water-miscible organic media. *Starch/Stärke*, 56, 100 – 106.
12. Sangseethong, K., Ketsilp, S. & Sriroth, K. (2005). The role of reaction parameters on the preparation and properties of carboxymethyl cassava starch. *Starch/Stärke*, 57, 84 – 91.
13. Kittipongpatana, O. S., Sirithunyalug, J. & Laenger, R. (2006). Preparation and physicochemical properties of sodium carboxymethyl mungbean starches. *Carbohydrate Polymers*, 63, 105 – 113.
14. Kooijman, L. M., Ganzeveld, K. J., Manurung, R. M. & Heeres, H. J. (2003). Experimental studies on the carboxymethylation of arrowroot starch in isopropanol-water media. *Starch/Stärke*, 55, 495 – 501.
15. Rachtanapun, P., Simasatitkul, P., Chaiwan, W. & Watthanaworasakun, Y. (2012). Effect of sodium hydroxide concentration on properties of carboxymethyl rice starch. *International Food Research Journal*, 19(3): 923 – 931.
16. Tribess, T. B., Hernández-Urbe, J. P., Méndez-Montealvo, M. G. C., Menezes, E. W., Bello-Perez, L. A. & Tadini, C. C. (2009). Thermal properties and resistant starch content of green banana flour (*Musa cavendishii*) produced at different drying conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 42(5): 1022 – 1025.
17. Surendra Babu, A., Mohan Naik, G. N., James, J., Aboobacker, A. B., Eldhose, A. & Jagan Mohan, R. (2018). A comparative study on dual modification of banana (*Musa paradisiaca*) starch by microwave irradiation and cross-linking. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 2209 – 2218.
18. Wu, T. Y., Tsai, S. J., Sun, N. N., Dai, F. J., Yu, P. H. & Chau, C. F. (2020). Enhanced thermal stability of green banana starch by heat-moisture treatment and its ability to reduce body fat accumulation and modulate gut microbiota. *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 915 – 924.
19. Waliszewski, K. N., Aparicio, M. A., Bello, L. A. & Monroy, J. A. (2003). Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydrate Polymers*, 52, 237 – 242.
20. Vu, M. T., Nguyen, K. A. T., Pham, M. H. T., Le, H. N. T., Nguyen, N. T., Nguyen, T. T. & Nguyen, P. H. (2024). Noodle production for diabetics from modified green banana starch by phosphate cross-linking. *Starch/Stärke*, 2400001.

21. Garofalo, M. A., Villon, P., Cornejo, F. & Rosell, C. M. (2024). Exploring the effects of enzymatic and thermal treatments on banana starch characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127748.
22. Waliszewski, K. N., Aparicio, M. A., Bello, L. A. & Monroy, J. A. (2003). Banana starch: Production, physicochemical properties and digestibility - a review. *Carbohydrate Polymers*, 52, 237 – 242.
23. Megazyme (2015). Resistant starch assay procedure. <http://secure.megazyme.com/downloads/en/data/K-RSTAR.pdf> (Accessed 20 July 2017).
24. Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(2), 258 – 261.
25. Lawal, O. S., Lechner, M. D., Hartmann, B. & Kulicke, W. M. (2007). Carboxymethyl cocoyam starch: Synthesis, characterisation and influence of reaction parameters. *Starch/Stärke*, 59, 224 – 233.
26. Wang, Y., Ju, B. & Zhang, S. (2012). Viscosity properties of acetylated carboxymethyl starch. *Carbohydrate Polymers*, 90, 696 – 702.

STUDY ON THE MODIFICATION OF GREEN BANANA STARCH BY CARBOXYMETHYLATION METHOD

**Nguyen Phan Hang¹, Vu Minh Tan², Nguyen Thi Kim An²,
Hoang Minh Quan³, Pham Ngoc Anh^{1,4}, Pham Thi Thu Ha⁴,
Nguyen Trung Duc⁴, Nguyen Thanh Tung^{1,4}**

¹ Graduate University of Sciences and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

² Hanoi University of Industry

³ Phacogen Institute of Technology

⁴ Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology

Abstract

The content of NaOH influences the substitution of carboxymethyl groups in the polysaccharide chain and the digestibility of banana starch. The carboxymethylation process exhibits a high degree of substitution (DS) ranging from 0.31 to 0.63 and the resistant starch (RS) content increases from 29.84% to 41.67% as the sodium hydroxide concentration rises from 5% to 10%. At a NaOH concentration of 12%, the granular structure is disrupted and the crystallinity significantly decreased (from 25.18% to 3.72%), lead to a reduction in both DS and RS content (0.52 and 35.28%, respectively). Therefore, banana starch treated with 10% NaOH relative to starch weight is considered optimal. At this concentration, the functional properties of the starch reached their highest values, such as swelling capacity (35.14 g/g at 90°C), water solubility (32.01% at 90°C), freeze-thaw stability (19.71% after four freeze-thaw cycles) and oil and water absorption capacities (OAC 1.78 mL/g and WAC 1.95 mL/g).

Keywords: Carboxymethylation, resistant starch type 4 (RS4), green banana starch.

Ngày nhận bài: 8/01/2025

Ngày chuyển phản biện: 16/01/2025

Ngày thông qua phản biện: 17/02/2025

Ngày duyệt đăng: 25/3/2025