

NGHIÊN CỨU NÂNG CAO HÀM LƯỢNG TINH BỘT KHÁNG (RS) TRONG BỘT KHOAI LANG TÍM (*Ipomoea batatas* (L.) LAM) BẰNG ENZYME PULLULANASE

• NGÔ LÝ CẨM TÚ¹ - VƯƠNG BẢO THY¹ - TRẦN NGỌC ĐIỆP¹ -
NGUYỄN NGỌC THIÊN KIM¹ - NGUYỄN LÊ TẤN THIÊN¹ -
TRẦN HỮU THANH HUY¹ - BÙI THẾ VINH^{1,*}

¹Khoa Sau Đại học - Trường Đại học Cửu Long

*Người chịu trách nhiệm bài viết: TS. Bùi Thế Vinh

Email: btvinhvn@yahoo.com.vn.

TÓM TẮT:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các thông số kỹ thuật cho quá trình xử lý enzyme pullulanase để nâng cao hàm lượng tinh bột kháng (RS) trong bột khoai lang tím (*Ipomoea batatas* L.) thu nhận tại Vĩnh Long. Các thông số kỹ thuật của quá trình xử lý bằng enzyme pullulanase gồm: pH (4,0; 5,0; 6,0), nồng độ enzyme (20; 30; 40 U/g tinh bột khô) và thời gian thủy phân (8; 16; 24 giờ). Kết quả cho thấy, các thông số gồm pH 5,0, nồng độ enzyme 20 U/g và thời gian thủy phân 16 giờ cho hàm lượng tinh bột kháng (RS) đạt 28,19% - tăng gấp đôi so với nguyên liệu ban đầu - cùng với hàm lượng tinh bột tổng số 56,45%. Khả năng trương nở và độ nhớt biểu kiến của bột giảm đáng kể xuống lần lượt còn 13,22 g/g và 545,8 cP, phản ánh sự hình thành cấu trúc tinh thể RS3 bền nhiệt thông qua cơ chế thoái hóa amylose. Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho việc sản xuất bột khoai lang tím giàu tinh bột kháng (RS) có tiềm năng ứng dụng trong phát triển thực phẩm chức năng hỗ trợ kiểm soát đường huyết.

Từ khóa: enzyme pullulanase, khoai lang tím (*Ipomoea batatas* (L.) Lam, sự nâng cao, tinh bột kháng.

1. Đặt vấn đề

Khoai lang tím (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) là cây lương thực có giá trị dinh dưỡng và kinh tế đáng kể, được trồng rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới (Antonio et al., 2011). Củ khoai lang tím không chỉ là nguồn cung cấp tinh bột, đường mà còn chứa nhiều hợp chất có

hoạt tính sinh học, đặc biệt là anthocyanin, chất xơ, vitamin và khoáng chất (Oki et al., 2002; Bovell-Benjamin, 2007). Trong nhóm carbohydrate, tinh bột là thành phần chiếm tỷ lệ lớn và có vai trò quyết định đến tính chất công nghệ, khả năng tiêu hóa và giá trị dinh dưỡng của khoai lang tím. Về mặt sinh lý học, tinh bột được phân loại thành tinh

bột tiêu hóa nhanh (RDS), tinh bột tiêu hóa chậm (SDS) và tinh bột kháng (RS) dựa trên mức độ và tốc độ thủy phân trong hệ tiêu hóa (Englyst, 1992).

Trong đó, RS được định nghĩa là phần tinh bột không bị thủy phân bởi enzyme tiêu hóa ở ruột non nhưng được lên men ở ruột già tạo ra các acid béo chuỗi ngắn (SCFA), mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe như kiểm soát đường huyết, cải thiện hệ vi sinh đường ruột, giảm nguy cơ béo phì, tiểu đường type 2 và ung thư đại trực tràng (Sajilata et al., 2006; Fuentes-Zaragoza et al., 2010). Dựa vào cấu trúc và nguồn gốc, RS được chia thành 5 loại: RS1 (vật lý), RS2 (hạt tinh bột thô), RS3 (tinh bột thoái hóa - bền nhiệt), RS4 (biến tính hóa học) và RS5 (phức hợp amylose-lipid dạng helix V) (Gutiérrez & Tovar, 2021; Hồ Thị Thảo và cs, 2024). Trong số đó, RS3 có độ bền nhiệt cao, được hình thành trong quá trình hồ hóa và làm nguội tinh bột, đặc biệt được quan tâm do khả năng ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm (Haralampu, 2000; Zhang et al., 2014).

Lượng tinh bột kháng trong tinh bột khoai lang tự nhiên dao động từ 24,0 - 25,3%, trong đó tinh bột khoai lang tím có lượng tinh bột kháng cao hơn các loại khác (Ngoc et al., 2017). Để nâng cao hàm lượng RS, nhiều nghiên cứu đã sử dụng enzyme pullulanase (EC 3.2.1.41) - một enzyme cắt đặc hiệu liên kết α -1,6-glycosidic tại các điểm phân nhánh của amylopectin. Quá trình này làm tăng tỷ lệ amylose/amylopectin, tạo ra các mạch thẳng có độ dài thích hợp, từ đó thúc đẩy sự tái kết tinh thành RS3 trong quá trình thoái hóa (Shi et al., 2013). Trên thế giới, pullulanase đã được ứng dụng thành công để làm giàu RS từ tinh bột bắp (Shi et al., 2013), tinh bột đậu xanh (Nguyễn Thị Mai Hương, 2022), tinh bột chuối xanh (Trần Thị Phương Nhi và cs., 2025) và tinh bột đậu đỏ (Reddy et al., 2013). Tại Việt Nam, một số nghiên cứu đã được thực hiện trên nhiều loại tinh bột, nhưng chưa có nhiều công trình chuyên sâu về quy trình làm giàu RS từ khoai lang tím. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định các điều kiện thủy phân tối ưu bởi enzyme pullulanase để làm tăng hàm lượng tinh bột kháng trong bột

khoai lang tím, đánh giá sự biến đổi cấu trúc và tính chất của RS3 thu được. Kết quả của nghiên cứu kỳ vọng góp phần nâng cao giá trị gia tăng của khoai lang tím Việt Nam, định hướng sản xuất tinh bột kháng làm nguyên liệu cho thực phẩm chức năng.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Giống khoai lang tím (*Ipomoea batatas* (L.)) Lam được thu hoạch tại Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long, Việt Nam vào vụ thu hoạch năm 2025. Củ khoai lang được lựa chọn dựa trên các tiêu chí: không có tổn thương cơ học, không bị sâu bệnh, kích thước tương đối đồng đều. Sau khi thu hoạch, mẫu được vận chuyển đến phòng thí nghiệm trong vòng 6 giờ và được bảo quản ở nhiệt độ $4 \pm 1^\circ\text{C}$ trước khi xử lý. Củ khoai lang tím được rửa sạch dưới vòi nước chảy để loại bỏ đất cát và tạp chất bề mặt, sau đó để ráo. Vỏ được loại bỏ bằng dao inox, phần thịt củ được thái lát mỏng với độ dày 2 mm, sau đó sấy ở 55°C trong 6 giờ. Sản phẩm sau sấy được nghiền mịn bằng máy nghiền và rây qua sàng có kích thước lỗ 0,05 mm. Bột được bảo quản trong túi polyethylene kín khí ở điều kiện khô mát (nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm tương đối $45\% \pm 5\%$) cho đến khi phân tích.

Enzyme pullulanase (EC 3.2.1.41) được cung cấp bởi Genencor (Hoa Kỳ).

2.2. Quy trình thực nghiệm và bố trí thí nghiệm

2.2.1. Quy trình thủy phân tổng quát

Quá trình thủy phân được thực hiện theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Mai Hương và cs (2022) với một số điều chỉnh. Cụ thể, cân 10 g bột mẫu cho vào bình tam giác dung tích 250 mL, thêm nước cất để đạt nồng độ 10% (w/w). Hỗn hợp được gia nhiệt trong bể ổn nhiệt ở 95°C trong 30 phút, khuấy liên tục 100 vòng/phút để hồ hóa hoàn toàn tinh bột; sau đó chuyển vào bể nước đá để làm nguội nhanh đến 60°C . Độ pH của huyền phù được điều chỉnh đến các giá trị thí nghiệm bằng dung dịch HCl 0,1 M hoặc NaOH 0,1 M trong đệm citrate; đồng thời bổ sung enzyme pullulanase với nồng độ khảo sát. Hỗn hợp sau đó được ủ trong

máy lắc điều nhiệt ở 60°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút. Các mẫu được lấy tại các thời điểm khác nhau để đánh giá sự biến đổi theo thời gian. Để kết thúc phản ứng, enzyme được vô hoạt bằng cồn 99°, ly tâm 4.000 vòng trong 30 phút, sau đó được sấy ở 45°C trong 2 giờ. Mẫu được tiến hành thoái hóa ở 4°C trong 20 giờ và bảo quản trong bình hút ẩm trước khi phân tích các chỉ tiêu.

2.2.2. Ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình thủy phân

Ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ đến quá trình thủy phân tinh bột được khảo sát theo phương pháp đơn biến, các yếu tố còn lại được giữ cố định. Các chỉ tiêu dùng để đánh giá hiệu quả thủy phân bao gồm: hàm lượng tinh bột tổng; hàm lượng tinh bột kháng; khả năng trương nở và độ nhớt. Quá trình khảo sát được tiến hành theo 3 nhóm điều kiện như sau:

- *pH*: Môi trường phản ứng được điều chỉnh tại ba mức pH 4,0; 5,0 và 6,0.

- *Nồng độ enzyme*: Chế phẩm enzyme được bổ sung ở 3 mức: 20U/g; 30U/g và 40U/g.

- *Thời gian thủy phân*: Các chỉ tiêu của bột được đánh giá sau 8 giờ, 16 giờ và 24 giờ.

2.3. Các phương pháp phân tích

2.2.1. Phương pháp xác định hàm lượng tinh bột tổng và tinh bột kháng từ bột khoai lang tím

Hàm lượng tinh bột tổng và tinh bột kháng được xác định theo phương pháp của McCleary & Monaghan (2002). Nguyên lý phương pháp dựa trên thủy phân hoàn toàn tinh bột tiêu hóa (Digestible Starch - DS) thành glucose bằng hệ enzyme α -amylase chịu nhiệt và amyloglucosidase (AMG). Sau đó, phản ứng được dừng lại bằng ethanol. Phần còn lại (tinh bột kháng - RS) được thu hồi bằng cách ly tâm, sau đó hòa tan trong KOH và thủy phân hoàn toàn thành glucose bằng AMG. Hàm lượng RS được tính toán dựa trên lượng glucose giải phóng này. Sau đó định lượng glucose bằng thuốc thử glucose oxidase-peroxidase (GOPOD).

Cân 10 g bột mẫu được xử lý với 4,0 mL α -amylase (100 U/mL, đệm MOPS pH 6,0) ở 100°C trong 30 phút (lắc 200 vòng/phút), tiếp theo

thêm 4,0 mL AMG (3 U/mL, đệm acetate pH 4,0) ở 37°C trong 16 giờ. Sau xử lý enzyme như trên, hỗn hợp được ly tâm (3000×g, 10 phút, 4°C) để loại bỏ phần tinh bột không kháng; cặn RS được rửa lần lượt bằng ethanol 50% (2 × 10 mL) và nước cất (1 × 10 mL), sau đó hòa tan trong 4 mL KOH 2 M (bể đá), trung hòa bằng 2 mL đệm natri acetate 1,2 M (pH 3,8), thêm 0,1 mL AMG (3.300 U/mL) và ủ ở 50°C/30 phút trước khi định lượng.

Toàn bộ dịch nổi thu được sau các bước ly tâm được gộp lại và định mức đến 100 mL bằng dung dịch đệm natri acetate 100 mM (pH 4,5). Hỗn hợp được lắc đều. Hút 0,1 mL dung dịch này vào ống nghiệm, thêm 10 μ L dung dịch AMG (300 U/mL) và ủ ở 50°C trong 20 phút. Sau đó, bổ sung 3,0 mL thuốc thử GOPOD và tiếp tục ủ ở 50°C trong 20 phút.

Đo và đọc giá trị độ hấp thụ A của mỗi dung dịch thử ở bước sóng 510 nm so với mẫu trắng.

Hàm lượng tinh bột kháng (g/100g mẫu khô) được tính theo công thức:

$$RS(\%) = \Delta A \times \frac{F}{W} \times 0.9 \times 100$$

Trong đó: ΔA : Độ hấp thụ của mẫu trừ đi mẫu trắng; F: Hệ số chuyển đổi từ độ hấp thụ sang μ g glucose (độ hấp thụ thu được cho 100 μ g D-glucose trong phản ứng GOPOD được xác định và F = 100 (μ g D-glucose) chia cho độ hấp thụ GOPOD của 100 μ g D-glucose này); W: Trọng lượng mẫu thử (mg) tính theo chất khô; 0.9: Hệ số chuyển đổi từ glucose tự do sang tinh bột

Hàm lượng tinh bột tiêu hóa (g/100g mẫu khô) được tính theo công thức:

$$DS(\%) = \frac{\Delta B \times V \times 0.9}{W} \times 100$$

Trong đó: ΔB : Độ hấp thụ của phần dịch trong sau khi phản ứng với GOPOD trừ đi mẫu trắng; V: tổng thể tích dịch chiết (mL); W: Trọng lượng mẫu thử (mg) tính theo chất khô. 0.9: Hệ số chuyển đổi từ glucose tự do sang tinh bột.

Hàm lượng tinh bột tổng = tinh bột kháng + tinh

$$TS(\%) = RS(\%) + DS(\%)$$

2.2.2. Phương pháp xác định các đặc tính lý hóa của tinh bột kháng

Các đặc tính lý hóa bao gồm khả năng trương nở và đặc tính lưu biến (độ nhớt) được đánh giá trên cùng bộ mẫu.

Khả năng trương nở của bột khoai lang tím được xác định theo phương pháp của Kittipongpatana et al. (2011) với một số điều chỉnh. Cân 2 g tinh bột và định mức tới 100 mL, đun cách thủy trong 30 phút, khuấy đều. Sau đó ly tâm với tốc độ 4000 vòng/phút trong 15 phút thu được hai phần: tinh bột kết lắng và nước dịch. Loại bỏ phần dịch nổi, cặn ướt còn lại được cân ngay (m_1 g) và sau đó đem sấy khô (m_2 g). Khả năng trương nở (g/g mẫu) của tinh bột tính theo công thức:

$$SP = \frac{m_1}{m_2}$$

Đặc tính lưu biến (độ nhớt) của bột khoai lang tím được đánh giá theo phương pháp của Spychaj et al. (2013) với một số điều chỉnh phù hợp. Cân 2,00 g bột định mức bằng nước thành huyền phù đồng nhất nồng độ 2% (w/w) trong khoảng 30 phút. Độ nhớt được xác định bằng máy đo độ nhớt quay với spindle thích hợp, tốc độ quay của spindle thay đổi từ 1 đến 100 vòng/phút (các giá trị cụ thể: 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 rpm). Giá trị độ nhớt được ghi nhận sau khi kim chỉ thị ổn định. Mỗi mẫu được đo ba lần độc lập, kết quả được biểu thị bằng đơn vị mPa.s (tương đương cP).

2.3. Phân tích thống kê

Các dữ liệu thu được trong quá trình nghiên cứu được tính toán và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Phân tích phương sai

(ANOVA) ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ và kiểm định LSD được thực hiện bằng phần mềm Statgraphics Centurion XV.

3. Kết quả và thảo luận

Để đánh giá hiệu quả của enzyme pullulanase quy trình làm giàu tinh bột kháng (RS) từ bột khoai lang tím; các yếu tố pH, nồng độ enzyme và thời gian thủy phân đã được khảo sát. Kết quả phân tích các chỉ tiêu bao gồm hàm lượng RS, hàm lượng tinh bột tổng số (TS), khả năng trương nở (SP) và độ nhớt được trình bày lần lượt dưới đây.

3.1. Ảnh hưởng của pH đến quá trình thủy phân

Ảnh hưởng của pH đến 4 chỉ tiêu khi cố định nồng độ enzyme ở 20 U/g và thời gian 16 giờ được trình bày trong Bảng 1.

Kết quả cho thấy, pH ảnh hưởng rõ rệt đến tất cả các chỉ tiêu. Giá trị RS cao nhất đạt được tại pH 5,0 (27,65%), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với pH 4,0 (23,45%) và pH 6,0 (24,12%) ($p < 0,05$). Điều này phù hợp với khoảng pH tối ưu của enzyme pullulanase (4.5-5.5) theo khuyến cáo của nhà sản xuất và các nghiên cứu trước đây. Ở pH 5,0, cấu trúc không gian của enzyme ổn định, hoạt tính cắt liên kết α -1,6-glycosidic đạt cực đại, giải phóng nhiều mạch thẳng amylose. Các mạch này sau đó tái sắp xếp thành xoắn kép và tinh thể RS3 trong quá trình thoái hóa, làm gia tăng RS. Ở pH 4,0 hoặc 6,0, enzyme bị biến tính một phần, hoạt tính giảm, dẫn đến lượng mạch thẳng được giải phóng ít hơn, do đó RS thấp hơn (Shi et al., 2013).

Hàm lượng TS cũng đạt giá trị cao nhất tại pH 5,0 (47,18%), cao hơn đáng kể ở pH 4,0 (41,22%) và pH 6,0 (43,49%), khác biệt có ý nghĩa thống

Bảng 1. Ảnh hưởng của pH đến các chỉ tiêu của bột khoai lang tím

pH	TS (%)	RS (%)	Độ nhớt (cP)	SP
4,0	41,22 ± 1,37c	21,92 ± 1,25c	571,2 ± 8,28a	13,66 ± 0,23a
5,0	47,18 ± 1,06a	27,65 ± 0,85a	554,8 ± 8,81c	13,33 ± 0,14c
6,0	43,49 ± 0,75b	20,32 ± 0,94b	587,5 ± 7,70b	14,35 ± 0,28b

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo kiểm định LSD ($p < 0,05$).

kê ($p < 0,05$). Điều này cho thấy ở pH tối ưu của enzyme, quá trình thủy phân diễn ra hiệu quả giúp giải phóng tinh bột khỏi cấu trúc mô mà không gây phân hủy quá mức. Ở pH 4,0 môi trường acid có thể thủy phân một phần liên kết glycosidic, làm giảm TS (Hoover, 2000).

Độ nhớt và khả năng trương nở của huyền phù bột sau xử lý cũng biến đổi theo pH. Giá trị độ nhớt thấp nhất được ghi nhận tại pH 5,0 (554,8 cP) và cao nhất tại pH 4,0 (590,8 cP). Tương tự, khả năng trương nở (SP) giảm xuống thấp nhất tại pH 5,0 (13,33 g/g) so với pH 4,0 (13,66 g/g) và pH 6,0 (13,40 g/g). Sự suy giảm độ nhớt và khả năng trương nở (SP) ở pH 5,0 có liên quan đến sự gia tăng hàm lượng amylose và sự hình thành các vi tinh thể chặt chẽ, làm giảm khả năng hydrat hóa và hấp thụ nước của hạt tinh bột (Schirmer et al., 2013). Kết quả này khẳng định rằng pH 5,0 là điều kiện thích hợp nhất để vừa làm giàu tinh bột kháng (RS) vừa cải thiện các đặc tính lý hóa theo hướng có lợi cho ứng dụng thực phẩm chức năng.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme pullulanase đến quá trình thủy phân

Ảnh hưởng của nồng độ enzyme pullulanase đến 4 chỉ tiêu khi cố định pH 5,0 và thời gian 16 giờ được trình bày trong Bảng 2.

Kết quả cho thấy, nồng độ enzyme có ảnh hưởng rõ rệt đến tất cả các chỉ tiêu. Hàm lượng tinh bột kháng (RS) đạt giá trị cao nhất tại nồng độ 20 U/g (27,65%). Khi tăng nồng độ lên 30

U/g, RS giảm xuống 25,97% và tiếp tục giảm còn 23,88% ở 40 U/g. Điều này cho thấy việc sử dụng nồng độ enzyme quá cao không mang lại hiệu quả làm giàu RS mà còn gây tác dụng ngược. Cơ chế được giải thích như sau: Ở nồng độ 20 U/g, lượng enzyme vừa đủ để cắt đặc hiệu các liên kết α -1,6-glycosidic tại các điểm phân nhánh của amylopectin, giải phóng các mạch thẳng amylose có độ dài phân tử phù hợp (DP khoảng 13-36). Các mạch này trong quá trình thoái hóa (retrogradation) sẽ sắp xếp lại thành các xoắn kép và vi tinh thể loại B, tạo thành RS3 bền nhiệt (Shi et al., 2013; Shi et al., 2018). Khi nồng độ enzyme tăng lên 30 - 40 U/g, lượng enzyme dư thừa tiếp tục thủy phân không chỉ các nhánh amylopectin mà còn cắt các mạch amylose đã được giải phóng thành các đoạn oligosaccharide quá ngắn (độ trùng hợp DP < 10). Các đoạn mạch này không đủ dài để hình thành xoắn kép ổn định, do đó không thể tạo thành RS3 (Gidley & Bulpin, 1987). Hậu quả là hàm lượng RS sụt giảm đáng kể.

Hàm lượng tinh bột tổng số (TS) cũng giảm dần khi nồng độ enzyme tăng: từ 47,18% (20 U/g) xuống 44,86% (30 U/g) và 43,68% (40 U/g). Sự sụt giảm TS này phản ánh mức độ thủy phân tinh bột ngày càng lớn dưới tác động của pullulanase. Ở nồng độ enzyme cao, quá trình cắt nhánh diễn ra quá mức, tạo ra lượng lớn oligosaccharide mạch ngắn và đường có khả năng hòa tan (maltose, glucose, maltotriose...); các sản phẩm này bị rửa

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme pullulanase đến các chỉ tiêu của bột khoai lang tím

Nồng độ (U/g)	TS (%)	RS (%)	Độ nhớt (cP)	SP
20	47,18 ± 1,06a	27,65 ± 0,85a	554,8 ± 8,81c	13,33 ± 0,14b
30	44,86 ± 0,65b	25,97 ± 1,31a	565,2 ± 8,13b	13,47 ± 0,13b
40	43,68 ± 1,06b	23,88 ± 0,64b	602,8 ± 5,80a	14,79 ± 0,12a

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo kiểm định LSD ($p < 0,05$).

trôi trong bước tách thu hồi tinh bột, dẫn đến thất thoát tinh bột tổng (Zhao & Lin, 2009; Shi et al., 2018).

Độ nhớt và khả năng trương nở có sự biến đổi ngược chiều với RS. Ở nồng độ 20 U/g, độ nhớt đạt giá trị thấp nhất (554,8 cP) và SP cũng thấp nhất (13,33 g/g). Khi nồng độ tăng lên 30 U/g, độ nhớt tăng lên 565,2 cP; ở 40 U/g, độ nhớt tăng mạnh lên 602,8 cP. Tương tự, SP tăng dần từ 13,33 g/g (20 U/g) lên 13,47 g/g (30 U/g) và 14,79 g/g (40 U/g). Sự gia tăng độ nhớt và SP ở nồng độ enzyme cao có thể được giải thích bởi hai cơ chế: (i). Sự hình thành một lượng lớn các oligosaccharide mạch ngắn và đường hòa tan làm tăng áp suất thẩm thấu, kéo theo nước vào hệ, làm tăng khối lượng và thể tích huyền phù; (ii). Các mảnh vỡ tinh bột có kích thước rất nhỏ có diện tích bề mặt riêng lớn, hấp phụ nhiều nước hơn, dẫn đến SP tăng. Tuy nhiên, các mảnh vỡ này không phải là RS3 có cấu trúc tinh thể bền vững. Như vậy, sự gia tăng độ nhớt và SP ở nồng độ enzyme cao, cho thấy sự suy thoái cấu trúc tinh bột, làm giảm giá trị chức năng của sản phẩm (Gidley & Bulpin, 1987; Zhao & Lin, 2009).

Ở mức nồng độ enzyme 20 U/g cho kết quả tốt nhất trên cả 4 chỉ tiêu, phản ánh sự hình thành RS3 hiệu quả với cấu trúc tinh thể chặt chẽ, khả năng hydrat hóa kém - đặc trưng của tinh bột kháng chất lượng cao (Shi et al., 2013; Shi et al., 2018). Do đó, nồng độ 20 U/g được lựa chọn là phù hợp nhất

cho thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến quá trình thủy phân

Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến bốn chỉ tiêu khi cố định nồng độ enzyme ở 20 U/g và pH 5,0 được trình bày trong Bảng 3.

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, thời gian thủy phân có ảnh hưởng rõ rệt đến tất cả các chỉ tiêu. Hàm lượng RS tăng dần từ 25,56% sau 8 giờ lên 28,19% sau 16 giờ; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian lên 24 giờ, RS giảm nhẹ xuống 27,01% - thấp hơn đáng kể so với mốc 16 giờ. Xu hướng này cho thấy, thời gian 16 giờ là điểm cân bằng tối ưu giữa hiệu quả cắt nhánh và sự thoái hóa tinh bột. Ở 8 giờ, thời gian chưa đủ để enzyme pullulanase cắt hoàn toàn các liên kết α -1,6-glycosidic của amylopectin, do đó lượng mạch thẳng amylose được giải phóng còn hạn chế, dẫn đến RS chưa cao. Khi đạt 16 giờ, hầu hết các nhánh amylopectin đã bị cắt, tạo ra nguồn amylose dồi dào cho quá trình tái kết tinh thành RS3 trong giai đoạn thoái hóa. Kéo dài lên 24 giờ, enzyme dư thừa tiếp tục thủy phân các mạch amylose thành các đoạn oligosaccharide quá ngắn ($DP < 10$), không đủ khả năng hình thành xoắn kép và tinh thể bền vững, làm giảm RS (Gidley & Bulpin, 1987; Zhao & Lin, 2009). Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trên tinh bột bắp (Shi et al., 2013), tinh bột yến mạch (Gorecki et al., 2018) và tinh bột gạo (Li et al., 2019).

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến các chỉ tiêu của bột khoai lang tím

Thời gian (giờ)	TS (%)	RS (%)	Độ nhớt (cP)	SP
8	51,45±1,42b	25,56±0,83c	571,8±6,25a	14,18±0,39a
16	56,45±0,08a	28,19±0,41a	548,8±7,85b	13,22±0,19b
24	53,90±1,06b	27,01±0,42b	553,7±9,29b	13,40±0,34b

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo kiểm định LSD ($p < 0,05$).

Hàm lượng TS cũng biến động tương tự: đạt giá trị cao nhất tại 16 giờ (56,45%), cao hơn có ý nghĩa thống kê so với 8 giờ (51,45%). Ở 24 giờ, TS giảm xuống còn 53,90%, tuy không khác biệt thống kê với 8 giờ nhưng thấp hơn so với 16 giờ. Sự gia tăng TS từ 8 giờ lên 16 giờ phản ánh quá trình thủy phân giúp giải phóng tinh bột khỏi cấu trúc mô thực vật một cách hiệu quả, đồng thời chưa gây phân hủy đáng kể. Ở 24 giờ, sự thủy phân quá mức dẫn đến tạo thành các sản phẩm hòa tan (maltodextrin, đường) bị mất trong quá trình rửa, làm giảm TS.

Độ nhớt của huyền phù bột giảm từ 571,8 cP (8 giờ) xuống 548,8 cP (16 giờ), sau đó tăng nhẹ lên 553,7 cP (24 giờ). Sự giảm độ nhớt ở 16 giờ cho thấy cấu trúc phân tử tinh bột đã bị cắt thành các đoạn ngắn hơn, làm giảm lực ma sát nội sinh và khả năng hình thành mạng lưới gel (Li et al., 2018; Shi et al., 2018). Ở 24 giờ, độ nhớt tăng trở lại có thể do sự xuất hiện của các oligosaccharide mạch rất ngắn và đường hòa tan làm thay đổi tính chất keo của hệ, hoặc do các mảnh vỡ tinh bột có kích thước siêu nhỏ có diện tích bề mặt lớn hấp phụ nhiều nước.

Khả năng trương nở (SP) cũng giảm từ 14,18 g/g (8 giờ) xuống 13,22 g/g (16 giờ) và 13,40 g/g ở 24 giờ. Sự suy giảm SP phản ánh sự gia tăng hàm lượng amylose và mức độ kết tinh của tinh bột sau quá trình cắt nhánh và thoái hóa. Amylose mạch thẳng có khả năng hydrat hóa kém hơn amylopectin

phân nhánh, đồng thời các vi tinh thể RS3 hình thành hạn chế sự xâm nhập của nước vào hạt tinh bột (Schirmer et al., 2013; Jia et al., 2023). SP thấp nhất tại 16 giờ, phù hợp với RS cao nhất, là đặc trưng của tinh bột kháng chất lượng tốt.

Thời gian thủy phân 16 giờ cho giá trị RS và TS cao nhất, đồng thời độ nhớt và SP thấp nhất, thể hiện sự hình thành RS3 hiệu quả với cấu trúc tinh thể bền vững, khả năng hydrat hóa kém. Do đó, 16 giờ được lựa chọn là thời gian thích hợp nhất cho quá trình làm giàu tinh bột kháng từ bột khoai lang tím bằng enzyme pullulanase.

4. Kết luận

Quá trình thủy phân bột khoai lang tím bằng enzyme pullulanase chịu ảnh hưởng rõ rệt bởi pH, nồng độ enzyme và thời gian. Trong các điều kiện khảo sát, bộ thông số pH 5,0, nồng độ enzyme 20 U/g tinh bột khô và thời gian 16 giờ cho hiệu quả làm giàu tinh bột kháng (RS) cao nhất (28,19%); đồng thời hàm lượng tinh bột tổng số đạt 56,45%; độ nhớt giảm xuống 548,8 cP và khả năng trương nở giảm còn 13,22 g/g. Sự suy giảm độ nhớt và khả năng trương nở cùng với sự gia tăng RS phản ánh sự hình thành cấu trúc tinh thể RS3 bền nhiệt. Nghiên cứu chứng minh rằng việc ứng dụng enzyme pullulanase với các thông số công nghệ tối ưu cho phép làm giàu hiệu quả tinh bột kháng từ bột khoai lang tím, tạo ra nguyên liệu có tiềm năng ứng dụng cao trong lĩnh vực thực phẩm chức năng và các sản phẩm có chỉ số đường huyết thấp ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Hồ, T. T., Trần, T. H. T., & Nguyễn, K. P. (2024). Tổng quan về tinh bột kháng tiêu hóa và phương pháp thu nhận. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Trà Vinh*, 14, 38-43. <https://doi.org/10.35382/tvujs.14.5.2024.203>
- Nguyễn, T. M. H. (2022). Nghiên cứu sản xuất tinh bột kháng tiêu hóa từ tinh bột đậu xanh và ứng dụng trong chế biến thực phẩm [Luận án Tiến sĩ]. Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Trần, T. P. N., Nguyễn, T. L., Nguyễn, T. N. T., Võ, N. T. T., Nguyễn, T. D., & Bùi, B. T. (2025). Tối ưu hóa quy trình thủy phân bột chuối xanh bằng enzyme pullulanase để sản xuất tinh bột kháng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Duy Tân*, 1(68), 1-14.
- Antonio, G. C., Takeiti, C. Y., Oliveira, R. A. de, & Park, K. J. (2011). Sweet potato: Production, morphological and physicochemical characteristics, and technological process. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 5(2), 1-18.

- Bovell-Benjamin, A. C. (2007). Sweet potato: A review of its past, present, and future role in human nutrition. *Advances in Food and Nutrition Research*, 52, 1-59. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(06\)52001-7](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(06)52001-7)
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46(Suppl 2), S33-S50.
- Fuentes-Zaragoza, E., Sánchez-Zapata, E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernández-López, J., & Pérez-Alvarez, J. A. (2010). Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch/Stärke*, 63(7), 406-415. <https://doi.org/10.1002/star.201000099>
- Gidley, M. J., & Bulpin, P. V. (1987). Crystallisation of malto-oligosaccharides as models of the crystalline forms of starch: Minimum chain-length requirement for the formation of double helices. *Carbohydrate Research*, 161(2), 291-300. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90086-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90086-7)
- Górecki, A. R., Blaszcak, W., Lewandowicz, J., Le Thanh-Blicharz, J., & Penkacik, K. (2018). Influence of high pressure or autoclaving-cooling cycles and pullulanase treatment on buckwheat starch properties and resistant starch formation. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 68(3), 235-242. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2018-0001>
- Gutiérrez, T., & Tovar, J. (2021). Update of the concept of type 5 resistant starch (RS5): Self-assembled starch V-type complexes. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 711-724. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.078>
- Haralampu, S. G. (2000). Resistant starch - A review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers*, 41(3), 285-292. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00147-2](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00147-2)
- Hoover, R. (2000). Acid-treated starches. *Food Reviews International*, 16(3), 369-392. <https://doi.org/10.1081/FRI-100100292>
- Jia, R., Cui, C., Gao, L., Qin, Y., Ji, N., Dai, L., Wang, Y., Xiong, L., Shi, R., & Sun, Q. (2023). A review of starch swelling behavior: Its mechanism, determination methods, influencing factors, and influence on food quality. *Carbohydrate Polymers*, 321, 121260. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121260>
- Kittipongpatana, N., Suwakon, J., & Kittipongpatana, O. (2011). Preparation of cross-linked carboxymethyl jackfruit starch and evaluation as a tablet disintegrant. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(4), 415-420.
- Li, H., Li, J., Xiao, Y., Cui, B., Fang, Y., & Guo, L. (2019). In vitro digestibility of rice starch granules modified by β -amylase, transglucosidase and pullulanase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 1228-1236. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.111>
- Li, X., Wang, Y., Lee, B. H., & Li, D. (2018). Reducing digestibility and viscoelasticity of oat starch after hydrolysis by pullulanase from *Bacillus acidopullulyticus*. *Food Hydrocolloids*, 75, 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.009>
- McCleary, B. V., & Monaghan, D. A. (2002). Measurement of resistant starch. *Journal of AOAC International*, 85(3), 665-675. <https://doi.org/10.1093/jaoac/85.3.665>
- Ngoc, L. B., Trung, P. B., Hoa, P. N., & Hung, P. (2017). Physicochemical properties and resistant starch contents of sweet potato starches from different varieties grown in Vietnam. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2(1), 53-57. <https://www.foodsciencejournal.com/assets/archives/2017/vol2issue1/1-6-40-211.pdf>
- Oki, T., Masuda, M., Furuta, S., Nishiba, Y., Terahara, N., & Suda, I. (2002). Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars. *Journal of Food Science*, 67(5), 1752-1756. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08718.x>
- Reddy, C. K., Suriya, M., & Haripriya, S. (2013). Physico-chemical and functional properties of resistant starch prepared from red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.) starch by enzymatic method. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 220-226. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.060>
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch - A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1-17. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x>
- Schirmer, M., Höchstätter, A., Jekle, M., Arendt, E., & Becker, T. (2013). Physicochemical and morphological characterization of different starches with variable amylose/amylopectin ratio. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.032>

- Shi, J., Sweedman, M. C., & Shi, Y. C. (2018). Structural changes and digestibility of waxy maize starch debranched by different levels of pullulanase. *Carbohydrate Polymers*, 194, 350-356. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.053>
- Shi, M., Chen, Y., Yu, S., & Gao, Q. (2013). Preparation and properties of RS III from waxy maize starch with pullulanase. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.018>
- Spychaj, T., Zdanowicz, M., Kujawa, J., & Schmidt, B. (2013). Carboxymethyl starch with high degree of substitution: Synthesis, properties and application. *Polimery*, 58(7-8), 503-511. <https://doi.org/10.14314/polimery.2013.503>
- Zhang, H., Jin, Z., & Xu, X. (2014). Structural features and physicochemical properties of resistant starch type 3. *Starch/Stärke*, 66(1-2), 90-101. <https://doi.org/10.1002/star.201300077>
- Zhao, X.-H., & Lin, Y. (2009). The impact of coupled acid or pullulanase debranching on the formation of resistant starch from maize starch with autoclaving - cooling cycles. *European Food Research and Technology*, 230(1), 179-184. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1151-8>

Ngày nhận bài: 20/4/2026

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 8/5/2026

Ngày chấp nhận đăng bài: 22/5/2026

ENHANCEMENT OF RESISTANT STARCH CONTENT IN PURPLE SWEET POTATO FLOUR (*Ipomoea batatas* (L.) LAM) USING PULLULANASE ENZYME

- **NGO LY CAM TU¹**
- **VUONG BAO THY¹**
- **TRAN NGOC DIEP¹**
- **NGUYEN NGOC THIEN KIM¹**
- **NGUYEN LE TAN THIEN¹**
- **TRAN HUU THANH HUY¹**
- **BUI THE VINH¹ ***

¹Graduate School, Cuu Long University

*Corresponding author: btvinhnm@yahoo.com.vn

ABSTRACT:

This study aims to determine optimal processing conditions for enhancing resistant starch (RS) content in purple sweet potato flour using pullulanase enzyme. The investigated parameters include pH (4.0 - 6.0), enzyme concentration (20 - 40 U/g dry starch), and hydrolysis time (8 - 24 hours). The results indicate that optimal conditions (pH 5.0, enzyme concentration 20 U/g, hydrolysis time 16 hours) yield an RS content of 28.19%, approximately double the initial level, with total starch content of 56.45%. Swelling capacity and apparent viscosity significantly decreased, reflecting the formation of thermally stable RS3 structure through amylose retrogradation. These findings provide a scientific basis for producing RS-enriched purple sweet potato flour with potential applications in functional foods for glycemic control.

Keywords: pullulanase enzyme, purple sweet potato, enhancement, resistant starch