

تأثیر فرایند هیدرولیز اسیدی به کمک فراصوت همراه با فرایند حرارتی-رطوبتی بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی و هضم پذیری نشاسته ذرت

سید رضا فلسفی^۱، یحیی مقصودلو^{۲*}، مهران اعلمی^۳، سید مهدی جعفری^۳،
مجتبی رئیسی^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۴- استادیار، مرکز تحقیقات سلامت غلات، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۸)

چکیده

در این پژوهش تولید نشاسته مقاوم از نشاسته معمولی ذرت توسط فرایند حرارتی رطوبتی، ترکیب شده با پیش تیمار هیدرولیز اسیدی به کمک فراصوت (USAH) و یا هیدرولیز اسیدی معمولی (AH) مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تهیه نشاسته USAH، نشاسته ها توسط اسید سیتریک (۱۰٪) به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد تحت امواج فراصوت (۴۰۰ وات، ۲۰ کیلو هرتز) قرار گرفتند. نشاسته AH نیز در شرایط مشابه بدون اعمال فراصوت تهیه گردید. در ادامه به منظور اعمال فرایند حرارتی رطوبتی، نشاسته های طبیعی و هیدرولیز شده در حضور رطوبت ۳۰٪ برای مدت زمان ۸ ساعت تحت دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. میزان نشاسته مقاوم از ۸/۳٪ در نشاسته کنترل به ۱۳/۲٪ در نشاسته طبیعی اصلاح شده (HMT-N) و ۲۱/۴٪ در نشاسته HMT-AH و ۳۶/۸٪ در نشاسته HMT-USAH افزایش پیدا کرد. اعمال فرایند حرارتی-رطوبتی-هیدرولیز اسیدی باعث کاهش میزان قدرت تورم نمونه ها و همچنین کاهش آنتالپی ژلاتینه شدن گردید. در حالی که، حلالیت، قابلیت جذب روغن، قدرت امولسیون کنندگی و دمای های ژلاتینه شدن افزایش یافت. نتایج تعیین الگوی پراش اشعه ایکس نمونه ها نشان داد که اعمال فرایند حرارتی-رطوبتی در ترکیب با هیدرولیز اسیدی به کمک فراصوت، تغییری در الگوی پراش ایکس نمونه ها (الگوی A) ایجاد نمی کند.

کلید واژگان: نشاسته مقاوم، فرایند حرارتی-رطوبتی، فراصوت، هیدرولیز اسیدی

* مسئول مکاتبات: y.maghsoudlou@gau.ac.ir

۱- مقدمه

نشاسته به عنوان پلی ساکارید ذخیره ای گیاهان، پس از سلولز فراوان ترین ترکیب آلی موجود در طبیعت است و به طور متوسط ۶۰ درصد انرژی روزانه انسان را تامین می کند. از دیدگاه تغذیه، نشاسته ها را در سه گروه نشاسته های با هضم سریع، نشاسته های با هضم کند و نشاسته های مقاوم به هضم تقسیم بندی می کنند [۱]. نشاسته مقاوم به بخشی از نشاسته اطلاق می شود که در دستگاه گوارش انسان قابل هضم نیست. بر اساس نوع مقاومت، نشاسته های مقاوم در ۵ گروه دسته بندی می شوند. در نشاسته های مقاوم نوع ۱ و ۲ دلیل هضم ناپذیری، عدم دسترسی آنزیم ها گوارشی به پیوند های گلیکوزیدی درون گرانول نشاسته است که این حالت در گرانول طبیعی نشاسته دیده می شود. با حرارت دهی نشاسته طبیعی، نشاسته ژلاتینه شده و به صورت کامل هضم پذیر می شود. نشاسته های مقاوم نوع ۳ آمیلوز های بیات شده هستند که در طی سرد کردن سوسپانسیون ژلاتینه شده نشاسته تولید می شوند (در واقع با حرارت دهی، نشاسته های مقاوم نوع ۱ و ۲ حذف شده و نشاسته های مقاوم نوع ۳ تولید می شوند). نشاسته های مقاوم نوع ۴ حاصل اصلاح شیمیایی نشاسته نظیر ایجاد اتصال عرضی هستند که فعالیت آنزیم گوارشی در داخل گرانول نشاسته را محدود می کنند و نشاسته های مقاوم نوع ۵ ساختار های آمیلوز-لیپید می باشند که در دستگاه گوارش به ندرت هضم می شوند [۲].

علاوه بر روش های شیمیایی، اعمال روش های فیزیکی اصلاح نشاسته نیز می توانند سبب تغییر در هضم پذیری نشاسته شوند. فرایند های حرارتی -رطوبتی به عنوان یک روش اصلاح فیزیکی نشاسته، بدون استفاده از ترکیبات شیمیایی میزان هضم پذیری نشاسته را کاهش می دهند. در این روش، نشاسته با محتوای رطوبت اندک (کمتر از ۳۵ درصد) برای مدت زمان معین (۱۵ دقیقه تا ۱۶ ساعت) تحت حرارت های بالا (۱۲۰-۸۴ درجه سانتی گراد) قرار می گیرد. این محدوده دمایی، از دمای انتقال شیشه ای گرانول نشاسته بالاتر ولی از دمای آغاز ژلاتینه شدن آن کمتر است. بنابراین بخش های درونی گرانول از حالت شیشه ای به حالت ویسکوالاستیک تبدیل شده و قابلیت تحرک پیدا می کنند و با قرار گرفتن در ساختار هایی جدید با نظم بیشتر میزان

مقاومت گرانول نشاسته در برابر آنزیم های گوارشی را افزایش می دهند [۳، ۴]. میزان تاثیر فرایند حرارتی-رطوبتی بر ویژگی های مختلف نشاسته، عمدتاً تحت تاثیر بخش هایی با قدرت تحرک بالا در درون گرانول قرار دارد. به طوری که در نشاسته هایی با محتوای بیشتر آمیلوز، میزان تغییرات ناشی از فرایند حرارتی-رطوبتی چشمگیر تر از نشاسته های مومی است [۵]. در سال های اخیر به منظور افزایش اثر فرایند های حرارتی-رطوبتی، از پیش تیمار هایی نظیر هیدرولیز آنزیمی و اسیدی استفاده شده است [۵-۷]. این پیش تیمار ها با افزایش بخش های خطی درون گرانول، تاثیر فرایند حرارتی-رطوبتی بر نشاسته را افزایش می دهند. آپاریچو ساگویلان و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که اعمال ۶ ساعت هیدرولیز اسیدی در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد توسط اسید کلریدریک به عنوان یک اسید قوی می تواند میزان بخش های خطی درون گرانول نشاسته موز را افزایش داده و در ادامه در طی فرایند حرارتی، منجر به دستیابی به میزان نشاسته مقاوم بالاتری نیز گردد [۸]. کوکسل و همکاران (۲۰۰۸) نیز به طور مشابهی نشان دادند که اعمال فرایند هیدرولیز اسیدی توسط اسید کلریدریک به مدت ۴ ساعت قبل از اعمال فرایند حرارتی، می تواند محتوای نشاسته مقاوم نشاسته ذرت را تا ۱۲ درصد افزایش دهد [۹]. در پژوهشی دیگر نسرین و آنال (۲۰۱۴) از پیش تیمار هیدرولیز اسیدی (اسید کلریدریک) به مدت زمان ۴۵ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به منظور افزایش میزان نشاسته مقاوم در نشاسته موز استفاده کردند. این محققین نشان دادند که اعمال هیدرولیز اسیدی در زمان کوتاه مورد استفاده، نمی تواند تغییر معنی داری در محتوای نشاسته مقاوم نهایی ایجاد نماید و جهت دستیابی به نشاسته مقاوم در شرایط معمولی باید زمان های طولانی تر فرایند اعمال شود [۱۰].

علاوه بر روش های هیدرولیز اسیدی و آنزیمی، امواج فراصوت نیز در سال های اخیر به عنوان روش دیگری از تخریب ساختار های مولکولی معرفی شده است. پژوهش های صورت گرفته در رابطه با تاثیر فرایند فراصوت بر نشاسته، نشان داده است که اعمال فراصوت به دنبال تخریب ساختار های مولکولی و به ویژه پیوند های آلفا-۱-۶ آمیلوپکتین سبب افزایش بخش های خطی درون گرانول نشاسته می شود [۱۱، ۱۲]. علاوه بر این، چن و کالیک (۱۹۶۷) نشان دادند که امواج فراصوت به طور قابل

سوسپانسیون حاوی نشاسته سانتریفیوژ شده (g ۲۵۰۰، ۱۰ دقیقه) و پس از خارج کردن مایع فوقانی، نشاسته به صورت رسوب تفکیک شد. در ادامه نشاسته های به دست آمده در آن ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شده و از الک ۲۵۰ میکرون عبور داده شدند. به منظور تولید نمونه شاهد، سوسپانسیون ۸ درصد نشاسته در سیتریک اسید ۱۰ درصد، به مدت زمان ۴۵ دقیقه بر روی استیرر با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد همراه با هم زدن مداوم قرار گرفت. در این حالت نیز نشاسته ها پس از اتمام فرایند با سانتریفیوژ تفکیک و در ۴۰ درجه سانتی گراد در آن خشک شدند.

۲-۲- تهیه نشاسته مقاوم

به منظور تهیه نشاسته مقاوم از نشاسته طبیعی ذرت، نشاسته هیدرولیز اسیدی شده تحت فرایند فراصوت و نشاسته هیدرولیز اسیدی شده در شرایط معمولی، از فرایند حرارتی-رطوبتی استفاده شد. برای این منظور ابتدا به پودر های نشاسته به مقدار لازم آب افزوده شد به طوری که رطوبت نهایی نشاسته ها ۳۰ درصد باشد. سپس به منظور متعادل شدن رطوبت نمونه ها، درب ظروف بسته شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. در ادامه نمونه ها به مدت ۸ ساعت در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد حرارت دیدند. پس از اتمام فرایند نمونه ها در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد خشک شده و پس از آسیاب شدن و عبور از الک ۶۰ مش در ظروف درب دار نگهداری شدند. در ادامه از مخفف های HMT-USAH و HMT-AH، HMT-N به ترتیب برای نمونه های نشاسته معمولی، نشاسته هیدرولیز اسیدی شده به روش معمولی و نشاسته هیدرولیز اسیدی شده تحت شرایط فراصوت که فرایند حرارتی-رطوبتی بر روی آن ها اعمال شده بود استفاده شد.

۲-۳- تعیین مقدار نشاسته مقاوم (RS)، نشاسته با هضم کند (SDS) و نشاسته قابل هضم (RDS)

برای این منظور از روش AOAC 2002.2 ارائه شده توسط مک کلری و همکاران (۲۰۰۲) استفاده می شود [۱۶]. که به اختصار شامل مراحل زیر است.

۱- قرار دادن نمونه ها در حضور آنزیم های آلفا آمیلاز و

توجهی سرعت انجام واکنش های شیمیایی را افزایش و زمان انجام فرایند را کاهش می دهد [۱۳]. در همین راستا تحقیقات متعددی در خصوص تسریع فرایند های مختلف نظیر استخراج ترکیبات مفید گیاهی، فرایند های آنزیمی و تولید نانو ذرات توسط امواج فراصوت صورت پذیرفته است [۱۴، ۱۵]. هر چند پژوهش های مختلفی در خصوص تاثیر پیش تیمار هیدرولیز اسیدی برای مدت زمان طولانی و فرایند حرارتی-رطوبتی بر میزان نشاسته مقاوم صورت گرفته است، اما گزارشی مبنی بر تاثیر پیش تیمار هیدرولیز اسیدی در زمان کوتاه با استفاده از امواج فراصوت و فرایند حرارتی-رطوبتی، بر میزان نشاسته مقاوم ارائه نشده است. بنابراین، هدف اصلی این پژوهش، تولید نشاسته مقاوم با استفاده از فرایند حرارتی-رطوبتی در نشاسته معمولی ذرت پیش تیمار شده به روش هیدرولیز اسیدی به کمک امواج فراصوت در زمان کوتاه (۴۵ دقیقه) و همچنین بررسی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی نشاسته تولیدی بود.

۲- مواد و روش ها

نشاسته ذرت خالص تهیه شده از شرکت مهشاد یزد، کیت نشاسته مقاوم تهیه شده از مگازایم (Megazyme CO. Wicklow, Ireland). و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش دارای درجه آنالیز آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرک (Darmectat, Germany) تهیه شدند.

۲-۱- اعمال هیدرولیز اسیدی به کمک فراصوت

به منظور اعمال فراصوت از حمام فراصوت ۴۰۰ وات، ۲۰ کیلوهرتز یوروسونیک (Euronoda, Vicenza, Italy)، استفاده شد. ۱۰۰ میلی لیتر سوسپانسیون ۸ درصد نشاسته ذرت در محلول ۱۰ درصد اسید سیتریک در یک بشر شیشه ای تهیه شد و با استفاده از پایه نگهدارنده در مرکز حمام فراصوت تثبیت گردید به طوری که ارتفاع بشر از مبدل های تولید کننده امواج فراصوت ۵ سانتی متر بود. سوسپانسیون تهیه شده به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد تحت امواج فراصوت قرار گرفت. دمای نمونه ها توسط ترموکوپل به صورت مداوم ثبت شده و به منظور جلوگیری از افزایش دما، از روش جایگزینی آب حمام با آب سرد استفاده شد. پس از اتمام زمان های فراصوت،

نمونه ها توسط فرمول زیر محاسبه و به صورت درصد مواد محلول نشاسته خشک گزارش شد [۱۷].

(وزن نشاسته خشک اولیه / وزن مایع فوقانی خشک شده) =

$100 \times$ درصد حلالیت

۲-۵- تعیین قدرت تورم نمونه های مختلف

نشاسته

برای اندازه گیری میزان تورم، لوله های سانتریفیوژ به کار رفته در آزمایش حلالیت به همراه مواد رسوب داده شده درون آنها بعد از خارج کردن مایع فوقانی وزن گردیده و سپس میزان تورم با استفاده از فرمول زیر محاسبه می شود:

وزن نشاسته خشک اولیه / وزن رسوب درون لوله سانتریفیوژ

= میزان تورم

میزان تورم بر حسب گرم آب به ازای گرم نشاسته خشک اولیه بیان می شود [۱۷].

۲-۶- قابلیت نگهداری روغن و قدرت امولسیون

کنندگی

برای تعیین قابلیت نگهداری روغن، ۱ گرم از نشاسته های تیمار شده و کنترل به لوله های ۱۵ میلی لیتری سانتریفیوژ منتقل شده و به میزان ۲/۵ گرم روغن به هر لوله اضافه شد. وزن لوله های سانتریفیوژ از قبل تعیین شده بود. پس از بستن درب لوله ها، هر لوله به مدت ۳ دقیقه ورتکس شد و در ادامه ۱۵ دقیقه در دمای اتاق بدون حرکت نگهداری شدند. سپس نمونه ها در سرعت g ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و مایع فوقانی خارج شد. وزن نمونه ها تعیین شد و میزان روغن جذب شده در قیاس با وزن نمونه خشک به صورت درصد بیان شد [۱۸]. قدرت امولسیون کنندگی نشاسته ها نیز با استفاده از روش جمبرک و همکاران (۲۰۱۵) تعیین شد [۱۹]. ۱ گرم از هر نشاسته با ۵ میلی لیتر روغن ترکیب شده و پس از هموژن شدن، به مدت ۳۰ دقیقه در حمام ۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس نمونه ها تا دمای محیط خنک شده و در g ۱۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. به منظور تعیین قدرت امولسیون کنندگی از رابطه زیر استفاده شد.

= قدرت امولسیون کنندگی

ارتفاع کل ترکیبات در لوله سانتریفیوژ / ارتفاع بخش امولسیون شده $\times 100$

گلوکوامیلانز در حمام ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶ ساعت (هیدرولیز تمام نشاسته های RDS و SDS)، ۲- افزودن متانول جهت غیر فعال کردن آنزیم ها، ۳- سانتریفیوژ کردن مخلوط جهت تفکیک نشاسته مقاوم از نشاسته های هیدرولیز شده، ۴- دو بار شستن رسوب با اتانول جهت خروج کامل نشاسته های هیدرولیز شده و باقی ماندن نشاسته ی مقاوم، ۵- قرار دادن نشاسته در معرض KOH ۲ مولار به منظور حل شدن کامل کریستال های نشاسته مقاوم، ۶- خنثی کردن محلول هیدروکسید پتاسیم توسط اساتات بافر، ۷- افزودن آنزیم آمیلو گلوکوزیداز به منظور هیدرولیز تمام نشاسته موجود (نشاسته های مقاوم که قابلیت هیدرولیز پیدا کرده اند)، ۸- افزودن معرف گلوکز اکسیداز- پراکسیداز به نمونه ها و تعیین میزان جذب نمونه ها در ۵۱۰ نانومتر. در ادامه و با استفاده از نرم افزار ارائه شده توسط شرکت مگازیم میزان نشاسته مقاوم اندازه گیری شد.

به منظور تعیین میزان نشاسته های SDS (نشاسته های با هضم کند) پس از دو ساعت قرار گرفتن نمونه های نشاسته در معرض آنزیم های گوارشی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، نمونه ها خارج شده و آنزیم ها غیر فعال می شوند و مراحل ۳ تا انتها مشابه با روش تعیین نشاسته مقاوم طی می شود. میزان نشاسته های قابل هضم (RDS) نیز با استفاده از روش زیر تعیین شد.

$$RDS = TS - RS - SDS$$

که در رابطه فوق، TS میزان کل نشاسته اولیه، RS میزان نشاسته مقاوم و SDS میزان نشاسته با هضم کند است.

۲-۴- اندازه گیری حلالیت نمونه های نشاسته

برای این منظور ۱ گرم از هر کدام از نشاسته های تیمار شده و کنترل به لوله های سانتریفیوژ ۵۰ میلی لیتری منتقل شد و به هر لوله ۳۰ میلی لیتر آب افزوده شد. سپس لوله ها در حمام آب گرم با دما های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ درجه سانتی گراد منتقل شده و به مدت ۳۰ دقیقه در داخل حمام قرار گرفتند. به منظور عدم رسوب نشاسته، نمونه ها در فواصل زمانی ۱ دقیقه ای توسط ورتکس به خوبی مخلوط شدند. پس از اتمام زمان حرارت دهی، لوله ها در داخل بشر قرار گرفته و تا دمای محیط خنک شده و در سرعت g ۱۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع فوقانی هر لوله به داخل پتری دیش های با وزن معین منتقل شده و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت خشک شدند. میزان حلالیت

۷-۲- آزمون گرماسنجی افتراقی

برای این منظور از دستگاه گرماسنجی روبشی-افتراقی (TGA/DSC 1, Metler-Toledo, Switzerland) استفاده شد. برای انجام این آزمون یک میلی گرم از نمونه نشاسته در داخل پن مخصوص دستگاه ریخته شده و به مقدار لازم آب مقطر به پن افزوده شد تا نسبت نهایی آب:نشاسته ۱:۳ باشد. درب پن ها سیل شده و به مدت یک شب در دمای محیط قرار گرفتند تا به تعادل رطوبتی برسند. عملیات گرماسنجی در محدوده دمای ۲۵ تا ۱۵۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۰ درجه سانتی گراد بر دقیقه انجام شد و اطلاعات مربوط به دمای آغاز ژلاتینه شدن (T_o)، دمای پیک (T_p)، دمای پایان ژلاتینه شدن (T_c)، آنتالپی ژلاتینه شدن (ΔH) و اختلاف دمای آغاز و پایان ژلاتینه شدن با استفاده از نرم افزار دستگاه تعیین شد.

۸-۲- آزمون پراش اشعه ایکس

به منظور تعیین الگوی پراش اشعه ایکس نمونه ها، ۲ گرم از نمونه های پودر شده به مدت ۲۴ ساعت در داخل دسیکاتور حاوی کلرید سدیم اشباع قرار گرفت تا به محتوای رطوبت استاندارد برسد. سپس نمونه ها توسط دستگاه Shimadzu XRD-7000 در زوایای ۲۰ تا ۳۵ درجه اسکن شدند. سرعت اسکن شدن نمونه ها ۰/۲ درجه بر دقیقه بود [۲۰].

۹-۲- آنالیز آماری

تمامی آزمون ها در سه تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد گزارش شد. آنالیز واریانس نمونه ها در نرم افزار SAS 9.1 انجام شد و به منظور تعیین وجود اختلاف معنی دار بین نمونه ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۱-۳- جذب آب

نتایج مربوط به قابلیت جذب آب (گرم/گرم) نمونه های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. در تمامی تیمار ها افزایش دمای حرارت دهی از ۳۰ به ۶۰ و ۹۰ درجه منتهی به افزایش معنی دار میزان جذب آب نمونه ها گردید. در طی حرارت دهی

سوسپانسیون نشاسته افزایش دما منتهی به تضعیف پیوند های هیدروژنی موجود در ساختار های کریستالی گرانول شده و گرانول ها به تدریج متورم می شوند که این امر ورود آب به درون گرانول را تسهیل می کند. در مقایسه بین نشاسته های مختلف، نتایج نشان داد که اعمال فرایند حرارتی-رطوبتی و همچنین هیدرولیز اسیدی-حرارتی-رطوبتی منجر به کاهش جذب آب نمونه ها می گردد که این کاهش در دما های ۶۰ و ۹۰ درجه سانتی گراد معنی دار بود. میزان جذب آب در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد برای نمونه های HMT-NC، HMT-NC، HMT-AH و HMT-USAH به ترتیب ۷/۶۹، ۵/۹۲، ۵/۱۴ و ۴/۴۲ و در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به ترتیب ۱۱/۱۶، ۸/۱۲، ۴/۱۰ و ۸/۱۷ بود. بازآرایی ساختار درونی گرانول در طی فرایند حرارتی-رطوبتی و افزایش پیوند های آمیلوز-آمیلوز و آمیلوپکتین و همچنین ایجاد کمپلکس های آمیلوز-لیپید، از مهمترین عواملی است که منتهی به افزایش مقاومت حرارتی گرانول و کاهش میزان تورم آن در دمای بالاتر می گردد [۴]. هوور (۲۰۰۲) ضمن بررسی ویژگی های مختلف نشاسته های اصلاح شده به روش حرارتی-رطوبتی، کاهش مشابهی در میزان قابلیت جذب آب نشاسته گزارش کرده و دلیل آن را تغییر وضعیت ساختار های آمیلوزی تک رشته ای بی شکل به ساختارهای مارپیچ دوگانه ی کریستالی عنوان کردند [۳]. آپاریچو ساگیویلان و همکاران (۲۰۰۵) نیز به طور مشابهی نشان دادند که میزان جذب آب در نشاسته موز به دنبال هیدرولیز اسیدی کاهش می یابد [۸].

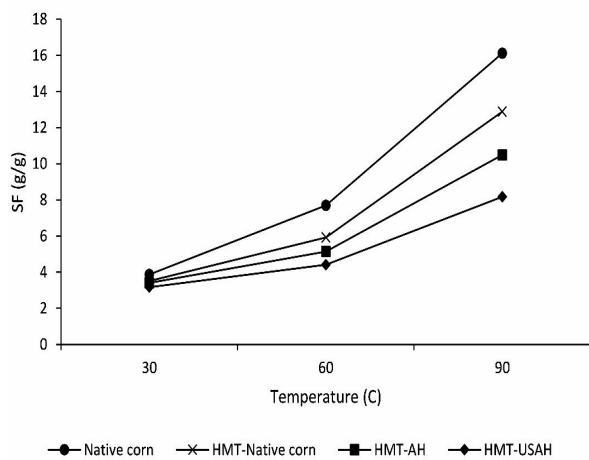


Fig 1 Swelling factor (g/g) of different starch samples

۳-۲- حلالیت

نتایج مربوط به میزان حلالیت نمونه های مختلف نشاسته در شکل ۲ نشان داده شده است. در اینجا نیز با افزایش دما میزان حلالیت تمامی نمونه ها افزایش معنی داری داشت. به دنبال تورم گرانول های نشاسته در طی فرایند حرارتی (به ویژه در دمای بالاتر از دمای ژلاتینه شدن) خروج بخش های با وزن مولکولی کم نظیر بخش های آمیلوزی از گرانول با سهولت بیشتری انجام خواهد شد. در مقایسه بین نشاسته های مختلف، نتایج نشان داد که نمونه های HMT-USH و HMT-NC به ترتیب کمترین و بیشترین میزان حلالیت را در تمامی دماهای مورد بررسی دارا بودند.

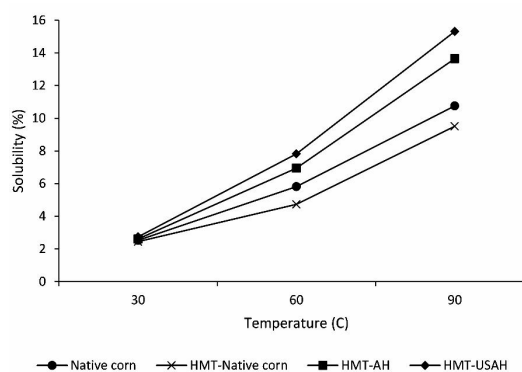


Fig 2 Solubility (%) of different starch samples

اعمال فرایند حرارتی، آمیلوز های موجود در بخش های آمورف گرانول را در ساختار های جدید از قبیل آمیلوز-آمیلوز، آمیلوز-آمیلوپکتین و آمیلوز-لیپید درگیر می کند و قابلیت آن ها در خروج از گرانول را کاهش می دهد [۲۱]. در نمونه های نشاسته های هیدرولیز اسیدی شده (HMT-USAH و HMT-AH) میزان حلالیت به دنبال اعمال هیدرولیز اسیدی افزایش یافت که این امر می تواند ناشی از شکسته شدن ساختار های آمیلوزی به ساختار های کوچکتر و همچنین تخریب ساختار های آمیلوپکتینی و تولید ساختار های خطی (شبه آمیلوز) باشد. اعمال فراصوت با تشدید فرایند هیدرولیز اسیدی توانست تاثیر بیشتری بر میزان حلالیت نمونه ها داشته باشد. کانگ و همکاران (۲۰۱۶) و تیان و همکاران (۲۰۱۳) عنوان کردند اعمال فرایند فراصوت به تنهایی با تخریب پیوند های آلفا ۱-۶ در ساختار های آمیلوپکتینی سبب افزایش بخش های خطی در داخل گرانول شده که می تواند در ادامه میزان حلالیت نشاسته را افزایش دهد.

کوکسل و همکاران (۲۰۰۸) طی بررسی نشاسته های هیدرولیز اسیدی شده و فرایند شده در مایکروویو به طور مشابهی نشان دادند که طی هیدرولیز اسیدی میزان حلالیت نشاسته افزایش پیدا می کند.

۳-۳- قابلیت جذب روغن و قدرت امولسیون کنندگی

نتایج مربوط به قابلیت جذب روغن و قدرت امولسیون کنندگی نشاسته ها به ترتیب در شکل های ۳ و ۴ نشان داده شده است. ترکیبات روغنی عمدتاً به صورت فیزیکی در حفره ها و کانال های موجود در ساختار گرانول به دام می افتند. هر چند می توانند همراه با بخش های آمیلوزی در تشکیل کمپلکس های آمیلوز-لیپید نیز شرکت کنند [۱۸]. نتایج نشان داد که اعمال فرایند های حرارتی-رطوبتی و هیدرولیز اسیدی سبب افزایش معنی دار قابلیت جذب روغن گرانول های نشاسته می شود. بازآرایی بخش های کریستالی و حضور آمیلوز های موجود در بخش های آمورف در ساختار های جدید کریستالی می تواند منتهی به توسعه بخش های آمورف در داخل گرانول گردد و قابلیت جذب فیزیکی روغن در داخل گرانول را افزایش دهد. همچنین تشکیل کمپلکس های آمیلوز-لیپیدی نیز عامل دیگر افزایش قابلیت جذب روغن است [۲۲]. در رابطه با قدرت امولسیون کنندگی نشاسته ها نیز روند مشابهی مشاهده شد. نتایج نشان داد که اعمال فرایند حرارتی-رطوبتی تاثیر معنی داری بر قدرت امولسیون کنندگی نشاسته ندارد در حالی که همراه شدن آن با فرایند هیدرولیز اسیدی سبب افزایش معنی دار قدرت امولسیون کنندگی می شود. حضور بخش های خطی بیشتر در نشاسته های هیدرولیز اسیدی شده و همچنین پایداری حرارتی بیشتر این نمونه ها از جمله عواملی است که می تواند سبب افزایش قدرت امولسیون کنندگی آن ها در دمای بالا باشد. بابو و همکاران (۲۰۱۵) ضمن بررسی نشاسته های سیب زمینی شیرین هیدرولیز اسیدی شده، نتایج مشابهی گزارش کرده و دلیل این موضوع را قابلیت بالاتر بخش های خطی در ایجاد کمپلکس با روغن عنوان کردند [۲۲].

آمیلاز به دلیل وزن مولکولی کمتر و ساختار خطی، اغلب قابلیت تحرک بالاتری دارند. این مولکول ها در طی فرایند حرارتی-رطوبتی با قرار گرفتن در کنار سایر مولکول های آمیلاز و با زنجیره های خارجی آمیلوپکتین، تشکیل ساختار های مارپیچ دوگانه کریستالی می دهند و یا طی ایجاد کمپلکس با چربی های موجود در گرانول ساختار های آمیلاز لیپید ایجاد می کنند که در هر دو حالت مقاومت نشاسته در برابر آنزیم ها گوارشی افزایش پیدا می کند. تشکیل ساختار های کریستالی جدید، حضور بخش های خطی آمیلاز در ساختار های کریستالی نظیر آمیلاز-آمیلاز و آمیلاز-آمیلاز-آمیلاز و همچنین تشکیل کمپلکس های مقاوم به هضم آمیلاز-لیپید از عمده دلایل کاهش هضم پذیری در طی فرایند حرارتی-رطوبتی می باشند [۴،۲۱،۲۳]. همچنین نتایج نشان داد که اعمال تیمار های HMT-AH و HMT-USAH سبب افزایش هر چه بیشتر مقاومت نشاسته به هضم می گردد. حضور بخش هایی با وزن مولکولی کمتر که در طی هیدرولیز اسیدی تولید شده اند، سبب افزایش اثر فرایند حرارتی-رطوبتی شده و تشکیل ساختار هایی با مقاومت بیشتر به آنزیم های گوارشی را تشدید می کند [۵]. میزان بخش های RDS، SDS و RS در نمونه های HMT-AH به ترتیب ۴۶/۱، ۳۲/۵ و ۲۱/۴ و در نمونه های HMT-USAH به ترتیب ۳۳/۵، ۲۹/۷ و ۳۶/۸ بود. همانطور که مشاهده می شود، کمترین میزان هضم پذیری در بین نمونه ها مربوط به نمونه های هیدرولیز اسیدی شده توسط فراصوت بود. تشدید واکنش های هیدرولیز اسیدی، نفوذ بیشتر سیتریک اسید به بخش های داخلی گرانول و تخریب انشعابات خارجی آمیلوپکتین به واسطه امواج فراصوت از جمله عواملی هستند که می توانند میزان نشاسته مقاوم نهایی تولید شده در طی فرایند حرارتی-رطوبتی را تحت تاثیر قرار دهند. هانگ و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که اعمال فرایند حرارتی-رطوبتی بر روی نشاسته های سیب زمینی شیرین هیدرولیز اسیدی شده توسط اسید های استیک، لاکتیک و سیتریک منتهی به افزایش قابل توجه محتوای نشاسته مقاوم می شود. لین و همکاران (۲۰۱۲) عنوان کردند که میزان نشاسته مقاوم در نشاسته های اصلاح شده به روش فرایند حرارتی-رطوبتی با درجه پلیمریزاسیون مولکول های نشاسته همبستگی معکوس دارد به طوری که نشاسته های هیدرولیز آنزیمی شده با درجه

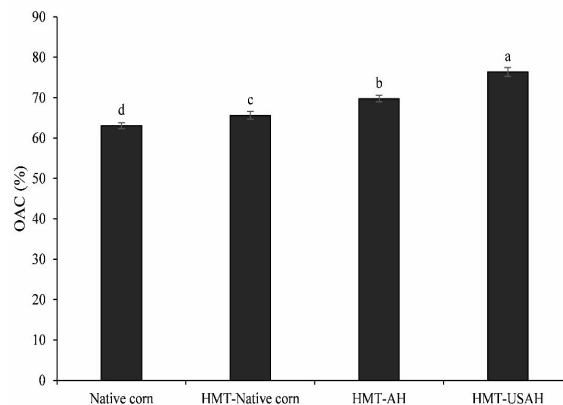


Fig 3 Oil absorption capacity (%) of different starch samples

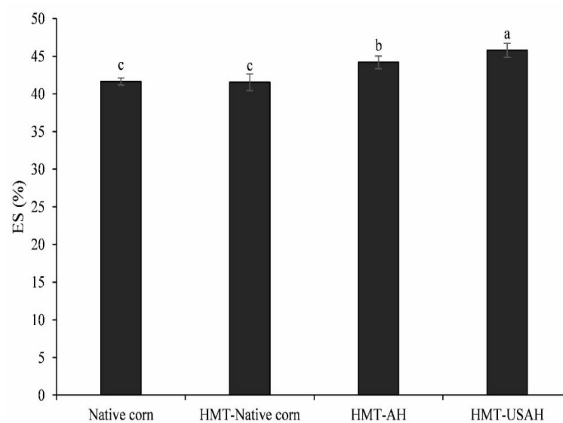


Fig 4 Emulsion stability (%) of different starch samples

۳-۴- هضم پذیری نشاسته

میزان نشاسته های قابل هضم (RDS)، نشاسته های با هضم کند (SDS) و نشاسته های مقاوم به هضم (RS) در شکل ۵ نشان داده شده است. در نشاسته طبیعی میزان بخش های RDS، SDS و RS به ترتیب ۵۶/۳، ۳۵/۴ و ۳/۸ درصد بود. که حاکی از هضم پذیری بالای نشاسته طبیعی دارد. اعمال فرایند حرارتی-رطوبتی، سبب افزایش معنی دار نشاسته مقاوم و کاهش میزان هضم پذیری نمونه گردید به طوری که در نمونه HMT-NC میزان RDS، SDS و RS به ترتیب ۵۵/۱، ۳۱/۷ و ۱۳/۲ بود. در طی فرایند حرارتی-رطوبتی، بخش های درونی گرانول های نشاسته از حالت شیشه ای به ویسکوالاستیک تغییر شکل می دهند. در این شرایط، بخش هایی با وزن مولکولی و حجم کمتر (به ویژه در مناطق آمورف)، قابلیت تحرک پیدا کرده و در ساختار هایی با نظم و پایداری بیشتر حضور پیدا می کنند. مولکول های

ترتیب ۶۳/۱، ۷۰/۱ و ۸۸/۵ بود. در دمای پایان ژلاتینه شدن، ساختار های کریستالی که بیشترین مقاومت را دارند، ذوب شده و به بخش های آمورف تبدیل می شوند، Tc بالاتر در نشاسته های HMT-USAH و HMT-AH حاکی از وجود ساختار های کریستالی با مقاومت بالا در این نشاسته ها است. از ویژگی های معمول در ترموگرام های نشاسته های HMT حضور پیک دوم می باشد. این پیک اغلب به صورت یک پیک کوچکتر در سمت راست پیک اصلی ظاهر شده و نشان دهنده ایجاد ساختار های کریستالی جدید با مقاومت حرارتی بالاتر است [۲۳]. همچنین میزان آنتالپی ژلاتینه شدن در نشاسته های کاهش آنتالپی ژلاتینه شدن در نشاسته های HMT-USAH و HMT-AH به ترتیب ۱۰/۳ و ۹/۴ بود. کاهش آنتالپی در نشاسته های HMT هیدرولیز اسیدی-HMT نشان دهنده این موضوع است که برخی از ساختار های کریستالی که از مقاومت حرارتی اندکی برخوردارند در طی اعمال حرارت های شدید فرایند حرارتی-رطوبتی، حذف شده اند.

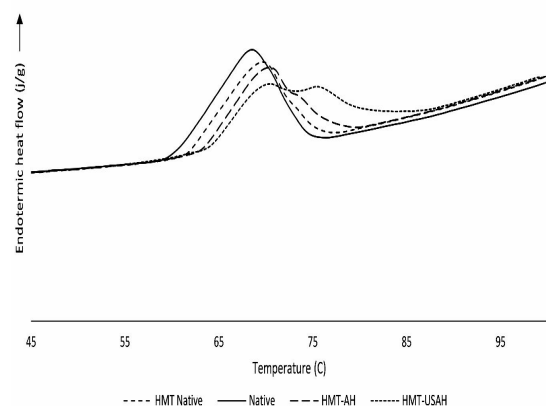


Fig 6 DSC thermograms of different starch samples

۶-۳- پراش اشعه ایکس

الگو های پراش اشعه ایکس نمونه های نشاسته طبیعی و نشاسته HMT-USAH در شکل ۷ نشان داده شده است. نشاسته طبیعی ذرت با پیک های ۱۵، ۱۷، ۱۸ و ۲۳، الگوی پراش اشعه ایکس نوع A که مشخصه نشاسته غلات است را نشان داد. در مقایسه با نمونه نشاسته طبیعی ذرت، نشاسته HMT-USAH نیز الگوی پراش اشعه ایکس مشابهی را نشان داد که حاکی از عدم تغییر الگوی کریستالی نشاسته در طی این اصلاح داشت. عدم تغییر الگوی پراش اشعه ایکس توسط سوی و

پلیمرزاسیون کمتر، محتوای نشاسته مقاوم بالاتری داشتند.

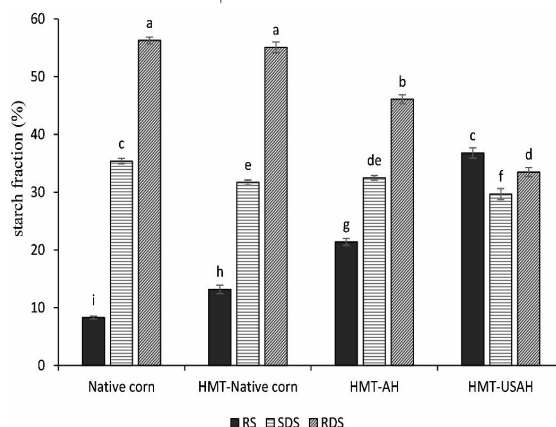


Fig 5 RDS, SDS and RS content of different starch samples

۳-۵- ویژگی های گرمایی

در طی حرارت دهی گرانول نشاسته در حضور آب اضافی در محیط، ساختار های کریستالی که عمدتاً متشکل از ساختار های منشعب آمیلوپکتینی هستند در طی یک فرایند گرماگیر به بخش های آمورف تبدیل می شوند. انرژی لازم جهت تبدیل ساختار های کریستالی نشاسته به بخش های بی شکل توسط آزمون گرماسنجی افتراقی قابل تعیین است. نتایج آزمون گرماسنجی افتراقی نمونه های نشاسته مورد مطالعه در این پژوهش در شکل ۵ نشان داده شده است. دمای آغاز، پیک و اتمام ژلاتینه شدن در نشاسته معمولی و نشاسته اصلاح شده توسط فرایند حرارتی-رطوبتی، به ترتیب ۵۹/۲، ۶۸/۵ و ۷۴/۴ و ۶۱/۲، ۶۹/۴ و ۷۷/۴ درجه سانتی گراد بود. اعمال فرایند حرارتی رطوبتی سبب افزایش معنی دار دمای ژلاتینه شدن گرانول گردید در حالی که آنتالپی ژلاتینه شدن نشاسته در طی این فرایند از ۱۱/۳ به ۱۰/۸ ژول بر گرم کاهش پیدا کرد. دمای ژلاتینه شدن نشان دهنده دمایی است که در آن ساختار های کریستالی گرانول ها به تدریج ذوب شده و بخش های بی شکل را تشکیل می دهند. ساختار های کریستالی منظم تر که در طی فرایند حرارتی-رطوبتی تشکیل شده اند مقاومت حرارتی بالاتری نشان داده و پیک ژلاتینه شدن گرانول را به دما های بالاتر منتقل می کنند. در نشاسته های هیدرولیز اسیدی شده افزایش بیشتر دمای ژلاتینه شدن مشاهده شد که این افزایش در مورد دمای پایان ژلاتینه شدن بسیار مشهود تر بود. دمای آغاز، پیک و پایان ژلاتینه شدن برای نشاسته HMT-AH ۶۲/۷، ۷۰/۷ و ۸۰/۲ و برای HMT-USAH به

شدن، قابلیت جذب روغن و قدرت امولسیون کنندگی بالاتری نسبت به نشاسته های معمولی بودند در حالی که میزان قدرت تورم و آنتالپی ژلاتینه شدن آن ها کاهش یافت.

۵- منابع

- [1] Haralampu, S.G. (2000). Resistant starch—a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers* 41, 285–292.
- [2] Zhang, H., and Jin, Z. (2011). Preparation of products rich in resistant starch from maize starch by an enzymatic method. *Carbohydrate polymers* 86, 1610–1614.
- [3] Gunaratne, A., and Hoover, R. (2002). Effect of heat–moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate polymers* 49, 425–437.
- [4] Klein, B., Pinto, V.Z., Vanier, N.L., da Rosa Zavareze, E., Colussi, R., do Evangelho, J.A., Gutkoski, L.C., and Dias, A.R.G. (2013). Effect of single and dual heat–moisture treatments on properties of rice, cassava, and pinhao starches. *Carbohydrate polymers* 98, 1578–1584.
- [5] Lin, J.-H., Singh, H., Wen, C.-Y., and Chang, Y.-H. (2011). Partial-degradation and heat–moisture dual modification on the enzymatic resistance and boiling-stable resistant starch content of corn starches. *Journal of Cereal Science* 54, 83–89.
- [6] Kim, J.-Y., and Huber, K.C. (2013). Heat–moisture treatment under mildly acidic conditions alters potato starch physicochemical properties and digestibility. *Carbohydr Polym* 98, 1245–1255.
- [7] Ozturk, S., Koksel, H., and Ng, P.K.W. (2011). Production of resistant starch from acid-modified amylopectin starches with enhanced functional properties. *Journal of Food Engineering* 103, 156–164.
- [8] Aparicio-Saguilán, A., Flores-Huicochea, E., Tovar, J., García-Suárez, F., Gutiérrez-Meraz, F., and Bello-Pérez, L.A. (2005). Resistant Starch-rich Powders Prepared by Autoclaving of Native and Lintnerized Banana Starch: Partial Characterization. *Starch/Stärke* 57, 405–412.
- [9] Koksel, H., Hacttepe U., Ozturk, S., Hacttepe U., Kahraman, K., Hacttepe U., Basman, A., Hacttepe U., Ozbas, O.O., Inonu U., and Ryu, G.H., Kongju N.U. (2008). Evaluation of molecular weight distribution, pasting and functional properties, and enzyme resistant

همکاران (۲۰۱۵) در نشاسته ذرت و کلین و همکاران (۲۰۱۳) در نشاسته برنج نیز گزارش شده است [۴،۲۴]. هرچند هوور و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند که الگوی پراش اشعه ایکس در نشاسته سبب زمینی، پس از اعمال فرایند حرارتی-رطوبتی از الگوی نوع B به نوع A تغییر می کند [۲۵]. همچنین در مقایسه با نشاسته طبیعی، شدت پیک های ۱۵، ۱۷، ۱۸ و ۲۳ در نشاسته اصلاح شده به روش HMT-USAH افزایش پیدا کرد. هوور و وستان (۱۹۹۴) نشان دادند که اعمال فرایند حرارتی-رطوبتی، سبب افزایش شدت پیک های ۱۵، ۱۷ و ۱۸ درجه در نشاسته های یولاف، سیب زمینی، عدس و گندم می شود. افزایش شدت پیک ها در نشاسته های لویا [۲۶] و نشاسته های یولاف، سیب زمینی، عدس و گندم [۲۵] گزارش شده است. در حالی که لیم و همکاران (۲۰۰۱) گزارشی مبنی بر کاهش شدت پیک ها در نشاسته سبب زمینی ارائه کردند [۲۷].

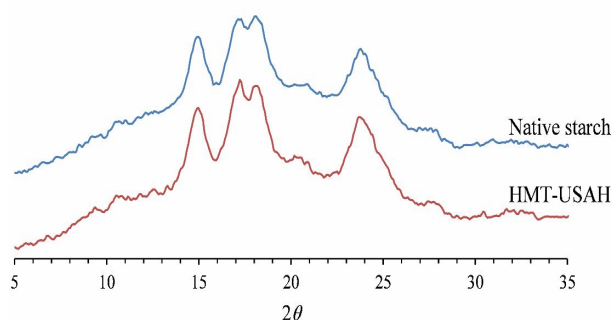


Fig 7 X-ray diffraction pattern of native and HMT-USAH starch samples

۴- نتیجه گیری کلی

فرایند های حرارتی-رطوبتی از جمله روش های فیزیکی اصلاح نشاسته هستند که ضمن تغییر در ویژگی های فیزیکی و شیمیایی نشاسته، میزان هضم پذیری نشاسته را نیز کاهش می دهند. در پژوهش حاضر نشان داده شد که اعمال پیش تیمار های هیدرولیز اسیدی در شرایط معمولی و یا با استفاده از فراصوت به طور قابل توجهی میزان نشاسته مقاوم تولید شده در مرحله فرایند حرارتی-رطوبتی را افزایش می دهند. نشاسته های اصلاح شده به روش فرایند حرارتی-رطوبتی-هیدرولیز اسیدی، بدون تغییر در الگوی پراش اشعه ایکس (الگوی نوع A) دارای حلالیت، دمای ژلاتینه

- [19] Jambrak, A.R., Herceg, Z., Šubarić, D., Babić, J., Brnčić, M., Brnčić, S.R., Bosiljkov, T., Čvek, D., Tripalo, B., and Gelo, J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers* 79, 91–100.
- [20] Zhang, Y., Zeng, H., Wang, Y., Zeng, S., and Zheng, B. (2014). Structural characteristics and crystalline properties of lotus seed resistant starch and its prebiotic effects. *Food Chemistry* 155, 311–318.
- [21] Huang, T.-T., Zhou, D.-N., Jin, Z.-Y., Xu, X.-M., and Chen, H.-Q. (2015). Effect of debranching and heat-moisture treatments on structural characteristics and digestibility of sweet potato starch. *Food chemistry* 187, 218–224.
- [22] Babu, A.S., Parimalavalli, R., Jagannadham, K., and Rao, J.S. (2015). Chemical and structural properties of sweet potato starch treated with organic and inorganic acid. *Journal of food science and technology* 52, 5745–5753.
- [23] Chung, H.-J., Liu, Q., and Hoover, R. (2009). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers* 75, 436–447.
- [24] Sui, Z., Yao, T., Zhao, Y., Ye, X., Kong, X., and Ai, L. (2015). Effects of heat-moisture treatment reaction conditions on the physicochemical and structural properties of maize starch: Moisture and length of heating. *Food Chemistry* 173, 1125–1132.
- [25] Hoover, R., and Vasanthan, T. (1994). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. *Carbohydr. Res.* 252, 33–53.
- [26] Lawal, O.S., and Adebawale, K.O. (2005). An assessment of changes in thermal and physico-chemical parameters of jack bean (*Canavalia ensiformis*) starch following hydrothermal modifications. *European Food Research and Technology* 221, 631–638.
- [27] Lim, S.-T., Chang, E.-H., and Chung, H.-J. (2001). Thermal transition characteristics of heat-moisture treated corn and potato starches. *Carbohydrate polymers* 46, 107–115.
- starch content of acid-modified corn starches. *Food Science and Biotechnology* 10, 691, 403–411.
- [10] Nasrin, T.A.A., and Anal, A.K. (2014). Resistant starch III from culled banana and its functional properties in fish oil emulsion. *Food Hydrocolloids* 35, 403–409.
- [11] Tian, Y., Zhu, Y., Bashari, M., Hu, X., Xu, X., and Jin, Z. (2013). Identification and releasing characteristics of high-amylose corn starch-cinnamaldehyde inclusion complex prepared using ultrasound treatment. *Carbohydrate Polymers* 91, 586–589.
- [12] Kang, N., Zuo, Y.J., Hilliou, L., Ashokkumar, M., and Hemar, Y. (2016). Viscosity and hydrodynamic radius relationship of high-power ultrasound depolymerised starch pastes with different amylose content. *Food Hydrocolloids* 52, 183–191.
- [13] Chen, J.W., and Kalback, W.M. (1967). Effect of Ultrasound on Chemical Reaction Rate. *Ind. Eng. Chem. Fund.* 6, 175–178.
- [14] Paz, J.E.W., Márquez, D.B.M., Ávila, G.C.M., Cerda, R.E.B., and Aguilar, C.N. (2015). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from native plants in the Mexican desert. *Ultrasonics sonochemistry* 22, 474–481.
- [15] Babu, S.G., Neppolian, B., and Ashokkumar, M. (2015). Ultrasound-Assisted Synthesis of Nanoparticles for Energy and Environmental Applications. In *Handbook of ultrasonics and sonochemistry* (Springer), pp. 1–34.
- [16] McCleary, B.V., McNally, M., and Rossiter, P. (2002). Measurement of resistant starch by enzymatic digestion in starch and selected plant materials: collaborative study. *J AOAC Int* 85, 1103–1111.
- [17] Mohammad Amini, A., and Razavi, S.M.A. (2015). Ultrasound-assisted acid-thinning of corn starch: Morphological, physicochemical, and rheological properties. *Starch - Stärke* 67, 640–653.
- [18] Ashwar, B.A., Gani, A., Wani, I.A., Shah, A., Masoodi, F.A., and Saxena, D.C. (2016). Production of resistant starch from rice by dual autoclaving-retrogradation treatment: Invitro digestibility, thermal and structural characterization. *Food Hydrocolloids* 56, 108–117.

Effect of ultrasound assisted acid hydrolysis in combination with heat moisture treatment on digestibility and physicochemical properties of corn starch

Falsafi, S. R. ¹, Maghsoudlou, Y. ^{2*}, Mehran Alami ³, Jafari, S. M. ³, Reisi, M. ⁴

1. Ph.D. student, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan university of agriculture and natural resources, Gorgan, Iran.
2. Professor, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan university of agriculture and natural resources, Gorgan, Iran.
3. Associate professor, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan university of agriculture and natural resources, Gorgan, Iran.
4. Assistant professor, Cereal Health Research Center, Golestan University of Medical Science, Gorgan, Iran.

(Received: 2018/02/17 Accepted:2018/09/04)

In this research the production of resistant starch (RS) from normal corn starch using heat moisture treatment (HMT) in combination with ultrasound assisted acid hydrolysis (HMT-USAH) or conventional acid hydrolysis (HMT-AH) was studied. USAH was carried out as follow: starch sample was suspended in 10% citric acid for 45 min at 45 °C under sonication (400 W, 20 kHz). AH starch was prepared similarly while no sonication was applied. Subsequently, USAH, AH and native starch were heat moisture treated at 120 °C at 30% moisture content for 8 hours. Resistant starch content of starch samples were increased from 8.3% in control sample to 13.2, 21.4 and 36.8 for HMT-native, HMT-AH and HMT-USAH samples. HMT-acid hydrolysis methods reduced the swelling power and gelatinization enthalpy of starch samples while, solubility, oil absorption, emulsion stability and gelatinization temperatures were enhanced. X-ray diffraction results revealed that HMT-USAH didn't change the diffraction pattern of native starch.

Keyword: Resistant starch, Heat-moisture treatment, Ultrasound, Acid hydrolysis

*Corresponding Author E-Mail Address: y.maghsoudlou@gau.ac.ir