

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**



**CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG**

**ẢNH HƯỞNG CỦA LIỀU CHIẾU XẠ CHÙM TIA ĐIỆN TỬ  
(EB) LÊN SỰ THAY ĐỔI CẤU TRÚC, CÁC TÍNH CHẤT  
HÓA LÝ VÀ ĐỘ TIÊU HÓA CỦA TINH BỘT BẮP**

**MÃ SỐ: T2019-35TĐ**



**Tp. Hồ Chí Minh, tháng 04/2020**

*Mẫu 1TD. Trang bìa của báo cáo tổng kết đề tài KH&CN cấp Trường trọng điểm*

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT  
ĐỀ TÀI KH&CN CẤP TRƯỜNG TRỌNG ĐIỂM**

**ẢNH HƯỞNG CỦA LIỀU CHIẾU XẠ CHÙM TIA  
ĐIỆN TỬ (EB) LÊN SỰ THAY ĐỔI CẤU TRÚC,  
CÁC TÍNH CHẤT HÓA LÝ VÀ ĐỘ TIÊU HÓA CỦA  
TINH BỘT BẮP**

**Mã số: T2019-35TD**

**Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS. Trịnh Khánh Sơn**

**TP. HCM, 4/2020**

*Mẫu 2TD. Trang bìa phụ của báo cáo tổng kết đề tài KH&CN cấp Trường trọng điểm*

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH  
KHOA CÔNG NGHỆ HÓA HỌC VÀ THỰC PHẨM

**BÁO CÁO TỔNG KẾT  
ĐỀ TÀI KH&CN CẤP TRƯỜNG **TRỌNG ĐIỂM****

**ẢNH HƯỞNG CỦA LIỀU CHIẾU XẠ CHùm TIA  
ĐIỆN TỬ (EB) LÊN SỰ THAY ĐỔI CẤU TRÚC,  
CÁC TÍNH CHẤT HÓA LÝ VÀ ĐỘ TIÊU HÓA CỦA  
TINH BỘT BẮP**

**Mã số: T2019-35TD**

**Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS. Trịnh Khánh Sơn  
Thành viên đề tài: TS. Vũ Trần Khánh Linh  
TS. Phạm Thị Hoàn  
KS. Đặng Thanh Bình**

**TP. HCM, 4/2020**

## MỤC LỤC

DANH MỤC HÌNH.....	3
DANH MỤC BẢNG.....	4
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT .....	5
TÓM TẮT .....	6
1. MỞ ĐẦU.....	7
1.1. Tinh bột.....	8
1.2. Phổ FTIR của tinh bột.....	12
1.3. Các phân đoạn tiêu hóa của tinh bột.....	13
1.4. Mức liều xạ an toàn ứng dụng trong xử lý thực phẩm.....	14
1.5. Biến tính tinh bột bằng chiếu xạ.....	14
1.6. Các nghiên cứu trước đây.....	16
1.7. Mục tiêu của nghiên cứu .....	18
2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP .....	19
2.2. Tinh bột chiếu xạ EB .....	19
2.3. Hàm lượng acid tự do.....	20
2.4. Màu sắc .....	20
2.5. Độ hòa tan và độ trương nở.....	21
2.6. Độ nhớt và khối lượng phân tử trung bình.....	22
2.7. Khả năng tạo phức với iodine và hàm lượng amylose biểu kiến.....	22
2.8. Sự có mặt của các nhóm chức hóa học bằng phổ FTIR.....	23
2.9. Kiểu hình tinh thể nhiễu xạ tia X và mức độ tinh thể tương đối .....	23
2.10. Độ tiêu hóa in vitro.....	24
2.11. Phương pháp thống kê.....	25
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN .....	26
3.2. Hàm lượng acid tự do và amylose biểu kiến.....	26
3.3. Độ nhớt và khối lượng phân tử trung bình.....	27
3.4. Sự có mặt của các nhóm chức hóa học bằng phổ FTIR.....	28
3.5. Kiểu hình tinh thể nhiễu xạ tia X và mức độ tinh thể tương đối .....	30
3.6. Màu sắc .....	32
3.7. Độ hòa tan và độ trương nở.....	33
3.8. Độ tiêu hóa <i>in vitro</i> .....	34

4. KẾT LUẬN .....	35
5. ĐỀ XUẤT.....	36
6. TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	37

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1. Cấu tạo của amylose và amylopectin.....	9
Hình 1. 2. Cấu trúc của phức tinh bột với iodine.....	10
Hình 1. 3. Cấu trúc tinh thể loại A và loại B .....	11
Hình 1. 4. Ảnh hưởng của chiếu xạ lên tinh bột .....	16
Hình 3.1. Độ nhớt reduced của các mẫu tinh bột ở các liều chiếu xạ EB khác nhau ..	27
Hình 3.2. Phổ FTIR của các mẫu tinh bột .....	28
Hình 3.3 Giảm độ nhiễu xạ tia X .....	31

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1. 1. Phổ FTIR của tinh bột.....	13
Bảng 2.1. Các chỉ tiêu chất lượng của tinh bột bắp nguyên liệu * .....	19
Bảng 2.2. Các thông số chính của thiết bị chiếu xạ .....	20
Bảng 3. 1. Giá trị pH, hàm lượng acid tự do (FA, ml) và hàm lượng amylose biểu kiến (AM, %) .....	26
Bảng 3. 2. Độ nhớt nội tại và khối lượng phân tử trung bình.....	27
Bảng 3. 3. Mức độ tinh thể tương đối (DRC, %).....	30
Bảng 3. 4. Các thông số màu sắc .....	32
Bảng 3. 5. Độ hòa tan và trương nở .....	33
Bảng 3. 6. Độ tiêu hóa in vitro .....	34

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

AM: hàm lượng amylose

DRC: mức độ tinh thể tương đối

EB: Electron beam

EB7, EB5, EB2.7, EB1, EB0 là các mẫu được chiếu xạ EB ở liều chiếu 7, 5, 2.7, 1.0 và 0 kGy

FA: hàm lượng acid tự do

FTIR: Fourier-transform infrared spectroscopy, phổ hồng ngoại Fourier

$\eta_i$ : độ nhớt nội tại

SDS: Slowly digestible starch

SB: độ hòa tan

SP: độ trương nở

RDS: Rapidly digestible starch  $M_w$ : khối lượng phân tử trung bình

RS: Resistant starch

XRD: X-ray diffraction, nhiễu xạ tia X



## TÓM TẮT

Chiếu xạ electron beam (EB) được dùng để xử lý tinh bột bắp ở các liều từ 0 đến 7 kGy. Chiếu xạ EB làm (a) depolymer hóa các phân tử tinh bột, (b) hình thành các liên kết ngang từ đó làm tăng mức độ tinh thể và (c) làm các tinh thể to bị vỡ ra thành các tinh thể nhỏ hơn. Khi tăng liều xạ sẽ làm giảm pH, giảm độ nhớt, giảm khối lượng phân tử nhưng làm tăng độ acid của tinh bột bắp. Sau chiếu xạ, màu sắc của mẫu bị sậm hơn. Phổ FTIR, kiểu hình tinh thể loại A, tỉ lệ vùng có trật tự/vùng vô định hình hầu như không thay đổi sau khi chiếu xạ. Các thay đổi nói trên không chỉ làm thay đổi hàm lượng amylose mà còn làm giảm độ trương nở và làm tăng độ hòa tan của tinh bột. Ngoài ra, sự tương tác giữa các thay đổi trên giúp giải thích sự chuyển đổi từ phân đoạn tinh bột trở thành tinh bột tiêu hóa chậm.

## 1. MỞ ĐẦU

Tinh bột là nguồn dinh dưỡng dự trữ của thực vật và là nguồn cung cấp dinh dưỡng chính cho con người, do cây xanh quang hợp tổng hợp nên, chúng chứa nhiều trong các loại lương thực như hạt, củ, quả,... Hình dáng và kích thước, mức độ tinh thể hóa của hạt tinh bột, cũng như thành phần hóa học và tính chất của tinh bột phụ thuộc nhiều vào giống cây, điều kiện trồng trọt, quá trình sinh trưởng của cây,...(Ann-Charlotte Eliasson, 2006; Whistler, 2009).

Tinh bột sử dụng để tạo nên kết cấu, sự hấp dẫn của nhiều thực phẩm. Tinh bột dùng làm chất làm dày và kết dính, sử dụng rộng rãi trong sản xuất bánh tráng miệng, các món súp, nước sốt, trộn salad, chế phẩm thực phẩm dành cho trẻ sơ sinh, bánh điền, mayonnaise,... Một lớp amylose có thể được sử dụng như màng bảo vệ vỏ trái cây, tránh kẹo trái cây khô bị dính vào nhau. Đồng thời amylose còn bảo vệ khoai tây chiên tránh bị nhạy cảm với quá trình oxy hóa. Việc sử dụng amylopectin cũng rất đa dạng. Nó sử dụng với lượng lớn như là một chất làm đặc, chất ổn định và chất kết dính (Ann-Charlotte Eliasson, 2006; Whistler, 2009).

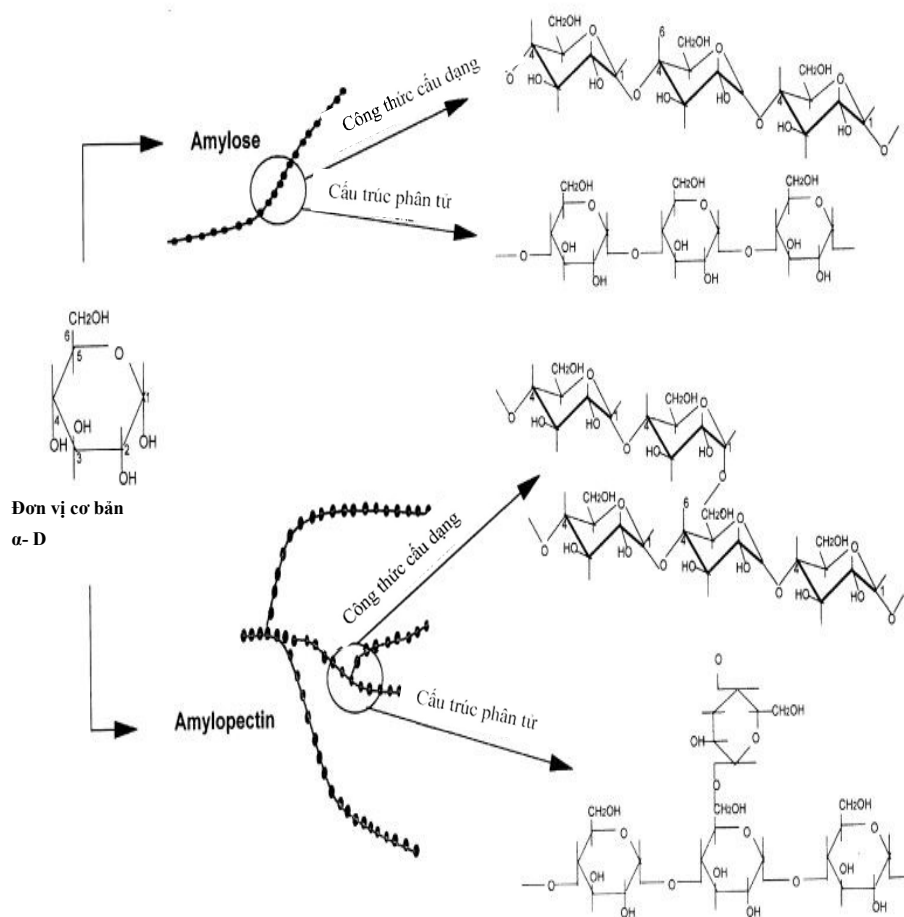
Dù được ứng dụng rộng rãi trong thực phẩm và còn được dùng trong các ngành công nghiệp khác, tuy nhiên, các tính chất của tinh bột tự nhiên không đáp ứng đủ các yêu cầu về mặt kỹ thuật trong sản xuất công nghiệp. Vì vậy, tinh bột thường được biến tính để có được những tính chất khác nhau đáp ứng nhu cầu ngày một tăng của người tiêu dùng. Các phương pháp biến tính bằng hóa học hiện nay được sử dụng rộng rãi, cung cấp đa dạng các loại tinh bột biến tính. Mặc dù vậy chúng lại có một số nhược điểm là chi phí biến tính, chi phí xử lý môi trường sau biến tính khá cao và quan trọng hơn là sự e ngại của người tiêu dùng về tồn dư chất hóa học trong thực phẩm. Hiện nay các phương pháp biến tính hiện đại hơn, nhanh và an toàn được nghiên cứu, song song với phương pháp biến tính hóa sinh (như dùng enzyme) thì các phương pháp biến tính bằng vật lý lại được ưu chuộng. Các phương pháp vật lý thường dùng là dùng lực cơ học, ép đùn, hồ hóa trước,... và các phương pháp đang nghiên cứu gần đây như xử lý nhiệt ẩm, xử lý plasma và các phương pháp chiếu xạ ion hóa (gamma, EB,...) (Ann-Charlotte Eliasson, 2006; Whistler, 2009). Trong nghiên cứu này, chúng tôi bước đầu đánh giá sự ảnh hưởng của xử lý EB lên sự thay đổi về cấu trúc, các tính chất hóa lý và

độ tiêu hóa của tinh bột bắp, làm tiền đề cho việc xác định các thông số xử lý EB để đạt những tính chất mong muốn của tinh bột trong sản xuất công nghiệp sau này.

Tinh bột bắp là loại tinh bột được tách ra từ hạt bắp. Quá trình bắt đầu khi hạt bắp được ngâm trong nước, mầm được tách ra khỏi nội nhũ, sau đó nghiền nhỏ và rửa nhiều lần và cuối cùng đem đi sấy khô để thu được thành phần tinh bột. Bắp là loại cây lương thực được sử dụng rộng rãi và có sản lượng dẫn đầu thế giới về cây lương thực, được trồng nhiều ở Mỹ (chiếm gần một nửa), Trung Quốc, Brasil, México, Argentina, Ấn Độ, Pháp, Indonesia, Nam Phi và Italia ([Ann-Charlotte Eliasson, 2006](#); [Whistler, 2009](#)). Chính vì là cây lương thực chính và có sản lượng lớn nhất nên chúng tôi đã lựa chọn tinh bột bắp là nguyên liệu được đem đi xử lý trong nghiên cứu này.

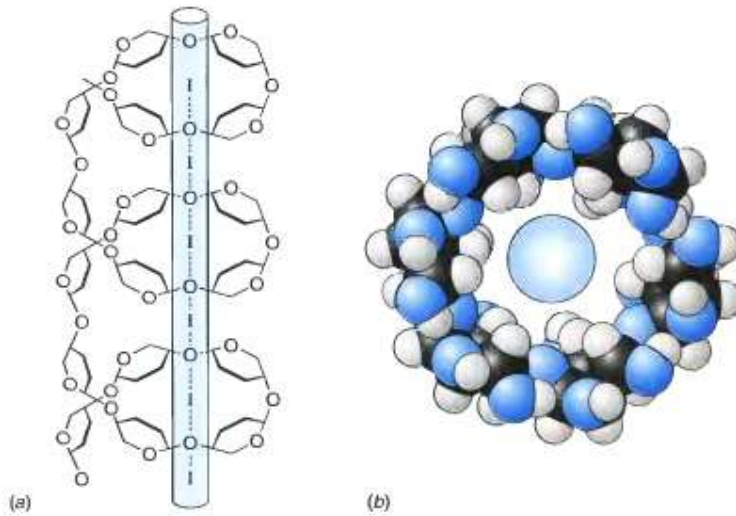
### **1.1. Tinh bột**

Tinh bột là hợp phần từ hai đại phân tử là amylose và amylopectin, mà cả hai đều là polymer của glucose. Amylose chủ yếu là polymer mạch thẳng, có những đơn vị glucose được gắn với nhau thông qua liên kết  $\alpha$ -1,4-glycosidic. Trong các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng glucose có khoảng 0.1% điểm nhánh  $\alpha$ -1,6 glycosidic. Ngược lại, mặc dù amylopectin cũng chủ yếu là liên kết  $\alpha$ -1,4-glycosidic, nhưng nó có một tỉ lệ cao hơn liên kết  $\alpha$ -1,6-glycosidic (4%). Amylopectin có phân tử lớn hơn rất nhiều so với amylose, bởi vì khối lượng phân tử ở khoảng  $10^7$  tới  $10^8$ , trong khi amylose có khối lượng phân tử từ  $5 \times 10^5$  đến  $10^6$ . Hai loại phân tử có thể được phân biệt bởi kích thước phân tử và đặc tính trong đó có thể hình dung bằng cách sự liên kết khác nhau của chúng với dung dịch iodine ([Ann-Charlotte Eliasson, 2006](#); [Whistler, 2009](#)).



**Hình 1. 1. Cấu tạo của amylose và amylopectin**  
 (Ann-Charlotte Eliasson, 2006; Whistler, 2009)

Chuỗi dài amylose hoạt động như một cuộn dây linh hoạt trong nước và có ái lực cao với iodine. Chuỗi có chiều dài của 200 đơn vị glucose thể hiện tối đa liên kết của nó với tinh bột (20%) ở 20°C. Phức hợp có  $\lambda_{\max}$  (bước sóng có độ hấp thu cao nhất) là 620nm, kết quả là màu xanh tối. Có một mối quan hệ tuyến tính giữa chiều dài chuỗi glucan và ái lực liên kết của nó với iodine. Bởi vì chiều dài chuỗi giảm khả năng liên kết với iodine của polysaccharide giảm cũng như  $\lambda_{\max}$ . Ở 20°C, amylopectin có khả năng liên kết với iodine 0.2% (w/w) và phức hợp polysaccharide/iodine có  $\lambda_{\max}$  =550nm. Để phản ứng được với iodine, phân tử amylose phải có dạng vòng xoắn ốc. Các dextrin có ít hơn 6 gốc glucose không cho phản ứng với iodine vì không tạo được một vòng xoắn ốc hoàn chỉnh (Ann-Charlotte Eliasson, 2006; Whistler, 2009).



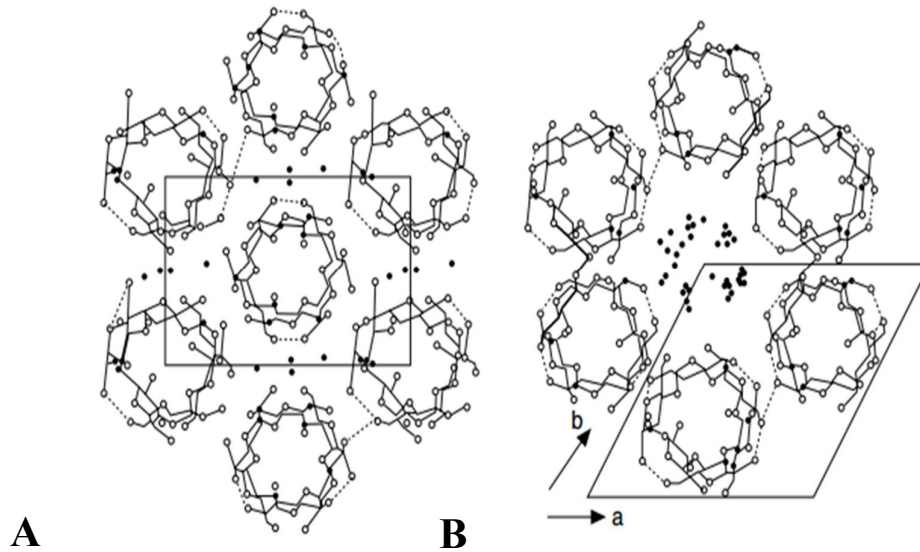
- 3000) Cấu trúc của phức tinh bột với iodine. Chuỗi amylose tạo một đường xoắn ốc quanh đơn vị  $I_6$   
 (b) Góc nhìn từ trên xuống thấy iodine bên trong vòng helix

### Hình 1. 2. Cấu trúc của phức tinh bột với iodine

Tinh bột trong tự nhiên có cấu trúc bán tinh thể, mức độ kết tinh của hạt tinh bột dao động từ 15-45%. Vùng tinh thể chỉ có amylopectin trong khi đó amylose chỉ có ở vùng vô định hình (Ann-Charlotte Eliasson, 2006; Whistler, 2009).

Lớp tinh thể của hạt tinh bột được tạo thành từ mạch xoắn kép amylopectin, sắp xếp theo phương tiếp tuyến với bề mặt hạt, đầu không khử hướng vào bề mặt của hạt. Các lớp tinh thể và vô định hình được sắp xếp với chiều dày theo chu kỳ 9-10nm. Trong lớp tinh thể, các đoạn mạch thẳng liên kết với nhau thành các sợi xoắn kép, xếp thành dãy và tạo thành chùm trong khi phần mạch nhánh nằm trong các lớp vô định hình. Amylose có thể được hòa tan ra khỏi hạt mà không làm ảnh hưởng đến tính chất tinh thể và thậm chí tinh bột không có amylose giống như tinh bột nếp, là một dạng bán tinh thể. Mức độ tinh thể phụ thuộc vào hàm lượng nước. Mức độ tinh thể là 24% đối với tinh bột khoai tây đã sấy khô bằng không khí (19.8% ẩm), 29-35% đối với sản phẩm

ướt (45-55% ẩm) và chỉ có 17% đối với tinh bột được sấy khô bằng  $P_2O_5$  và sau đó ngâm nước lại (Ann-Charlotte Eliasson, 2006; Whistler, 2009).



**Hình 1. 3. Cấu trúc tinh thể loại A và loại B**

(Cui, 2005)

Các nghiên cứu bằng tán xạ tia X cho thấy tinh bột có cấu trúc tinh thể dạng A, B, C (hỗn hợp giữa A và B) và cấu trúc tinh thể dạng V (trong các hạt đã trương nở). Tham gia vào thành phần cấu tạo trong cấu trúc tinh thể dạng B là các sợi amylose xoắn kép song song ngược chiều, được sắp xếp cạnh nhau theo hình lục giác, vùng tâm của hình lục giác chứa đầy nước (với 36 phân tử  $H_2O$ / 1 đơn vị). Cấu trúc tinh thể dạng A tương tự như cấu trúc dạng B, nhưng tâm của hình lục giác thay bằng  $H_2O$  là một chuỗi xoắn kép khác, khiến toàn bộ “bó sợi” có cấu trúc chặt chẽ hơn và trong trường hợp này chỉ có 8 phân tử nước nằm xen kẽ giữa các chuỗi xoắn kép. Tinh bột loại C là một hỗn hợp của tinh thể loại A và loại B, nhưng nó cũng thường có nhiều trong các loại tinh bột lấy từ đậu. Tinh thể loại V là kết quả tạo thành giữa phức amylose với các chất không phân cực hoặc phân cực yếu như acid béo, chất nhũ hóa, butanol và iodine (Ann-Charlotte Eliasson, 2006; Whistler, 2009).

## 1.2. Phổ FTIR của tinh bột

Trong phân tích phổ, vùng phổ có ý nghĩa thực tiễn quan trọng là giữa 4000 và 400  $\text{cm}^{-1}$  gồm bốn vùng nhỏ:  $<800 \text{ cm}^{-1}$ , 1500-800  $\text{cm}^{-1}$ , 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$  và vùng 3600-3000  $\text{cm}^{-1}$ . Vùng  $<800 \text{ cm}^{-1}$  chứa những giao động phức tạp đặc trưng cho vòng pyranose hình xương. Vùng 1500-800  $\text{cm}^{-1}$ : dạng hấp thụ vùng này thường phức tạp, với các dải có liên quan đến tương tác của các dao động. Trong vùng này sự rung động chiếm ưu thế là dao động của khung pyranose trong phân tử glucose của tinh bột. Đây cũng là lý do mà thông tin thu được từ phổ glucose được xem như tần số dao động của phân tử tinh bột (Kizil *et al.*, 2002). Kizil *et al.* (2002) trong quá trình nghiên cứu trên phân tử tinh bột đã nhận thấy sự hấp thụ tại đỉnh 1242  $\text{cm}^{-1}$  là do các  $\text{CH}_2\text{OH}$ . Các dao động liên quan đến nguyên tử carbon và hydro được quan sát ở vùng phổ 1500-3000  $\text{cm}^{-1}$ . Sự hấp thụ tại đỉnh 1344  $\text{cm}^{-1}$  là do nhóm  $\text{CH}_2$ . Những dao động trong vùng 900-950  $\text{cm}^{-1}$  có nguồn gốc từ liên kết glycosis C-O-C.

Phân tử nước hấp thụ trong vùng vô định hình của tinh bột có thể được xác định tại tần số 1637  $\text{cm}^{-1}$ . Vùng này liên quan đến sự kết tinh của tinh bột. Khi mức độ kết tinh của tinh bột tăng, độ hấp thụ của đỉnh 1637  $\text{cm}^{-1}$  trong quang phổ hồng ngoại trở nên yếu và hầu như không thể quan sát được. Nghiên cứu trên tinh bột khoai tây tần số này dịch chuyển đến tần số 1642  $\text{cm}^{-1}$  điều đó theo tác giả là do sự khác biệt về loại tinh thể trong tinh bột (Kizil *et al.*, 2002).

Vùng phổ 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$ : hấp thụ ánh sáng giao động biến dạng  $\text{CH}_2$ . Và vùng 3000-4000  $\text{cm}^{-1}$  bao hàm 3000-3600  $\text{cm}^{-1}$  là vùng hấp thụ của OH duỗi thẳng của phân tử nước.

**Bảng 1. 1. Phổ FTIR của tinh bột**

(Kizil *et al.*, 2002)

<b>Phân giải hồng ngoại</b>	<b>Số sóng (cm<sup>-1</sup>)</b>
Vòng pyranose hình xương	537
C-C duỗi thẳng	764
C(1)-H; CH <sub>2</sub> biến dạng	860
Dao động hình xương của liên kết $\alpha$ -1,4 glycosidic, (C-O-C)	930
Liên kết $\alpha$ -1,6 glycosidic	1080*
C(1)-H uốn cong	1067
C-O-H uốn cong	1094
C-O, C-C duỗi thẳng	1163
CH <sub>2</sub> OH (mạch bên) chế độ liên quan	1242
C-O-H uốn cong, CH <sub>2</sub> xoắn	1344
CH <sub>2</sub> uốn cong, C-O-O duỗi thẳng	1415
Nước hấp thụ trong vùng vô định hình của tinh bột	1642
CH <sub>2</sub> biến dạng	2800-3000
O-H duỗi thẳng	3000-3600

\* Theo Irudayaraj (2006)

### 1.3. Các phân đoạn tiêu hóa của tinh bột

Theo Englyst *et al.* (1992), tinh bột được chia làm 3 phân đoạn tiêu hóa:

- Tinh bột tiêu hóa nhanh (RDS): RDS chủ yếu gồm tinh bột vô định hình và tinh bột phân rã, có trong các loại thực phẩm được xử lý bằng nhiệt ẩm với hàm lượng lớn, như bánh mì, khoai tây. Loại tinh bột này có thể chuyển thành đường glucose *in vitro* trong 20 phút dưới tác dụng của enzyme.
- Tinh bột tiêu hoá chậm (SDS): Cũng như RDS, SDS cũng dễ dàng bị tiêu hóa trong đường ruột nhưng thời gian tiêu hóa lâu hơn so với RDS. Loại tinh bột này có cấu tạo gồm tinh bột vô định hình và tinh bột thô với cấu trúc tinh thể loại A và C (ngũ cốc), loại B, ngay cả trong tinh bột dạng hạt và tinh bột đã nấu chín.



Thời gian tinh bột SDS bị enzyme thủy phân *in vitro* thành glucose lâu hơn 100 phút.

- c) Tinh bột tro (RS): Thuật ngữ “tinh bột tro” lần đầu đưa ra nhằm miêu tả phân đoạn nhỏ của tinh bột kháng lại sự thủy phân của enzyme  $\alpha$ -amylase và pullulanase trong ống nghiệm. RS là loại tinh bột không bị thủy phân *in vitro* sau 120 phút ủ với enzyme. RS được định nghĩa là phân đoạn của tinh bột không bị tiêu hóa trong đường ruột. RS được xác định từ sự khác biệt giữa lượng tinh bột tổng (TS) thu được từ mẫu đã xử lý và đồng hóa và tổng RDS, SDS thu được từ thủy phân bằng enzyme RS được tính bằng cách lấy tinh bột tổng (TS) và tổng các RDS và SDS theo công thức:  $RS = TS - (RDS + SDS)$ .

#### 1.4. Mức liều xạ an toàn ứng dụng trong xử lý thực phẩm

Năm 1980, Ủy ban Liên Hợp Chuyên Gia của FAO/IAEA/WHO về Thực Phẩm Chiếu xạ đã kết luận rằng: “Chiếu xạ trên bất kỳ những thực phẩm thông thường với liều chiếu trung bình là 10kGy, không có mối lo ngại độc tố và không có vấn đề về dinh dưỡng và vi sinh nào. Kết luận này khẳng định rằng: với những thực phẩm có liều xạ bé hơn 10 kGy đều an toàn (Joint FAO/IAEA/WHO, 1981).

Theo tiêu chuẩn Codex Alimentarius cho thực phẩm chiếu xạ có mức giới hạn điện áp gia tốc electron khi xử lý là 10MeV. Theo tiêu chuẩn của Viện Quốc gia Tiêu chuẩn và Công nghệ Hoa kỳ thì liều xạ cho phép từ 0.4 đến 100 kGy. Đối với bảng mỏng điện áp của dòng điện tử cao nhất là 1.5MeV đối với xử lý liên tục và 30MeV đối với dòng theo xung. Theo IAEA thì phạm vi cho phép là từ 0.1 đến 100 kGy (Joint FAO/IAEA/WHO, 1981).

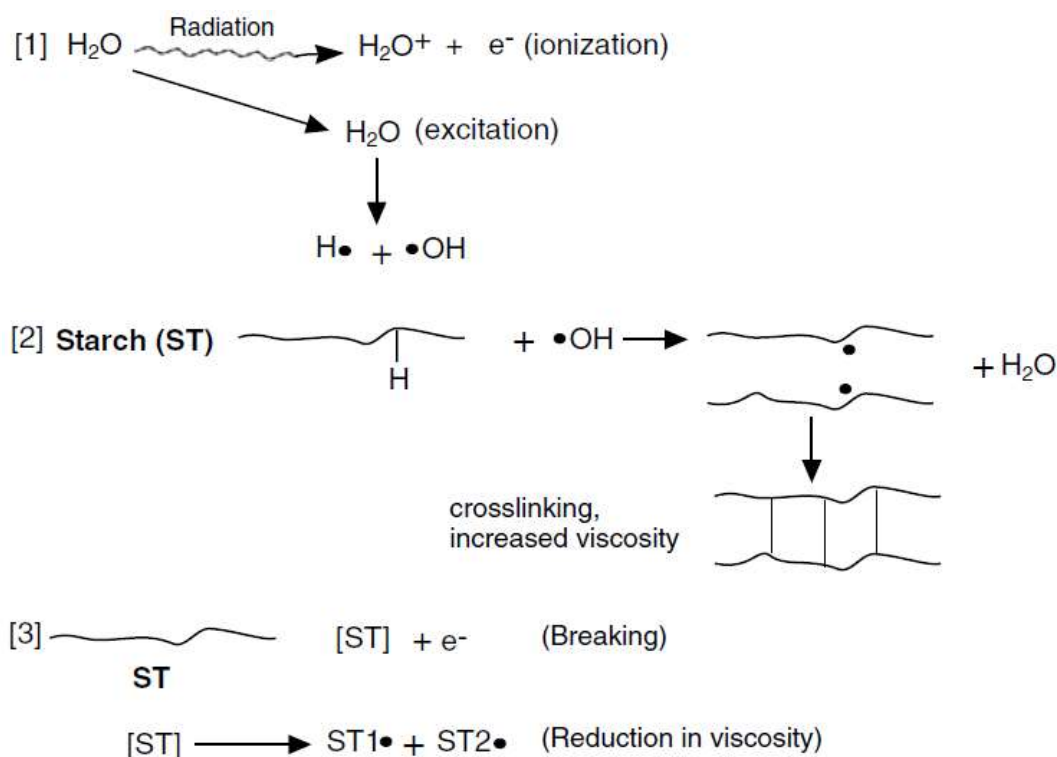
#### 1.5. Biến tính tinh bột bằng chiếu xạ

Theo dự kiến thì trong một tương lai gần đây, nhu cầu về tinh bột biến tính ngày một tăng, để đáp ứng nhu cầu ấy thì các phương pháp biến tính tinh bột ngày càng phát triển. Trong khi, việc biến tính bằng phương pháp hóa học làm cho người tiêu dùng e ngại thì phương pháp vật lý lại mang nhiều lợi thế hơn đặc biệt là phương pháp chiếu xạ. Phương pháp chiếu xạ rất khả thi về mặt kinh tế, an toàn và sở hữu nhiều lợi thế hơn các phương pháp khác để biến tính. Chiếu xạ tinh bột đem đến những tính chất mong

muốn như giảm độ nhớt, tăng độ hòa tan,...Hiện tại có các nghiên cứu liên quan đến việc biến tính tinh bột bằng phương pháp chiếu xạ dùng tia: UV, gamma, X, và sử dụng chùm điện tử EB. Trong đó, tia gamma được nghiên cứu nhiều hơn cả, tiếp đến là tia EB vì những lợi thế là có năng lượng đủ lớn để tác động đến cấu trúc, tính chất hóa lý của tinh bột.

Cả hai tia gamma và tia EB đều là dạng chiếu xạ ion hóa. Chiếu ion hóa cũng đã được chứng minh là làm giảm các yếu tố ảnh hưởng đến dinh dưỡng và cảm quan của sản phẩm sau khi xử lý. Xử lý chiếu xạ không gây ra sự gia tăng nhiệt độ đáng kể, yêu cầu mức độ chuẩn bị mẫu thấp, xử lý nhanh chóng và không có phụ thuộc vào bất kỳ loại chất xúc tác nào (Pimpa, B. *et al.*, 2007; Mirela Braşoveanu *et al.*, 2018).

Các ứng dụng bức xạ ion hóa (gamma và EB) được cho là có thể tạo ra gốc tự do có khả năng gây biến đổi phân tử và phân mảnh (fragmentation) tinh bột. Đây là phương pháp rất độc đáo có những cơ chế thay đổi tính chất hóa lý cơ bản trong thực phẩm giàu tinh bột như giảm độ nhớt và tăng độ hòa tan. Trong quá trình xử lý chiếu xạ (tia gamma), các liên kết glucoside (tại kết thúc các chuỗi) bị bẽ gãy trong hạt tinh bột, dẫn đến việc phân hủy (decomposition) các đại phân tử và tạo ra các phân tử với chuỗi có khối lượng phân tử nhỏ hơn. Các nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng, xử lý chiếu xạ làm thay đổi trật tự của hạt amylose và amylopectin trong hạt tinh bột. Xử lý chiếu xạ có thể thúc đẩy liên kết ngang trong tinh bột dưới điều kiện có oxy. Có một thực tế là quá trình xử lý chiếu xạ dẫn đến sự hình thành các sản phẩm radiolytic hoặc các sản phẩm thoái hóa do chiếu xạ (RDP). Một số radiolytic chiếm tỷ lệ lớn của phân tử carbohydrate là acid formic, acetaldehyde, and formaldehyde. Các sản phẩm cuối cùng radiolytic hình thành giống nhau không phân biệt nguồn tinh bột (bắp, khoai tây, lúa mì, hoặc gạo) (Rombo *et al.*, 2001; Pimpa, B. *et al.*, 2007; Mirela Braşoveanu *et al.*, 2018; Luís Fernando Polesi *et al.*, 2018).



**Hình 1. 4. Ảnh hưởng của chiếu xạ lên tinh bột**

(Rajeev Bhat, A.A. Karim, 2009)

Hình 1.4 cho thấy sự hình thành gốc tự do trong phân tử tinh bột sau khi tiếp xúc chiếu xạ. Quá trình chiếu xạ có khả năng tạo liên kết ngang trong mạng tinh bột. Phát hiện này có một lợi thế rất quan trọng trong việc thay đổi phương pháp tạo liên kết ngang từ nguồn gốc hóa học (như natri photphat, natri tripolyphosphate, epichlorohydrin, phosphoryl chloride, vinyl chloride) (Rajeev Bhat, A.A. Karim, 2009).

### 1.6. Các nghiên cứu trước đây

Có khá nhiều nghiên cứu trước đây đã khảo sát ảnh hưởng của chiếu xạ ion hóa gamma lên tính chất của nhiều loại tinh bột khác nhau. Theo nghiên cứu của Chung, H. J., & Liu, Q. (2009) khi xử lý tinh bột bắp bằng tia gamma ở liều chiếu từ 0-50kGy, hàm lượng carboxyl, mức độ đào thoát amylose (amylose leaching AML), tỉ lệ amylopectin mạch ngắn và nhiệt độ thoái hóa tăng theo liều chiếu; trong khi đó, mức độ trương phồng, hàm lượng amylose, tỉ lệ amylose mạch dài, độ kết tinh, độ nhớt, nhiệt độ hồ hóa, enthanpy thoái hóa lại giảm. Bên cạnh những tính chất hóa lý, nghiên

cứu của Rombo, G. O. *et al.* (2004) khi khảo sát ở các liều chiếu từ 0-40kGy với tốc độ xử lý là 0.5kGy/h trên bột bắp và đậu thì việc xử lý chiếu xạ gamma làm giảm độ tiêu hóa của của bột do sự hình thành các liên kết  $\beta(1-3)$  và  $\beta(1-4)$  trong tinh bột. Kết quả phân tích sắc ký cũng cho thấy khối lượng phân tử trung bình giảm khi tăng liều chiếu do sự giảm khối lượng phân tử amylopectin gây ra bởi quá trình khử nhánh từ đó làm tăng những sản phẩm mạch ngắn, thẳng.

Cũng có vài nghiên cứu đã sử dụng tia EB trong biến tính tinh bột. Pimpa, B. *et al.* (2007) khi xử lý EB trên tinh bột cao lương ở liều 0-30kGy đã cho thấy độ hòa tan tăng trong khi độ trương nở giảm. Màu đỏ, vàng và mức độ acid tự do tăng dần, cùng với độ nhớt intrinsic, khối lượng phân tử và mức độ polymer hóa tăng theo liều chiếu. Mirela Braşoveanu *et al.* (2018) cũng khẳng định điều đó, khi xử lý ở liều từ 0-50kGy mức độ acid tự do tăng, độ nhớt giảm. Trong khi đó, cấu trúc tinh thể của tinh bột sau khi xử lý không có thay đổi đáng kể, tính chất quang phổ có thay đổi nhỏ, đặc biệt là tại đỉnh của liên kết C-H và O-H cho thấy sự ổn định của các liên kết hydro liên và nội phân tử của cấu trúc tinh bột bắp đã bị ảnh hưởng bởi xử lý EB. Với liều xạ thấp hơn từ 0 – 4.4 kGy, khi tăng liều chiếu xạ gây ra sự giảm nhẹ nhiệt độ hồ hóa. Kết quả chụp SEM cho thấy việc hạt tinh bột xuất hiện vết nứt và trở nên nhám khi chiếu đến liều 4.4 kGy. Kết quả đo HPSEC cho thấy các phân tử tinh bột bị giảm khối lượng phân tử trung bình (Hu B. *et al.*, 2011).

Ở các nghiên cứu trên, thường sử dụng liều xạ cao hoặc chưa có sự đánh giá ảnh hưởng của chiếu xạ EB lên các tính chất tiêu hóa của tinh bột sau chiếu xạ. Vì thế, nghiên cứu của chúng tôi tập trung vào sự ảnh hưởng của chiếu xạ EB lên tính chất hóa lý, cấu trúc và tiêu hóa ở liều chiếu xạ thấp từ 0-7 kGy. Hơn nữa, mức liều xạ khảo sát của chúng tôi thấp hơn 10kGy, mức an toàn liều xạ cho tất cả thực phẩm.

### **1.7. Mục tiêu của nghiên cứu**

Trong nghiên cứu này, chúng tôi bước đầu đánh giá sự ảnh hưởng của liều xử lý EB lên sự thay đổi về cấu trúc, các tính chất hóa lý và độ tiêu hóa *in vitro* của tinh bột bắp, làm tiền đề cho việc xác định các thông số xử lý EB nhằm thu nhận các tính chất mong muốn của tinh bột trong sản xuất công nghiệp sau này.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.2. Tinh bột chiếu xạ EB

Tinh bột bắp (Roquette Riddhi Siddhi, Ấn Độ, độ ẩm đo được 7,74%) được cho vào túi polyethylene. Sau đó, mẫu được đem chiếu xạ bằng thiết bị UELR-10-15S2 (CORAD Services Ltd, St. Petersburg, Nga) trên băng tải với tốc độ 2 kGy/phút. Các mẫu được ký hiệu EB7, EB5, EB2.7, EB1, EB0 là các mẫu được chiếu xạ EB ở liều chiếu 7, 5, 2.7, 1.0 và 0 kGy.

Bảng 2.1. Các chỉ tiêu chất lượng của tinh bột bắp nguyên liệu \*

Chỉ tiêu	Thông số	Kiểm nghiệm
Độ hòa tan	Màu xanh được tạo thành với dung dịch Iodine	Tuân thủ
Độ ẩm	<12,0	11,0
Protein (% trên chất khô)	<0,50	0,32
Tinh bột(% w/w DB)	98<	98,88
Tro(% w/wDB)	<0,20	0,11
Độ hòa tan trong nước lạnh, % trên DB	<1,00	0,25
Free acidity,(ml 0.1N NaOH/100g)	<40	13,6
pH (10%)	4,50-7,00	5,46

\*số liệu của nhà cung cấp

Bảng 2.2. Các thông số chính của thiết bị chiếu xạ

Năng lượng, MeV	10
Công suất đỉnh, kW	15
Cường độ dòng, mA	0,15
Tần số, Hz	12,5-300
Chiều dài quét, mm, max	600
Tổng công suất, kW	110
Độ đồng đều liều theo chiều quét, %	+/-5
Độ ổn định năng lượng, %	+/-2,5
Độ ổn định công suất, %	+/-2,5

### 2.3. Hàm lượng acid tự do

Hàm lượng acid tự do (FA) được xác định theo phương pháp của [Sokhey and Chinnaswamy \(1993\)](#). Tinh bột (1,0 g) được huyền phù với nước cất (10 ml) đã được khử khí sau đó đun sôi trong 10 phút (khuấy trộn liên tục. Dung dịch tinh bột hồ hóa được để nguội về nhiệt độ phòng, sau đó được chuẩn độ với dung dịch 0,023 N NaOH. Trong đó: FA là acid tự do (ml); V là ml dung dịch NaOH 0,023N dùng để chuẩn độ 1,0 g tinh bột. FA được định nghĩa bằng số ml NaOH 0,1 N dùng để chuẩn độ về trung tính huyền phù 100g tinh bột trong nước.

$$FA = \frac{100 \times V \times 0.023}{0.1} \quad (2.1)$$

### 2.4. Màu sắc

Màu sắc của mẫu được xác định bằng máy đo màu Minolta-CR400 (Nhật) . Sự khác biệt về màu sắc được xác định theo công thức của [Mokrzycki and Tatol, 2011](#), được đối chiếu với màu trắng của tinh bột bắp chưa xử lý (L = 98,29; a = -2,45; b=4,74). L, a, b lần lượt biểu thị màu trắng/đen, màu đỏ/xanh lục và màu vàng/xanh dương. Từ đó tính sự khác biệt về màu sắc  $\Delta E$  bằng công thức:

$$\Delta E = \sqrt{(L_i - L_0)^2 + (a_i - a_0)^2 + (b_i - b_0)^2} \quad (2.2)$$

Trong đó,  $L_0$ ,  $a_0$ ,  $b_0$  lần lượt là các giá trị  $L$ ,  $a$ ,  $b$  của mẫu chưa xử lý EB0.

$L_i$ ,  $a_i$ ,  $b_i$  lần lượt là các giá trị  $L$ ,  $a$ ,  $b$  của các mẫu xử lý.

## 2.5. Độ hòa tan và độ trương nở

Độ hòa tan và độ trương nở được xác định theo phương pháp của [Schoch \(1964\)](#). Tinh bột được cân chính xác (2,0 g, khối lượng khô) vào ống ly tâm 250 ml đã được sấy khô. Thêm nước cất vào ống để tổng thể tích đạt được là 180 g. Sử dụng máy khuấy từ để tạo huyền phù tinh bột. Sau khi lấy ra khỏi máy khuấy, ống ngay lập tức được lắc liên tục ở bể ổn nhiệt  $85^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  lắc liên tục bằng máy lắc trong 30 phút. Ống ly tâm sau đó được lau khô và đặt lên bàn cân để tiếp tục thêm nước cất để đạt được tổng khối lượng là 200g. Sau khi được đóng nắp, ống được ly tâm ở  $1000 \times g$  trong 15 phút. Để đo độ hòa tan, lấy 50ml nước trên bề mặt chuyển vào đĩa petri đã sấy khô và sấy 24 giờ trong tủ sấy đối lưu  $105^{\circ}\text{C}$ , sau đó cân để xác định độ hòa tan.

Để đo độ trương nở, phần nổi trên bề mặt được lấy ra và loại bỏ cẩn thận. Phần lắng dạng paste được cân để cho khối lượng hạt tinh bột trương nở.

$$\%SB = \frac{\text{Khối lượng của tinh bột hòa tan}}{\text{Khối lượng của mẫu bột ở dạng khô}} \times 400 \quad (2.3)$$

$$SP = \frac{\text{Khối lượng của cặn Paste} \times 100}{\text{Khối lượng của mẫu ở dạng khô} \times (100 - \%SB)} \quad (2.4)$$

Trong đó, SB (Solubility): độ hòa tan; SP (Swelling Power): độ trương nở.



## 2.6. Độ nhớt và khối lượng phân tử trung bình

Độ nhớt nội tại ( $\eta_i$ , ml/g, intrinsic viscosity) là độ nhớt của mẫu được hòa tan trong dung dịch kiềm có mối liên hệ với cấu trúc, hình dạng, kích thước và khối lượng phân tử của phân tử tinh bột. Căn cứ vào độ nhớt nội tại, có thể ước tính được khối lượng phân tử trung bình ( $M_w$ ) của mẫu tinh bột. Một dãy dung dịch tinh bột (1,0 đến 6,0 mg/ml trong 1,0 M KOH) được chuẩn bị (Dokic et al., 2004; Harding, 1997). Các dung dịch này được đem xác định độ nhớt động học ( $\eta$ , m<sup>2</sup>/s, kinematic viscosity) bằng nhớt kế Oswald ( $\phi=0.3$  mm, Ref. No 509 03, Germany). Dung dịch tinh bột được giữ ở 30°C trong 30 phút trước khi đo. Nước cất được dùng làm dung dịch chuẩn. Độ nhớt động học được xác định theo công thức:  $\eta=0,004 \times t - (0,12/t)$  ([www.si-analytics.com](http://www.si-analytics.com)). Tỉ trọng ( $\rho$ ) của dung dịch tinh bột được xác định theo công thức:  $\rho=m/V$ ; m là khối lượng mẫu (g), V là thể tích của mẫu (ml). Độ nhớt tương đối ( $\eta_{rel}$ , relative viscosity) được tính toán theo công thức:  $\eta_{rel}=\eta/\eta_0=t/t_0 \times \rho/\rho_0$ ,  $\eta_0$  là độ nhớt động học của nước cất (m<sup>2</sup>/s), t là thời gian chảy (s) của dung dịch tinh bột trong nhớt kế,  $t_0$  là thời gian chảy (s) của nước trong nhớt kế,  $\rho$  là độ nhớt của mẫu ở 30°C,  $\rho_0$  là độ nhớt của nước ở 30°C. Độ nhớt reduced ( $\eta_{red}$ , ml/g, reduced viscosity) được tính toán theo công thức:  $\eta_{red}=(\eta_{rel}-1)/c$ ; c là nồng độ của mẫu. Độ nhớt nội tại ( $\eta_i$ , ml/g, intrinsic viscosity) của mẫu được tính theo công thức:  $\eta_i=\lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red}$ . Theo phương trình Mark-Houwink, khối lượng phân tử trung bình của mẫu được tính theo công thức:  $\eta_i=KM_w^a$ , trong đó  $K=1,18 \times 10^{-5}$ ,  $a=0,89$ ,  $M_w$  (g/mol) là khối lượng phân tử trung bình (Cowie, 1960).

## 2.7. Khả năng tạo phức với iodine và hàm lượng amylose biểu kiến

Một trong những cách ước tính gián tiếp tỉ lệ amylose và amylopectin là thông qua phản ứng tạo màu của phức tinh bột-iodine. Dựa vào phương pháp của Zhu et al. (2008), 100,0 $\pm$ 0,1 mg tinh bột khô và chuyển vào bình định mức 100ml. Ethanol (1ml) được thêm vào để làm ướt mẫu. Kế tiếp thêm 10ml dung dịch 1N NaOH, lắc nhẹ để hòa tan mẫu và để yên khoảng 1 giờ cho đến khi dung dịch hoàn toàn trong. Sau đó định mức đến 100ml bằng nước cất. Lấy ra 2ml dung dịch này cho bình định mức 100ml

khác. Nước cất (50ml) và 2 giọt chỉ thị phenolphthalein được thêm vào. Dùng acid HCl 0,1N để chuẩn độ dung dịch đến trung tính. Sau đó, 2 ml dung dịch 0,2% iodine (2,0g KI và 0,2g iodine pha loãng 100ml với nước cất) được bổ sung. Thêm nước cất vào cho đủ 100ml thể tích bình. Dung dịch cuối cùng này cho phép nghỉ 30 phút để tạo màu trộn vện và độ hấp thu của mẫu được đo bằng máy UV-Vis (UV-2401PC, Shimadzu, Nhật Bản) dãy bước sóng từ 400 đến 800nm, khoảng cách 2 nm.

$$\text{Amylose (\%)} = \frac{\text{ABS}_{620} - \text{ABS}_{510} + 0.0542}{0.3995} \quad (R^2 = 0.9999) \quad (2.6)$$

Trong đó,  $\text{ABS}_{620}$  ,  $\text{ABS}_{510}$  lần lượt là độ hấp thu của mẫu ở bước sóng đỉnh 620 và bước sóng 510.

## 2.8. Sự có mặt của các nhóm chức hóa học bằng phổ FTIR

Các mẫu tinh bột đã chiếu xạ sẽ được đo phổ hồng ngoại FTIR bằng thiết bị đo phổ hồng ngoại FTIR-8400S, Shimadzu, Nhật Bản ở số sóng từ  $400 \text{ cm}^{-1}$  –  $4000 \text{ cm}^{-1}$  (Kizil *et al.*, 2002), tại trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ, tên viết tắt là VINAGAMMA. Đầu tiên cân 0,2 g KBr và 2,0 mg tinh bột, trộn đều, nghiền mịn. Sau đó để mẫu vào bộ nén mẫu, nén mẫu với áp suất 8 bar trong 10 phút. Mẫu sau khi nén có hình dạng dẹt, trong suốt rồi tiến hành đo mẫu trong máy FT-IR.

## 2.9. Kiểu hình tinh thể nhiễu xạ tia X và mức độ tinh thể tương đối

Mẫu tinh bột trước và sau xử lý EB được đo tán xạ tia X (XRD) bằng phương pháp bột. Thiết bị dùng để đo XRD là máy tán xạ tia X của trung tâm MANAR- Đại học Quốc gia Hồ Chí Minh (Model D5005, Bruker, Karlsruhe, Đức). Thông số để đo XRD cơ bản gồm: 40 kV và 40 mA với bức xạ  $\alpha$  bằng Cu-K bước sóng 0,15406 nm, góc quét từ  $3$  -  $30^\circ$ . Mức độ tinh thể tương đối (DRC) được tính toán theo công thức (Nara and Komiya, 1983):  $\text{DRC} = (\text{A}_c + \text{A}_a) / \text{A}_c$ , trong đó  $\text{A}_c$  là diện tích của vùng tinh thể,  $\text{A}_a$  là diện tích của vùng vô định hình (diện tích được tính toán bằng phần mềm

Origin 7.5, OriginLab Corporation, Northampton, Mass, U.S.A). Mẫu vô định hình được chuẩn bị bằng cách autoclave (121°C, 30 phút) huyền phù 2% mẫu tinh bột. Sau đó, mẫu được sấy khô bằng thiết bị sấy thăng hoa.

## 2.10. Độ tiêu hóa in vitro

Độ tiêu hóa của tinh bột bắp được xác định dựa trên phương pháp của [Englyst et al. \(1992\)](#) và được hiệu chỉnh bởi [Shin et al. \(2007\)](#). Cách tiến hành thí nghiệm gồm: cân 2,0g pancreatin (P7545, 8×USP/g của hãng Sigma–Aldrich) hòa tan trong 24 ml nước cất và khuấy bằng khuấy từ trong 10 phút. Sau đó, ly tâm 1500×g trong 10 phút. Lấy 20 ml dịch nổi sau ly tâm pha với hỗn hợp gồm 3,6 ml nước cất và 0,4 ml amyloglucosidase (AMG 300L, hoạt độ 300 U/ml của hãng Novozymes, Đan Mạch). Dung dịch enzyme này được đặt trong bể điều nhiệt ở 37°C trong 10 phút.

Mẫu tinh bột được cân chính xác 30 mg cho vào ống eppendorf thể tích 2 ml với ba hạt bi thủy tinh. Sau khi thêm 0,75mL dung dịch đệm natri acetate (0,1M, pH 5,2), eppendorf được đặt trong bể ổn nhiệt 37°C trong 15 phút. Thêm 0,75ml dung dịch enzyme đã chuẩn bị sẵn vào và lắc liên tục. Phản ứng sẽ dừng lại ở 10 phút và 240 phút bằng cách đun cách thủy trong 10 phút và để nguội về nhiệt độ phòng. Ly tâm dung dịch sau cùng với 5000×g trong 10 phút để thu dịch nổi.

Xác định nồng độ glucose của dịch nổi thu được bằng bộ kit GOD-POD (BCS, Anyang, Hàn Quốc). RDS và SDS được xác định dựa vào hàm lượng đường sinh ra sau 10 và 240 phút enzyme xúc tác thủy phân tinh bột. RS là phần còn lại không tiêu hóa sau 240 phút.

### **2.11. Phương pháp thống kê**

Tất cả số liệu được thể hiện ở dạng trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (n=3). Số liệu được đánh giá sự khác biệt bằng Anova một yếu tố ( $P < 0,05$ , Duncan's multiple range test) bằng phần mềm SPSS (Released 2008, SPSS Statistics for Windows, Version 17.0, Chicago: SPSS Inc.).

### 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.2. Hàm lượng acid tự do và amylose biểu kiến

Việc tăng liều xạ làm giảm pH của mẫu, đồng thời làm tăng hàm lượng acid tự do (FA) (Bảng 3.1). Rõ ràng, dưới tác động của quá trình chiếu xạ electron beam (EB), các phân tử tinh bột biến đổi dẫn đến sự hình thành các nhóm –COOH (Pimpa et al., 2007). Hơn thế, sự phân cắt các nhánh bên của phân tử amylopectin tạo thành nhiều phân tử tinh bột mạch thẳng. Tiếp theo đó, sự tạo thành các phức giữa các phân tử mạch thẳng nói trên với các phân tử iodine tăng lên dẫn đến việc gia tăng của hàm lượng amylose biểu kiến (AM) (Bảng 3.1). Khi quá trình biến đổi diễn ra mạnh mẽ, dưới tác động của liều xạ lớn, các phân tử mạch thẳng bị bẻ gãy thành các phân tử nhỏ hơn. Quá trình depolymer hóa này của các phân tử amylose mạch thẳng làm cho màu của phức tinh bột–iodine thay đổi từ tím–xanh (DP 39–40) đến nâu (DP 21–24). Khi DP<20, các phân tử tinh bột mạch thẳng không thể tạo phức với iodine (Cui, 2005). Cơ chế này có thể giải thích cho việc giá trị AM giảm ở các mẫu được chiếu xạ ở liều  $\geq 5,0$  kGy so với các mẫu khác có liều chiếu xạ thấp hơn.

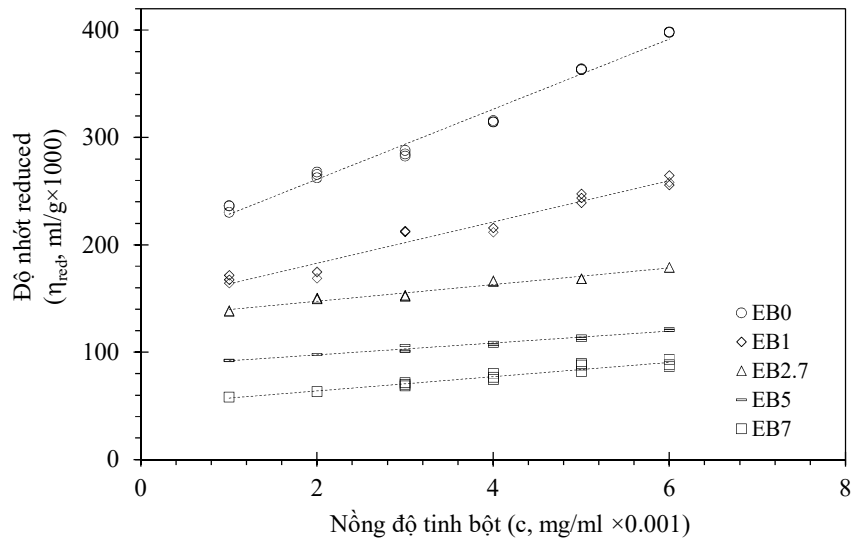
**Bảng 3. 1. Giá trị pH, hàm lượng acid tự do (FA, ml) và hàm lượng amylose biểu kiến (AM, %)**

Tính chất	Mẫu tinh bột				
	EB0	EB1	EB2.7	EB5	EB7
pH	6.7 ± 0.0 <sup>a</sup>	6.5 ± 0.0 <sup>b</sup>	6.2 ± 0.0 <sup>c</sup>	5.8 ± 0.1 <sup>d</sup>	5.4 ± 0.0 <sup>e</sup>
FA	9.58 ± 0.66 <sup>e</sup>	11.50 ± 0.00 <sup>d</sup>	12.65 ± 0.00 <sup>c</sup>	14.57 ± 0.66 <sup>b</sup>	16.87 ± 0.66 <sup>a</sup>
AM	24.3 ± 0.2 <sup>b</sup>	24.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	28.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	24.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	21.9 ± 0.3 <sup>c</sup>

Tất cả các giá trị thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ viết lên trên ở mỗi hàng cho biết sự khác biệt về mặt thống kê ( $P < 0.05$ ).

### 3.3. Độ nhớt và khối lượng phân tử trung bình

Hình 3.1 cho thấy độ nhớt reduced ( $\eta_{red}$ ) của các mẫu ở các liều chiếu xạ khác nhau. Độ nhớt reduce tỉ lệ nghịch với liều chiếu xạ EB. Bên cạnh đó, nồng độ dung dịch tinh bột càng cao thì độ nhớt reduced của mẫu càng cao. Độ nhớt nội tại ( $\eta_i$ ) được tính toán theo đường hồi qui ( $R^2 > 0.95$  của độ nhớt reduced (Bảng 3.2). Khi liều chiếu xạ tăng (từ 0 đến 7,0 kGy) sẽ làm giảm cả độ nhớt nội tại và khối lượng phân tử trung bình ( $M_w$ ) của tinh bột. Rõ ràng, đây là bằng chứng cho thấy các biến đổi phân tử tinh bột thành các phân tử nhỏ hơn dưới tác dụng của xử lý EB (Pimpa et al., 2007).



Hình 3.1. Độ nhớt reduced của các mẫu tinh bột ở các liều chiếu xạ EB khác nhau

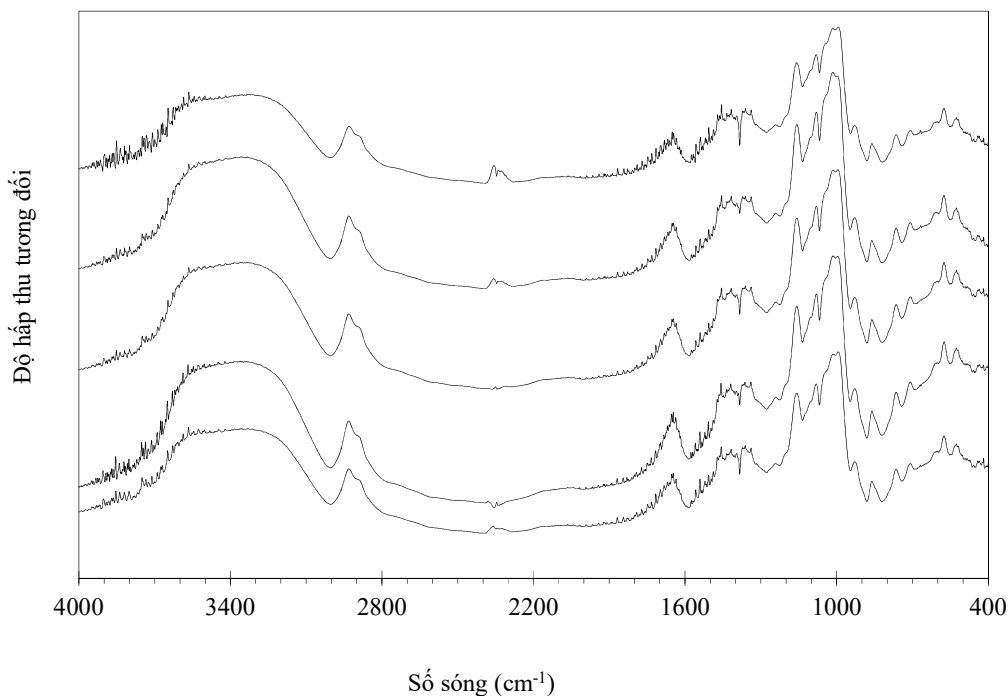
Bảng 3. 2. Độ nhớt nội tại và khối lượng phân tử trung bình

Tính chất	Mẫu tinh bột				
	EB0	EB1	EB2.7	EB5	EB7
$a^*$	32.666	19.233	7.7616	5.5294	6.6464
$b^*$ ( $\eta_i$ )	195.89 <sup>a</sup>	144.47 <sup>b</sup>	132.05 <sup>c</sup>	86.558 <sup>d</sup>	50.723 <sup>e</sup>
$R^2$	0.9821	0.9515	0.9703	0.9704	0.958
$M_w$	7.33 <sup>a</sup>	5.21 <sup>b</sup>	4.71 <sup>c</sup>	2.93 <sup>d</sup>	1.61 <sup>e</sup>

$a^*$ ,  $b^*$ : các giá trị của đường thẳng hồi qui ( $y = a^*x + b^*$ ) theo hình 1;  $R^2$ : giá trị  $R^2$  của đường hồi qui;  $M_w$  ( $\times 10^5$  g/mol): khối lượng phân tử trung bình;  $\eta_i$ : độ nhớt nội tại. Tất cả các giá trị thể hiện dưới dạng trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn. Các chữ viết lên trên ở mỗi hàng cho biết sự khác biệt về mặt thống kê ( $P < 0.05$ ).

### 3.4. Sự có mặt của các nhóm chức hóa học bằng phổ FTIR

FTIR là công cụ hữu ích để mô tả sự thay đổi hóa học trong mẫu tinh bột. Hình 3.2 cho thấy không có sự khác biệt đáng kể trong phổ FTIR giữa các mẫu; không có sự hiện diện hay mất đi của các đỉnh trong phổ FTIR của các mẫu so với mẫu EB0 (tinh bột thô). Điều này cho thấy rằng không có sự hình thành hay mất đi các nhóm chức hóa học trong các mẫu tinh bột xử lý EB. Tuy nhiên, độ hấp thụ của các đỉnh có sự khác biệt cho thấy có sự thay đổi về lượng trong cấu trúc hóa học. Phổ FTIR của tinh bột chiếu xạ được chia làm bốn vùng đại diện đặc trưng (Kizil et al., 2002): (i)  $<800\text{ cm}^{-1}$ , (ii)  $800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ , (iii)  $2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$  (vùng kéo dẫn C-H), (iv)  $3000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  (vùng kéo dẫn O-H).



**Hình 3.2. Phổ FTIR của các mẫu tinh bột**

Vùng thứ nhất (i) cho thấy các dao động phức tạp gây ra bởi khung của vòng glucose pyranose. Vùng thứ 2 (ii), bước sóng  $936\text{ cm}^{-1}$  gây ra bởi các liên kết alpha 1,4-glycosides của tinh bột. Vùng  $900\text{-}950\text{ cm}^{-1}$  gây ra bởi các dao động của các liên kết glycosides ( $\text{C}_1\text{-O}$  và  $\text{C}_4\text{-O}$ ). Glucose trong dung dịch khi bị chiếu xạ có thể bị phá vỡ cấu trúc vòng pyranose và tạo thành các gốc tự do. Tuy nhiên, sự phá hủy này không

xảy ra ở tinh bột hay các polysaccharide khác. Độ hấp thụ ở đỉnh  $1047\text{ cm}^{-1}$  được gây ra bởi các vùng có cấu trúc trật tự; trong khi đó, vùng  $1022\text{ cm}^{-1}$  và  $1035\text{ cm}^{-1}$  được gây ra bởi các vùng vô định hình trong tinh bột. Do đó, tỉ lệ (R) giữa cường độ các đỉnh  $1047/1022\text{ cm}^{-1}$  và  $1047/1035\text{ cm}^{-1}$  biểu thị cho tỉ lệ của vùng có trật tự (alpha helix) với vùng vô định hình của tinh bột (Van Soest, 1995). Trong nghiên cứu này, giá trị R nằm trong khoảng 0.93–0.94 và 0.97–0.98 tương ứng với hai tỉ lệ trên. Như vậy, chiếu xạ EB không làm thay đổi đáng kể tỉ lệ vùng có trật tự/vùng vô định hình của tinh bột. Brasoveanu *et al.* (2013) phát biểu rằng, trong quá trình chiếu xạ EB, các tinh thể lớn có thể bị bể ra thành các tinh thể nhỏ hơn; đó là lý do giải thích cho giá trị R không thay đổi. Các thay đổi này đã được quan sát thấy ở tinh bột đậu đũa (cowpea) ở liều chiếu nhỏ hơn 50 kGy. Vùng thứ ba (iii) có thể được dùng để phát hiện ra tinh bột đã qua xử lý chiếu xạ. Nước qua quá trình xạ ly hình thành gốc tự do  $\bullet\text{OH}$ ; gốc tự do này tấn công liên kết C-H làm giải phóng nguyên tử hydro. Phản ứng này dễ dàng xảy ra hơn ở tinh bột dạng lỏng. Trong Hình 3.2, không có sự khác biệt đáng kể trong vùng ba giữa các mẫu. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy không có nhiều sự hiện diện của các gốc tự do (nguyên tử hydro,  $\bullet\text{OH}$ , ...) được tạo thành trong suốt quá trình xạ ly của phần nước liên kết với tinh bột. Nếu lượng gốc tự do tạo thành không đủ nhiều thì các thay đổi vi cấu trúc từ việc chiếu xạ tinh bột không thể nhận thấy được (Kizil *et al.*, 2002). Trong nghiên cứu này, với các mẫu tinh bột không ở dạng lỏng, các thay đổi trong phổ FTIR không được nhận thấy (Kizil *et al.*, 2002).



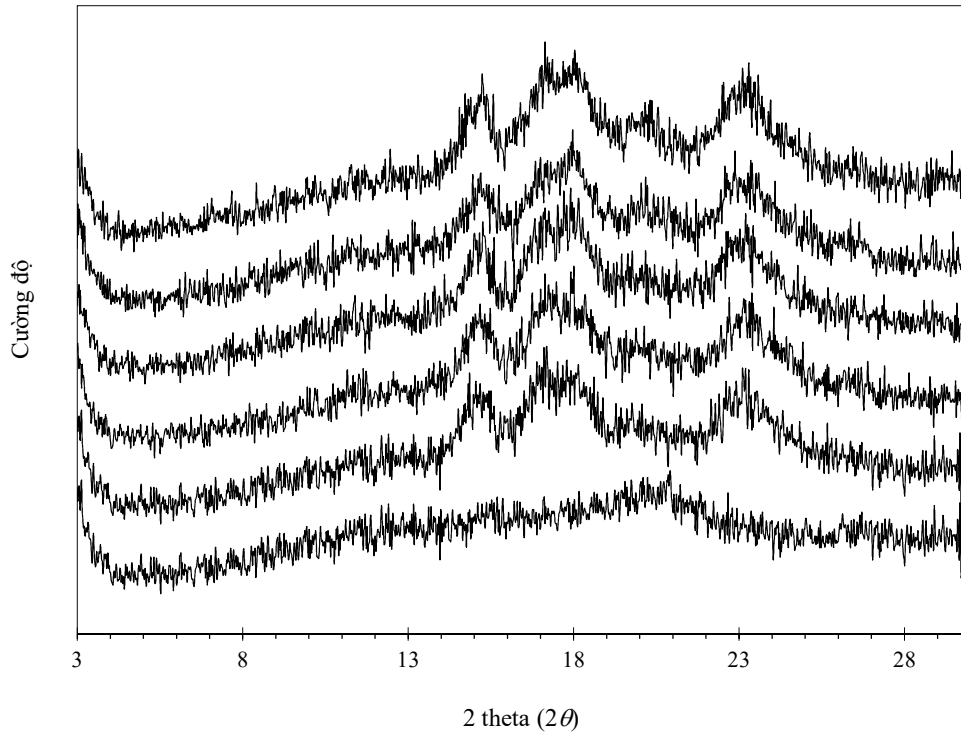
### 3.5. Kiểu hình tinh thể nhiễu xạ tia X và mức độ tinh thể tương đối

Từ giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) cho thấy, kiểu hình tinh thể ở tất cả các mẫu là giống nhau (Hình 3.3). Không có sự hình thành hay mất đi của bất kỳ đỉnh nào. Các đỉnh tại vị trí 15,2°; 17,2°; 18°; 20,2°; 23° (2  $\theta$ ) đặc trưng cho kiểu hình tinh thể loại A (Cui, 2005). Một nghiên cứu trước cho thấy XRD của tinh bột bắp được chiếu xạ gamma không bị thay đổi dưới liều chiếu 500 kGy (Liu *et al.*, 2012). Kong *et al.* (2016) đã cho thấy rằng với liều xạ <7 kGy có thể làm tăng độ kết tinh (DRC) của tinh bột. Các nhà khoa học đã chứng minh có sự hình thành liên kết chéo trong mạch tinh bột từ đó làm tăng DRC (Braşoveanu and Nemţanu, 2018). Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác lại cho thấy liều xạ lên đến 50 kGy không làm thay đổi DRC. Trong nghiên cứu này, độ kết tinh (DRC) tăng theo liều chiếu EB (Bảng 3.3). Như vậy, sự thay đổi về giá trị DRC không chỉ phụ thuộc vào liều xạ mà còn phụ thuộc các yếu tố khác.

**Bảng 3. 3. Mức độ tinh thể tương đối (DRC, %)**

Tính chất	Mẫu tinh bột				
	EB0	EB1	EB2.7	EB5	EB7
DRC	26.29 ± 1.16 <sup>c</sup>	28.22 ± 1.15 <sup>d</sup>	32.26 ± 0.27 <sup>c</sup>	34.66 ± 0.57 <sup>b</sup>	38.96 ± 0.08 <sup>a</sup>

Tất cả các giá trị thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ viết lên trên ở mỗi hàng cho biết sự khác biệt về mặt thống kê ( $P < 0.05$ ).



**Hình 3.3** Giảm độ nhiễu xạ tia X  
(từ trên xuống dưới: EB7, EB5, EB2.7, EB1, EB0 và mẫu vô định hình)

### 3.6. Màu sắc

Màu sắc của tinh bột có một số thay đổi sau khi chiếu xạ EB (Bảng 3.4). Các giá trị *a* và *b* tăng nhẹ cho thấy rằng quá trình chiếu xạ làm mẫu bị vàng và đỏ hơn mẫu tinh bột thô. Tuy nhiên, giá trị *L* giảm cho thấy màu sắc của sản phẩm bị sậm hơn. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu chiếu xạ EB trên tinh bột cao lương. Kang *et al.* (1999) cũng cho thấy không có sự thay đổi đáng kể về màu sắc của tinh bột bắp sau khi chiếu xạ mặc dù giá trị *b* có sự thay đổi. Như vậy, sự thay đổi màu sắc của tinh bột sau chiếu xạ phụ thuộc vào liều chiếu và loại tinh bột. Sự thay đổi về màu sắc có thể là do quá trình caramel hóa của các monosaccharides được tạo thành từ sự phân hủy các phân tử tinh bột trong quá trình chiếu xạ (Greenwood and Mackenzie, 1963). Hơn thế nữa, sự khác biệt về màu sắc ( $\Delta E < 1,0$ ) của các mẫu EB1, EB2.47 và EB5 cho thấy không thể nhận biết bằng mắt thường. Ngược lại, ở liều xạ 7,0 kGy, sự khác biệt này ở mức  $1 < \Delta E < 2$  cho thấy chỉ có những người có kinh nghiệm mới có thể xác định được (Mokrzycki and Tatol, 2011).

**Bảng 3. 4. Các thông số màu sắc**

Tính chất	Mẫu tinh bột				
	EB0	EB1	EB2.7	EB5	EB7
<b>L</b>	98.29 ± 1.2 <sup>a</sup>	98.26 ± 0.5 <sup>a</sup>	98.05 ± 1.0 <sup>a</sup>	97.94 ± 2.1 <sup>a</sup>	97.65 ± 2.0 <sup>a</sup>
<b>a</b>	-2.45 ± 0.00 <sup>a</sup>	-2.36 ± 0.01 <sup>a</sup>	-2.29 ± 0.01 <sup>a</sup>	-2.28 ± 0.00 <sup>a</sup>	-2.27 ± 0.00 <sup>a</sup>
<b>b</b>	4.74 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.92 ± 0.00 <sup>a</sup>	5.16 ± 0.00 <sup>b</sup>	5.56 ± 0.01 <sup>ab</sup>	6.03 ± 0.02 <sup>b</sup>
<b>ΔE</b>	0.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.50 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>d</sup>	1.45 ± 0.00 <sup>e</sup>

*L, a, b: màu trắng/đen, đỏ/xanh lá, vàng/xanh da trời; ΔE: sự khác biệt màu sắc của mẫu so với mẫu EB0. Tất cả các giá trị thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ viết lên trên ở mỗi hàng cho biết sự khác biệt về mặt thống kê ( $P < 0.05$ ).*

### 3.7. Độ hòa tan và độ trương nở

Liều chiếu xạ EB càng cao thì độ hòa tan (SB) càng cao trong khi độ trương nở (SP) càng giảm tương ứng (Bảng 3.5). Sự trương nở bắt đầu diễn ra ở vùng vô định hình vùng tinh thể trung gian của hạt tinh bột tạo sức ép lên vùng tinh thể kế bên và làm biến dạng chúng. Khi tiếp tục gia nhiệt sẽ làm mất đi cấu trúc alpha-helix và làm phá vỡ vùng tinh thể. Như vậy, các mạch nhánh của amylopectin bị hydrate hóa và trương phồng ngay sau đó dẫn đến phá vỡ vùng tinh thể. Các phân tử tinh bột không nằm ở dạng duỗi thẳng mà nằm ở dạng cấu trúc cuộn xoắn ngẫu nhiên (French, 1984). Các nghiên cứu trước đây cho thấy trong quá trình chiếu xạ, amylose và/hoặc amylopectin bị phân hủy một phần ở vùng vô định hình dẫn đến làm giảm độ trương nở và tăng độ hòa tan (Radley, 1960; Duarte and Rupnow, 1994).

**Bảng 3. 5. Độ hòa tan và trương nở**

Tính chất	Mẫu tinh bột				
	EB0	EB1	EB2.7	EB5	EB7
SB	7.2 ± 0.8 <sup>d</sup>	10.4 ± 0.8 <sup>c</sup>	12.4 ± 1.4 <sup>bc</sup>	13.1 ± 2.6 <sup>b</sup>	22.0 ± 1.6 <sup>a</sup>
SP	10.8 ± 1.4 <sup>a</sup>	9.7 ± 0.7 <sup>b</sup>	8.6 ± 0.2 <sup>c</sup>	7.4 ± 1.1 <sup>d</sup>	6.9 ± 1.2 <sup>e</sup>

*SB (%): độ hòa tan; SP (%): độ trương nở. Tất cả các giá trị thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ viết lên trên ở mỗi hàng cho biết sự khác biệt về mặt thống kê ( $P < 0.05$ ).*

### 3.8. Độ tiêu hóa *in vitro*

Độ tiêu hóa *in vitro* của tinh bột bắp chiếu xạ EB được trình bày ở [Bảng 3.6](#). Phân đoạn tinh bột tiêu hóa nhanh (RDS) hầu như không thay đổi đáng kể khi chiếu xạ trong khoảng 0–7 kGy. Ở liều xạ 1,0 kGy, phân đoạn tiêu hóa chậm (SDS) giảm trong khi phân đoạn tinh bột trơ (RS) tăng so với mẫu EB0. Nhưng ở liều xạ cao hơn, từ 2.7 đến 7 kGy, RS bị chuyển dần sang SDS.

**Bảng 3. 6. Độ tiêu hóa *in vitro***

Tính chất	Mẫu tinh bột				
	EB0	EB1	EB2.7	EB5	EB7
RDS	2.45 ± 0.36 <sup>b</sup>	2.55 ± 0.20 <sup>b</sup>	2.70 ± 0.32 <sup>b</sup>	2.58 ± 0.13 <sup>b</sup>	3.47 ± 0.41 <sup>a</sup>
SDS	64.57 ± 5.42 <sup>b</sup>	55.65 ± 2.34 <sup>c</sup>	64.33 ± 3.58 <sup>b</sup>	68.45 ± 5.34 <sup>b</sup>	74.01 ± 4.78 <sup>a</sup>
RS	32.97 ± 5.42 <sup>b</sup>	41.79 ± 2.34 <sup>a</sup>	33.08 ± 3.58 <sup>b</sup>	28.85 ± 5.34 <sup>b</sup>	22.52 ± 4.78 <sup>c</sup>

RDS: tỉ lệ (%) phân đoạn tinh bột tiêu hóa nhanh ; SDS: tỉ lệ (%) phân đoạn tinh bột tiêu hóa chậm; RS: tỉ lệ (%) phân đoạn tinh bột trơ. Tất cả các giá trị thể hiện dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn. Các chữ viết lên trên ở mỗi hàng cho biết sự khác biệt về mặt thống kê ( $P < 0.05$ ).

SDS đã được chứng minh là có khả năng kiểm soát mức glucose huyết, giảm nguy cơ các bệnh tim mạch và đái tháo đường, giảm nguy cơ ung thư ruột kết và [ung thư vú \(Jenkins et al., 1988\)](#). Nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh độ tiêu hóa có thể bị thay đổi nhờ quá trình chiếu xạ ([Polesi et al., 2018](#)). Căn cứ trên các số liệu từ nghiên cứu này, cho thấy có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến tinh bột được chiếu xạ EB: (i) depolymer hóa các phân tử tinh bột ([Pimpa et al., 2007](#)), (ii) sự hình thành các liên kết ngang từ đó làm tăng mức độ tinh thể ([Braşoveanu and Nemţanu, 2018](#)), và (iii) sự phá vỡ các tinh thể lớn thành các tinh thể nhỏ hơn ([Braşoveanu et al., 2013](#)). Sự gia tăng RDS có thể là kết quả của quá trình depolymer hóa tạo thành các phân tử tinh bột nhỏ hơn dễ dàng bị tấn công bởi các enzyme tiêu hóa. Sự tạo thành các liên kết ngang lại giảm khả năng bị tấn công bởi các enzyme này từ đó làm giảm độ tiêu hóa. Ngoài ra, việc phá vỡ các tinh thể lớn có liên quan đến việc giảm phân đoạn RS ([Polesi et al., 2018](#)). Do vậy, sự kết hợp của tất cả các yếu tố kể trên có thể dẫn đến sự tăng hoặc giảm về độ tiêu hóa tùy thuộc yếu tố nào chiếm ưu thế hơn.

#### **4. KẾT LUẬN**

Sau quá trình chiếu xạ EB, có nhiều sự thay đổi về cấu trúc, các tính chất hóa-lý và độ tiêu hóa của tinh bột bắp. Liều xạ là một yếu tố quan trọng gây các ảnh hưởng đáng kể lên các tính chất kể trên. Với mỗi liều xạ cụ thể sẽ có một yếu tố đóng vai trò chính làm thay đổi các tính chất của tinh bột. Rõ ràng, tinh bột được xử lý EB có được nhiều thuộc tính tốt để có thể áp dụng trong sản xuất công nghiệp như độ nhớt thấp, độ hòa tan cao hơn so với tinh bột thô. Ngoài ra, hàm lượng cao của SDS của tinh bột EB giúp tinh bột này có nhiều ích lợi cho sức khỏe người tiêu dùng.

## 5. ĐỀ XUẤT

Căn cứ trên các kết quả đạt được, chúng tôi dự kiến thực hiện tiếp các nghiên cứu và đánh giá sau:

- + Đánh giá độ tiêu hóa *in vivo* trên động vật thử nghiệm để khẳng định giá trị về độ tiêu hóa, khả năng gây ảnh hưởng đến đường huyết, khả năng ảnh hưởng tích cực đến thừa cân béo phì, khả năng gây ảnh hưởng đến chuyển hóa lipid, khả năng phòng ngừa bệnh đái tháo đường loại 2 và phòng ngừa các bệnh về tim mạch.
- + Thử nghiệm chiếu xạ EB trên các loại tinh bột khác: sắn, gạo, khoai tây...
- + Sử dụng các công cụ đo hiện đại để xác nhận trực tiếp sự hiện diện của các liên kết ngang hình thành sau quá trình chiếu xạ.

## 6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ann-Charlotte Eliasson. (2006). Carbohydrate in Food. Second Edition. CRC Press. Taylor & Francis Group. US
2. Brasoveanu, M. (2013). Electron-beam processed corn starch: Evaluation of physicochemical and structural properties and technical- Economic aspects of the processing. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 30(4), pp. 847–856.
3. Chung H.J., & Liu Q. (2009). Effect of gamma irradiation on molecular structure and physicochemical properties of corn starch. *Journal of Food Science*, 74(5), pp 353–361.
4. Cowie, J.M.G. (1961). Studies on amylose and its derivatives. Part I. Molecular size and configuration of amylose in various solvents. *Macromolecular Chemistry*, 42, pp. 230-247.
5. Duartz, P.R. and Rupnow, J.H. (1994). Gamma-irradiated dry bean (*Phaseolus vulgaris*) starch: physico-chemical properties. *Journal of Food Science*, 59(4), pp. 839-843.
6. Englyst, H.N.; Kingman, S.M. and Cummings, J.H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, pp. S33-S50.
7. French, D. (1984). Organization of starch granules. In: *Starch: chemistry and technology*. London. Academic press Inc., pp. 183-247.
8. Greenwood, C.T. and Mackenzie, C. (1963). The irradiation of the starch. Part I: The properties of potato starch and its components after irradiation with high energy electron. *Die Starke*, 15, pp. 359-363.
9. Harding, S. E. (1997). The intrinsic viscosity of biological macromolecules. Progress in measurement, interpretation and application to structure in dilute solution. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, 68, pp. 207-262.
10. Hu B., Huang M., Yin S., Zi M., & Wen Q. (2011). Effects of electron-beam irradiation on physicochemical properties of starches separated from stored wheat. *Starch/Staerke*, 63(3), pp121–127



11. Jenkins, D.J.A.; Wesson V.; Wolever T.M.S.; Jenkins A.L.; Kalmusky J.; Guidici S.; Csima A.; Josse R.G. and Wong G.S. (1988). Wholemeal versus wholegrain breads - Proportion of whole or cracked grain and the glyceimic response. *British Medical Journal*, 297, pp. 958-960.
12. Jeroen J.G. Van Soest; Hubertus Tournois; Dick De Wit and Johannes F.G. Vliegthart. (1995). Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 279: pp. 201-214.
13. Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee on the Technical Basis for Legislation on Irradiated Food. (1981). Wholesomeness of irradiated food, WHO technical report series 659.
14. Kang, I.J.; Byun, M.W.; Yook, H.S; Bae, C.H.; Lee, H.S.; Kwon, J.H. and Chung, C.K. (1999). Production of modified starches by gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 54, pp. 425-430.
15. Kizil, R.; Irudayaraj, J. and Seetharaman K. (2002). Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), pp. 3912-3918.
16. Kong, X.; Zhou, X.; Sui ,Z. and Bao J. (2016). Effects of gamma irradiation on physicochemical properties of native and acetylated wheat starches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, pp. 1141-1150.
17. Krystyna Cieřła; Fleming Hoffmann Larsen and Katarzyna Mroczko. (2010). Studies of starch radiolysis occurring under gamma irradiation applying UV-Vis , FTIR and NMR Spectroscopy. *Institute of Nuclear Chemistry and Technology*, pp. 24–27.
18. Liu, T.; Ma, Y.; Xue S. and Shi J. (2012). Modifications of structure and physicochemical properties of maize starch by  $\gamma$ -irradiation treatments. *LWT-Food Science and Technology*, 46, pp. 156-163.
19. Ljubica Dokic, Jovan Jakovljevic and Petar Dokic (2004). Relation between viscous characteristics and dextrose equivalent of maltodextrins. *Starch/Stärke*, 56(11), pp. 520-525.

20. Luís Fernando Polesi, Silene Bruder Silveira Sarmento, and Solange Guidolin Canniatti-Brazaca. (2018). Starch digestibility and functional properties of rice starch subjected to gamma radiation. *Rice Science*, 25(1), pp. 42-51.
21. Mirela Braşoveanu and Monica-Roxana Nemţanu (2018). Aspects on starches modified by ionizing radiation processing. *IntechOpen*, pp. 49-68.
22. Mokrzycki, W.S. and Tatol, M. (2012). Color difference Delta E - A survey. *Machine Graphics and Vision*, 20(4), pp. 383-411.
23. Nara, S. and Komiya T. (1983). Studies on the relationship between water-saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. *Starch/Starke*, 35, pp. 407–410.
24. Onehabu, J.; Gyebiduodu, K.; and Minnaar, A. (2006). Effect of  $\gamma$ -irradiation on some physicochemical and thermal properties of cowpea (*L. Walp*) starch. *Food Chemistry*, 95(3), pp. 386–393.
25. Pimpa, B.; Muhammad, S.K.S.; Hassan, M.A.; Ghazali, Z.; Hashim, K. and Kanjanasopa, D. (2007). Effect of electron beam irradiation on physico-chemical properties of sago starch. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 29(3), pp. 759–768.
26. Radley, J.A. (1960). The effect of irradiation by high energy cathod rays on starch. *Starch/Starke*, 7, pp. 201-203.
27. Rajeev Bhat, A.A. Karim. (2009). Impact of radiation processing on starch. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(2), 44–58.
28. Rombo G.O., Taylor J.R.N., & Minnaar A. (2004). Irradiation of maize and bean flours: Effects on starch physicochemical properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(4), pp 350–356
29. Rombo, G.O.; Taylor, J.R.N. and Minnaar, A. (2001). Effect of irradiation, with and without cooking of maize and kidney bean flours, on porridge viscosity and in vitro starch digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, pp. 497–502.
30. Rosenthal, I. (1992). *Electromagnetic Radiations in Food Science*. Springer-Verlag, USA, pp. 1-19.

31. Schoch, T.J. (1964). Swelling power and solubility of granular starches. In: Whistler R.L., editor. *Methods in carbohydrate chemistry*, Vol IV. New York: Academic Press, pp. 42–46.
32. Schott-Geräte GmbH. Operating Instruction, SI Analytics GmbH, Postfach 2443, 55014 Mainz, Hattenbergstrasse 10, 55122 Mainz, Germany.
33. Shin, S.I.; Lee, C.J.; Kim, D.I.; Lee, H.A.; Cheong, J.J.; Chung, K.M.; Baik, M.Y.; Park, C.S; Kim, C.H. and Moon, T.W. (2007). Formation, characterization, and glucose response in mice to rice starch with low digestibility produced by citric acid treatment. *Journal of Cereal Science*, 45(1), pp. 24–33, 2007.
34. Shingel, K.I. (2002). Determination of structural peculiarities of dexran, pullulan and  $\gamma$ -irradiated pullulan by Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 337(16), pp. 1445–1451.
35. Sokhey, A.S. and Chinnaswamy, R. (1993). Chemical and molecular properties of irradiated starch extrudates. *Cereal Chemistry*, 70(3), pp. 260-268.
36. Steve W.Cui. (2005). *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*. CRC Press. Taylor & Francis Group.
37. Whistler R.L. (2009). *Methods in carbohydrate chemistry*, Vol IV. New York: Academic Press
38. Zhu, T.; Jackson, D.S; Wehling, R.L. and Geera B. (2008). Comparison of Amylose Determination Methods and the Development of a Dual Wavelength Iodine Binding Technique. *Cereal Chemistry*, 85(1), pp. 51-58.

