

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN CỦA AMILOZA VÀ AMILOPECTIN CÓ TRONG TINH BỘT BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO MÀU NHANH

TRƯƠNG THỊ MINH HẠNH, HUỖNH THỊ MỸ KIẾN, TRẦN THỊ XÔ

I. MỞ ĐẦU

Amiloza và amilopectin là 2 thành phần được quan tâm nhiều khi nghiên cứu về một tinh bột nào đó. Hiện nay có nhiều phương pháp xác định tỉ lệ của amiloza và amilopectin như chuẩn độ với iot, phương pháp so màu, phương pháp tách tinh bột trong dung dịch HClO_4 ... Tuy nhiên, các phương pháp này không phù hợp khi ta cần phân tích một lượng mẫu khá nhỏ và chưa biết hàm lượng tinh bột. Phương pháp tách tinh bột trong HClO_4 có thể phân tích trong trường hợp mẫu nhỏ, nhưng tốn công và mất nhiều thời gian. Do đó, việc nghiên cứu áp dụng một phương pháp kết hợp để có thể xác định được hàm lượng amiloza và amilopectin trong tinh bột một cách nhanh chóng trong điều kiện lượng mẫu thử nhỏ là rất cần thiết.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu

- Tinh bột sắn: Của nhà máy tinh bột sắn Tịnh Phong - Quảng Ngãi.
- Tinh bột sắn dây và tinh bột đao (bột bình tinh): Sản xuất từ củ sắn dây và củ cây dong trắng (bình tinh) lấy ở khu vực quận Liên Chiểu thành phố Đà Nẵng.

2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp này (dùng để đánh giá một cách lượng hóa các mẫu có khả năng hấp thụ ánh sáng khác nhau ở những bước sóng xác định), dựa vào đặc điểm của amiloza và amilopectin cho màu đặc trưng với dung dịch lugol và khả năng hấp thụ ánh sáng của dung dịch màu này phụ thuộc nồng độ của amiloza và amilopectin có trong dung dịch. Do đó, có thể dùng phương pháp đo quang để xác định hàm lượng amiloza và amilopectin trong tinh bột. Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng phương pháp xác định của Hovenkamp - Hermelink và cộng sự [4]. Tiến hành đo mật độ quang của các dung dịch nghiên cứu trên máy so màu Prim light & advanced. Tùy theo đỉnh bước sóng hấp thụ quang của dung dịch nghiên cứu mà ta đặt bước sóng thích hợp để đảm bảo tính chính xác của phép đo.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tách amiloza và amilopectin có trong mỗi loại tinh bột

Để xác định hàm lượng amiloza và amilopectin trong tinh bột thì phải có amiloza và amilopectin chuẩn của tinh bột đó. Do đó phải tiến hành tách amiloza và amilopectin trong tinh bột.

a. Tách amiloza từ tinh bột

Để tách amiloza từ tinh bột chúng tôi sử dụng phương pháp tách của Manfred Richter-Siegfried Augstat Friedrich Schierbaum [6]. Quá trình tách theo các bước sau:

Bước 1: Kết tủa chọn lọc amiloza nhờ xyclohexanol.

Bước 2: Làm sạch amiloza bằng phương pháp kết tủa với butanol tinh khiết.

Bước 3: Tách amiloza khỏi các dung môi hữu cơ và sấy khô kết tủa amiloza thu được.

Ở phần này chúng tôi đã tiến hành tách amiloza của 3 loại tinh bột khác nhau là: Tinh bột sắn, tinh bột sắn dây, tinh bột đao. Amiloza tinh khiết tách ra từ 3 loại tinh bột kể trên được sử dụng làm chất chuẩn để xác định hàm lượng amiloza cho 3 loại tinh bột đó.

b. Tách amilopectin từ tinh bột

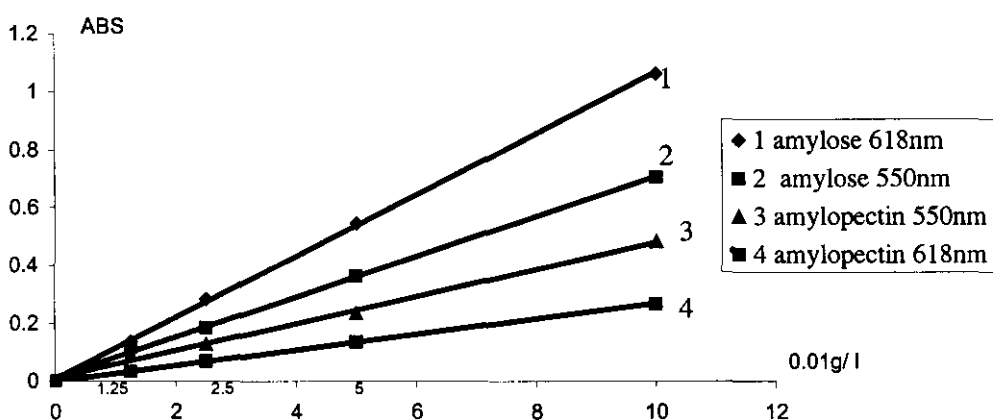
Amilopectin chúng tôi tách từ tinh bột nếp. Qua tham khảo [1 - 3] cho thấy trong tinh bột nếp hàm lượng amilopectin chiếm gần như 100%. Vì vậy để có được amilopectin tinh khiết làm chất chuẩn chúng tôi tiến hành tách amilopectin từ tinh bột nếp bằng dung dịch NaOH 0,1%.

2. Xây dựng đồ thị đường chuẩn

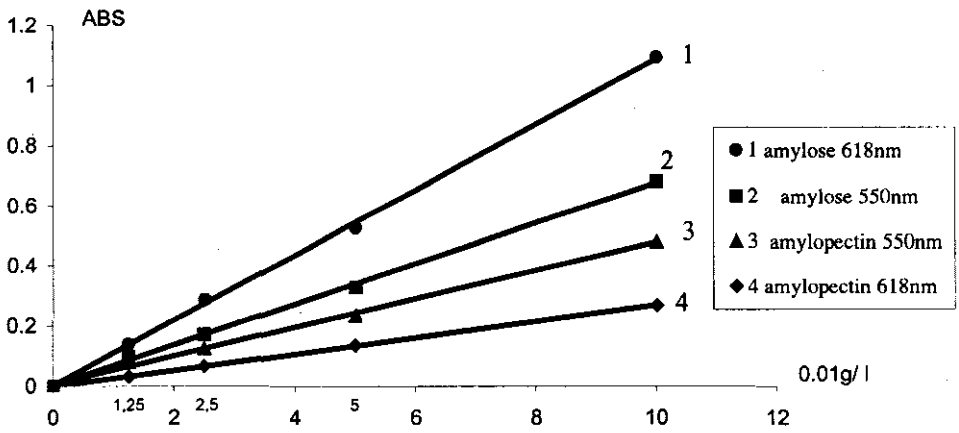
Đồ thị đường chuẩn là đồ thị gồm các đường thẳng biểu diễn mật độ quang của dung dịch amiloza và amilopectin tinh khiết ở các giá trị nồng độ khác nhau tại các bước sóng 550 nm và 618 nm.

Để xây dựng đồ thị đường chuẩn của 3 loại tinh bột sắn, sắn dây và tinh bột đao, tiến hành như sau: Hòa tan 25 mg amiloza hoặc amilopectin của mỗi tinh bột trong 10 ml dung dịch HClO₄ 45%, định mức thành 100 ml dung dịch. Sau đó pha loãng dung dịch thành các dung dịch có nồng độ 1,25; 2,5; 5; 10 mg / 100 ml. Lấy 4 ml của mỗi loại nồng độ cho vào cốc thủy tinh, thêm vào mỗi cốc 5 ml dung dịch lugol, lắc đều cho vào cuvet và đo trên máy so màu lần lượt tại các bước sóng 550 nm và 618 nm.

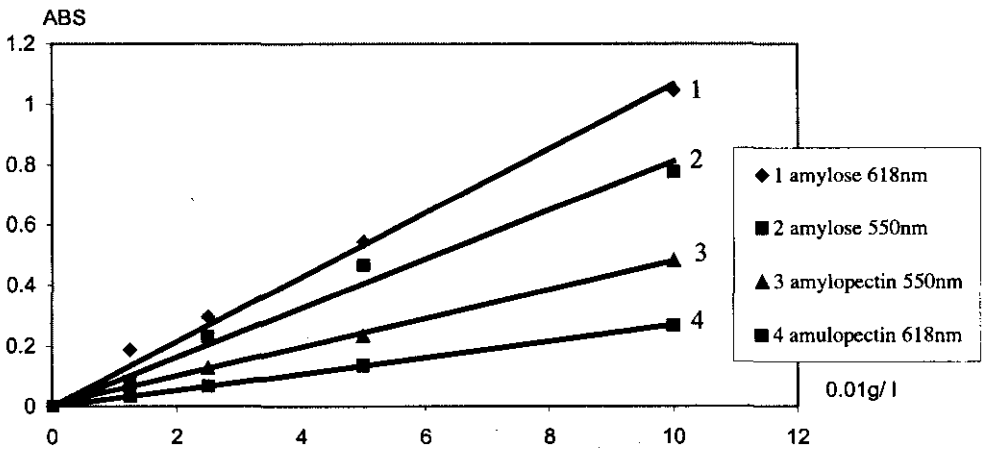
Từ kết quả thí nghiệm được, chúng tôi xây dựng 3 đồ thị đường chuẩn cho 3 loại tinh bột như sau:



Hình 1. Đồ thị đường chuẩn của dung dịch amiloza, amilopectin của tinh bột sắn



Hình 2. Đồ thị đường chuẩn của dung dịch amiloza, amilopectin của tinh bột sắn dây



Hình 3. Đồ thị đường chuẩn của dung dịch amiloza, amilopectin của tinh bột đao

Từ các đồ thị đường chuẩn trên, xác định được các hệ số hấp thụ a của amiloza và amilopectin của các loại tinh bột trên tại các bước sóng 550 nm và 618 nm. Đó chính là các hệ số góc của các đường biểu diễn.

Bảng 1. Hệ số hấp thụ của amiloza và amilopectin của tinh bột sắn, tinh bột sắn dây, tinh bột bình tinh ở các bước sóng 550 nm và 618 nm

Loại tinh bột	Hệ số hấp thụ			
	a_{m550}	a_{p550}	a_{m618}	a_{p618}
Tinh bột sắn	7,06	4,82	10,62	2,68
Tinh bột sắn dây	6,85	4,82	10,96	2,68
Tinh bột bình tinh	7,76	4,82	10,46	2,68

trong đó: a_{m550} : Hệ số hấp thụ của amiloza ở bước sóng 550 nm. a_{p550} : Hệ số hấp thụ của amilopectin ở bước sóng 550 nm. a_{m618} : Hệ số hấp thụ của amiloza ở bước sóng 618 nm. a_{p618} : Hệ số hấp thụ của amilopectin ở bước sóng 618 nm.

3. Xác định hàm lượng amiloza và amilopectin có trong tinh bột

Để xác định hàm lượng amiloza và amilopectin của tinh bột chúng tôi tiến hành thí nghiệm xác định mật độ quang của dung dịch tinh bột ở các nồng độ khác nhau lần lượt tại các bước sóng 550 nm và 618 nm (giống phần 2). Sau đó tính giá trị R, với R là tỉ số mật độ quang của dung dịch tinh bột ở bước sóng 618 nm và 550 nm. Từ đó tính được hàm lượng amiloza và amilopectin có trong tinh bột.

Sau khi tiến hành thí nghiệm thu được kết quả và biểu diễn trong bảng 2.

Bảng 2. Mật độ quang và giá trị R

Loại tinh bột	Bước sóng (nm)		550	618	R _i	$R = \frac{\sum_{i=1}^n R_i}{n} (n = 4)$
	Nồng độ (mg / 100 ml)					
Tinh bột sắn	Mật độ quang					
	1,25		0,085	0,077	0,906	0,860
	2,5		0,175	0,141	0,805	
	5		0,283	0,289	1,020	
10		0,692	0,494	0,710		
Tinh bột sắn dây	1,25		0,103	0,091	0,883	0,895
	2,5		0,157	0,127	0,809	
	5		0,209	0,207	0,990	
	10		0,562	0,504	0,897	
Tinh bột đao	1,25		0,078	0,070	0,897	0,902
	2,5		0,150	0,126	0,840	
	5		0,270	0,253	0,937	
	10		0,585	0,548	0,937	

Từ kết quả bảng 1 và bảng 2, chúng ta có thể tính được tỉ lệ amiloza và amilopectin có trong tinh bột sắn, sắn dây và bột đao theo công thức:

$$R = \frac{P \cdot a_{m618} + (1 - P) \cdot a_{p618}}{P \cdot a_{m550} + (1 - P) \cdot a_{p550}} \quad (4)$$

trong đó P: hàm lượng amiloza (%). R: giá trị của tỉ số mật độ quang giữa hai bước sóng 618 nm và 550 nm của tinh bột. Từ công thức trên chúng tôi tính được:

$$P = \frac{a_{p618} - R \cdot a_{p550}}{R(a_{m550} - a_{p550}) - a_{m618} + a_{p618}} \quad (*)$$

Hàm lượng amilopectin

$$P' = 100 - P.$$

Thế các trị số có được ở bảng 1 và bảng 2, tính được hàm lượng amiloza và amilopectin của tinh bột sắn, tinh bột sắn dây và tinh bột đao. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng amiloza và amilopectin có trong tinh bột

Loại tinh bột	Thành phần (%)	
	Amiloza	Amilopectin
Tinh bột sắn	24,36	75,64
Tinh bột sắn dây	25,28	74,72
Tinh bột đao	32,52	67,48

3. Kiểm tra lại tỉ lệ amiloza và amilopectin có trong tinh bột

Tiến hành kiểm tra lại kết quả bằng cách tự tạo một mẫu tinh bột sắn có thành phần amiloza là 24,36% và amilopectin là 75,64%, sau đó tiến hành xác định lại hàm lượng amiloza và amilopectin theo phương pháp trên. Trình tự như sau: Cân mẫu tinh bột có khối lượng 25 mg thì trong đó có 6,09 mg amiloza và 75,64 mg amilopectin. Hòa tan mẫu tinh bột này trong 10 ml dung dịch HClO₄ 45%, tiến hành đo mật độ quang và giá trị R như trên, kết quả thu được ở bảng 4.

Bảng 4. Mật độ quang và giá trị R của mẫu tinh bột sắn tự tạo

Nồng độ (mg/100ml)	Bước sóng (nm)		R _i
	550	618	
	Mật độ quang (ABS)		
1,25	0,072	0,063	0,875
2,5	0,128	0,109	0,852
5	0,279	0,249	0,892
10	0,504	0,404	0,802

$$\text{Từ kết quả trên tính được } R = \frac{0,875 + 0,852 + 0,892 + 0,802}{4} = 0,855$$

Thế vào công thức (*) tính được: Hàm lượng amiloza P = 23,92%. Hàm lượng amilopectin P' = 76,08%

Kết quả tính được này so với kết quả ở bảng 3 không khác nhau nhiều. Vậy hàm lượng amiloza của sắn là 24,36 %, và amilopectin là 75,64%.

Tiến hành kiểm tra tương tự như trên với tinh bột sắn dây và tinh bột đao, chúng tôi thu được kết quả như sau :

Tinh bột sắn dây: Hàm lượng amiloza: 25,62%, amilopectin: 74,38% .

Tinh bột đao: Hàm lượng amiloza: 32,17%, amilopectin: 67,83%

IV. KẾT LUẬN

So sánh các kết quả đo được và kết quả kiểm tra trên các mẫu tinh bột nói trên, chúng tôi thấy rằng phương pháp này có thể sử dụng để xác định tỉ lệ amiloza và amilopectin trong tinh bột

một cách tương đối chính xác. Sau khi chiết xuất tinh bột trong HClO_4 , nhuộm màu dung dịch với I_2 - KI và đo sự hấp thụ ở 2 bước sóng; nồng độ % của amiloza trong mẫu thử có thể được xác định một cách đơn giản dựa theo công thức hay theo đồ thị.

Với phương pháp phân tích này thì trong một thời gian ngắn, cho phép phân tích rất nhiều mẫu thử, mà chỉ cần một vài miligam cho mỗi mẫu thử.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Văn Hoàng - Nghiên cứu ứng dụng và triển khai các qui trình công nghệ sau thu hoạch. Nhà xuất bản Đà Nẵng, 1991.
2. Lê Ngọc Tú (chủ biên), Bùi Đức Hợi, Lưu Duẩn, Ngô Hữu Hợp, Đặng Thị Thu, Nguyễn Trọng Căn - Hóa học thực phẩm, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1997.
3. Lê Ngọc Tú (chủ biên), La Văn Chứ, Đặng Thị Thu, Nguyễn Thị Thịnh, Bùi Đức Hợi, Lưu Duẩn, Lê Doãn Diên - Hóa sinh công nghiệp, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2000.
4. Hovenkamp J. H. M., Hermelink, J. N. Devries, P. Adamse, E. Jacobsen, B. Witholt, and W. J. Feenstra - Rapid estimation of the amylose / amylopectin ratio in small amounts of tuber and leaf tissue of the potato. Potato research **31** (1988) 241-246.
5. Lustinec J., V. Hadacova., M. Kaminek, and Z. Prochazka - Quantitative determination of starch, amilose and amilopectin in plant tissues using glass fiber paper. Analytical Biochemistry **132** (1983) 265-271.
6. Manfred Richter - Siegfried Augustat Friedrich Schierbaum. Ausgewählte methoden der starkechemie-ver fachbuchver lag leipzig, Moskva, 1975.

SUMMARY

ESTIMATION OF THE AMYLOSE AND AMYLOPECTIN CONTENT OF STARCH BY RAPID COLORIMETRIC PROCEDURE

In this paper, the procedure is described for the determination of the percentage of amylose and amylopectin of cassava starch, kudzu starch and arrow-root des antilles starch. It combines the extraction of starch in perchloric acid (Lustinec et al., 1983) with determination of the absorption of amylose and amylopectine at two wavelenghts after staining with I_2 -KI solution (J. H. M. Hovenkamp - Hermelin et al. 1987). The percentage of amylose and amylopectin can be estimated from the ratio of the absorbances at 618 nm and 550 nm by using a formula or a graph. This methode is appropriate for analysis of small quantities of starch.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 15 tháng 5 năm 2001

Khoa Hóa, Trường Đại học Kỹ thuật Đà Nẵng.