

Xác định khả năng hạn chế tăng đường huyết sau ăn và chuyển hóa của tinh bột mì acetat trên chuột nhắt khỏe mạnh

Thái Khoa Bảo Châu, Nguyễn Hữu Tiến, Trần Hữu Dũng
Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Huế, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Ngày nay, tinh bột đề kháng (resistant starch - RS) được quan tâm như một loại thực phẩm chức năng làm hạn chế sự tăng đường máu sau ăn và hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường. Hiện nay, nhóm nghiên cứu chúng tôi đã bán tổng hợp tinh bột lúa mì acetylated (TBAC) để hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường, đó là RS4 được hình thành do sự biến đổi cấu trúc hóa học. TBAC đã được chứng minh cho thấy khả năng chống lại sự thủy phân của enzyme amylase trong thử nghiệm *in vitro* cũng như an toàn trong *in vivo*. **Phương pháp nghiên cứu:** Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiếp tục đánh giá khả năng của TBAC hạn chế sự gia tăng glucose máu sau ăn và xác định các acid béo chuỗi ngắn (short-chain fatty acids - SCFA) được chuyển hóa từ TBAC trong đường tiêu hóa của chuột khỏe mạnh bằng HPLC. **Kết quả:** Lô chuột được cho ăn TBAC biểu hiện mức tăng đường huyết rất hạn chế và duy trì ổn định trong 2 giờ sau bữa ăn so với nhóm đối chứng được cho ăn tinh bột lúa mì tự nhiên (TBTN). Đồng thời, hàm lượng SCFA được tạo ra trong manh tràng của lô chuột ăn TBAC cao hơn đáng kể so với lô chuột được nuôi bằng TBTN, đặc biệt là acid acetic và propionic lần lượt là 28% và 26%. **Kết luận:** TBAC đã cho thấy hạn chế tăng đường huyết sau ăn ở chuột một cách hiệu quả thông qua khả năng chống thủy phân amylase ở ruột non. Khi đi vào manh tràng, nó được lên men để tạo thành SCFA cung cấp một phần năng lượng cho các hoạt động của cơ thể, tránh lên men thối gây ra rối loạn tiêu hóa, vốn là những hạn chế vốn có của thực phẩm giàu chất xơ và cellulose thông thường.

Từ khóa: tinh bột lúa mì acetyl hóa, tinh bột lúa mì tự nhiên, SCFA, đường huyết.

Abstract

Determination the limit of postprandial blood glucose increase and the metabolism of acetylated wheat starch on healthy mice

Thai Khoa Bao Chau, Nguyen Huu Tien, Tran Huu Dung
Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Introduction: Nowadays, resistant starches are interested as a supplement food by effecting on the limit of postprandial blood glucose increase and supporting for the diabetes treatment. Recently, we have semi-synthesized the acetylated wheat starch (AWS) oriented for supporting the treatment of diabetes mellitus, which is the RS4 formed by chemical structure modification. AWS has been proved itself to show strong resistance to amylase activity *in-vitro* as well as to be safety *in-vivo*. **Materials and Methods:** In this study, we continued to evaluate AWS's ability to limit postprandial blood glucose increase and determined short-chain fatty acids (SCFAs) metabolized from AWS in the gastrointestinal tract of healthy mice by HPLC. **Results:** the mice fed AWS exhibited a very limited increase in blood glucose levels and remained stable for 2 hours after meals comparing with the control group (mice fed natural wheat starch) (NWS). Simultaneously, the content of SCFAs produced in the caecum of the mice fed AWS was significantly higher than mice fed NWS, especially with acetic and propionic acids by 28% and 26%, respectively. **Conclusion:** AWS has been shown to limit postprandial hyperglycemia in mice effectively through the resistance to amylase hydrolysis in the small intestine. When going into the caecum, it is fermented to form SCFAs that provide a part of the energy for the body's activities and to avoid rotten fermentation causing digestive disorders, which are inherent restrictions of normal high cellulose and fiber food.

Keywords: acetylated wheat starch, natural wheat starch, SCFA, blood glucose.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) đang thực sự là mối lo ngại đối với xã hội hiện nay bởi tốc độ gia tăng nhanh chóng trên toàn thế giới. Theo nghiên cứu của Cục Quản lý Khám chữa bệnh Việt Nam, tính đến năm 2015, số lượng bệnh nhân mắc bệnh ĐTĐ ở độ tuổi trưởng thành là 3,5 triệu người, chiếm 6% dân số của nước ta và ước tính đến năm 2040 có khoảng 6,1 triệu người mắc bệnh ĐTĐ. Đây là mối đe dọa tiềm ẩn cho các bệnh rối loạn nội tiết và các bệnh tim mạch. Trong các phác đồ điều trị bệnh ĐTĐ, ngoài phương pháp dùng thuốc thì việc điều chỉnh lối sống và chế độ dinh dưỡng đóng vai trò rất quan trọng. Ngày nay, bên cạnh các khuyến cáo hạn chế hầu hết lượng tinh bột tiêu thụ ở bệnh nhân ĐTĐ, các nhà dinh dưỡng học trên thế giới đang hướng đến tìm kiếm những thực phẩm đảm bảo cung cấp năng lượng cho hoạt động hằng ngày mà không làm tăng cao mức đường huyết sau ăn trên bệnh nhân, và tinh bột đề kháng, một loại thực phẩm có tác dụng đề kháng với các enzyme phân cắt tinh bột thành đường đơn ở ruột non, là một trong những sự lựa chọn và được nhiều nghiên cứu hiện nay hướng đến.

Trên thế giới đã có nhiều công trình nghiên cứu về tinh bột đề kháng (RS) và đã khẳng định được vai trò của loại tinh bột này nhờ vào tác dụng đề kháng với enzyme amylase nên không được tiêu hóa và hấp thu ở ruột non, góp phần hạn chế đáng kể sự gia tăng đột ngột đường huyết trên *in-vitro*, *in-vivo* cũng như trên lâm sàng (clinical trial). Không những vậy, sau khi rời khỏi ruột non, RS sẽ được lên men tạo thành các acid béo chuỗi ngắn (SCFAs), đây là những acid béo hữu cơ có cấu trúc từ 1-6 carbon và có thể tồn tại ở dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Sau khi được tái hấp thu vào tuần hoàn, sự hiện diện của các acid béo chuỗi ngắn này góp phần không nhỏ vào cung cấp năng lượng cho cơ thể cũng như những ảnh hưởng lên chỉ số glucose máu trên bệnh nhân ĐTĐ. Do vậy, năm 2016 FDA đã công nhận và cho phép sử dụng một số RS làm thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị cho bệnh nhân ĐTĐ [16].

Tuy nhiên, các nghiên cứu trong nước về RS vẫn còn rất hạn chế. Năm 2015, Trần Hữu Dũng và cộng sự đã bắt đầu thực hiện nghiên cứu bán tổng hợp tinh bột mì acetat định hướng dùng trong hỗ trợ điều trị ĐTĐ. Loại tinh bột này đã xác định được các đặc tính lý hóa cũng như các phân đoạn dinh dưỡng. Đây là loại tinh bột đề kháng RS₄ được hình thành do biến đổi cấu trúc hóa học và có khả năng đề kháng với enzyme amylase rất rõ rệt trên *in-vitro* [2]. Tiếp theo nhóm nghiên cứu của Trần Hữu Dũng tiếp tục tiến hành thử nghiệm độc tính cấp và độc tính mãn trên chuột thí nghiệm và đã khẳng định

được sự an toàn của loại tinh bột này trên *in-vivo*. Với mong muốn nghiên cứu sâu hơn về sự cải thiện chỉ số glucose máu sau khi ăn trên cơ thể sống của tinh bột mì acetat trong định hướng hỗ trợ điều trị bệnh ĐTĐ, đồng thời xác định sự chuyển hóa của loại tinh bột này sau khi thoát khỏi sự tiêu hóa của ruột non liệu có chuyển hóa tạo ra những acid béo chuỗi ngắn hay được đào thải nguyên vẹn trong đường tiêu hóa như nhóm chất xơ không hòa tan (cellulose), nhóm nghiên cứu tiếp tục thực hiện đề tài này với các mục tiêu gồm đánh giá tác dụng hạn chế tăng đường huyết sau ăn và xác định các acid béo chuỗi ngắn được chuyển hóa từ tinh bột mì acetat trong đường tiêu hóa của chuột thí nghiệm bằng phương pháp HPLC.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Mẫu tinh bột mì tự nhiên (TBTN) được tạo thành bằng cách tinh chế và loại tạp bột lúa mì của Công ty trách nhiệm hữu hạn bột mì Meizan; tinh bột mì acetat (TBAC) được tạo thành bằng phương pháp acetyl hóa bởi tác nhân anhydrid acetic 9% trong 150 phút ở nhiệt độ phòng và luôn duy trì pH môi trường trong khoảng 8 - 8,4. Tinh bột mì acetat có hàm lượng acetyl là 2,42%, chứa hàm lượng tinh bột tiêu hóa nhanh (RDS) là 25,03%, tinh bột tiêu hóa chậm (SDS) là 22,85% và tinh bột đề kháng (RS) là 34,54% [2].

Chuột nhắt trắng đực thuần chủng dòng Swiss, có thể trọng 20-24g, trưởng thành, khỏe mạnh. Chuột được nuôi một tháng để thích nghi với môi trường thí nghiệm.

2.2. Xác định khả năng hạn chế tăng glucose máu sau ăn của TBAC trên chuột thí nghiệm

Chọn 18 cá thể chuột nhắt trắng đực thuần chủng dòng Swiss, có thể trọng 20-24g. Mỗi con được đánh dấu, phân thành 3 lô ngẫu nhiên, mỗi lô 6 con dùng cho nghiên cứu. Các lô chuột nhịn đói qua đêm 16h trước khi thử nghiệm. Cho các lô chuột ăn 1 lần duy nhất mỗi loại huyền phù tinh bột (loại I; II; III) liều 5g/kg bằng đường bơm mẩu xuống thực quản chuột với kim đầu tù lần lượt:

- Lô 1: cho ăn huyền phù I (phân tán 0,48g TBTN trong 1ml nước cất);
- Lô 2: cho ăn huyền phù II (phân tán 0,24g TBTN và 0,24g TBAC trong 1ml nước);
- Lô 3: cho ăn huyền phù III (phân tán 0,48g TBAC trong 1 ml nước).

Sau đó, máu toàn phần được lấy từ đuôi chuột tại thời điểm trước ăn và các thời điểm 30, 60, 90, 120 phút sau ăn để xác định nồng độ glucose máu bằng

máy đo đường huyết tự động Accu Check Performa (Roche, Đức). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần nhằm xác định các giá trị trung bình, sự khác biệt. So sánh giữa các nhóm dùng ANOVA test, so sánh trong cùng nhóm tại 2 thời điểm trước sau thử nghiệm dùng pair t – test, độ tin cậy 95%.

2.3. Xác định hàm lượng các SCFA tại các phân đoạn đường ruột của chuột thí nghiệm

Chuột nhắt trắng đực thuần chủng dòng Swiss khỏe mạnh, trọng lượng 20-24g, 10 tuần tuổi, chuột được phân thành ngẫu nhiên 2 lô, mỗi lô 8 con (Lô TN và Lô AC). Hàng ngày cho các chuột mỗi lô ăn mỗi huyền phù tinh bột khác nhau bằng đường bơm mẫu xuống thực quản chuột thí nghiệm với kim đầu tù lần lượt:

- Lô TN: cho ăn huyền phù chứa TBTN 2 lần/ngày (liều 5g/kg mỗi buổi sáng và chiều).

- Lô AC: cho ăn huyền phù chứa TBAC 2 lần/ngày (liều 5g/kg mỗi buổi sáng và chiều).

Chuột được nuôi liên tục trong 21 ngày, thức uống là sữa Vinamilk và nước lọc cho uống tự do. Đến ngày 21 tiến hành gây mê, mổ chuột thí nghiệm để thu được các phân đoạn chất chuyển hóa trên đường tiêu hóa chuột bao gồm tá tràng, hồi manh tràng và đại tràng. Các mẫu này được

xác định hàm lượng các SCFA bằng phản ứng tạo dẫn xuất hydrazide với 1-EDC-HCl (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride), 2-NPH-HCl (2-nitrophenyl-hydrazine hydrochloride) trong pyridin và phân tích trên HPLC với cột Agilent Eclipse XDB-C8 (150 x 4,6 mm, 5 μ m) ở 40°C, pha động gồm MeOH - ACN - đệm TFA 0,057 mM (pH 4,5) với gradient thay đổi theo thời gian: 0:13:87 (0 - 9 phút) - 10:20:70 (10 - 35 phút) - 0:13:87 (36 - 40 phút). Tốc độ dòng là 1,4 ml/phút, thể tích tiêm mẫu là 20 μ l, bước sóng phát hiện tại 396 nm. Chất nội chuẩn là acid 2-ethylbutyric [1].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xác định khả năng hạn chế tăng glucose máu sau ăn của TBAC trên chuột thí nghiệm

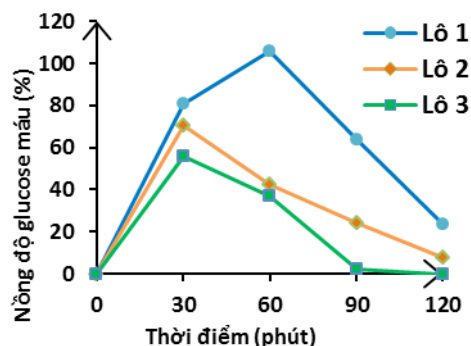
Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của các khẩu phần ăn chứa TBAC và TBTN lên chỉ số đường huyết sau khi ăn trên chuột nhắt trắng được trình bày ở *Bảng 1*. Các giá trị glucose máu trung bình được lấy từ ba lô chuột (n=6) cho ăn các chất thử nghiệm gồm TBAC, TBTN và hỗn hợp tinh bột TN/AC với tỉ lệ 50/50 tại các thời điểm 0 phút (trước khi dùng chất thử nghiệm), 30, 60, 90, 120 phút sau khi dùng chất thử nghiệm bằng máy đo đường huyết.

Bảng 1. Nồng độ glucose máu ở các lô chuột thử nghiệm theo thời gian

	Thời điểm (phút)	Lô 1	Lô 2	Lô 3	ANOVA test
Nồng độ glucose máu (mmol/l)	0	8,0 $\pm$ 1,6	9,1 $\pm$ 2,3	7,6 $\pm$ 1,7	p > 0,05
	30	14,3 $\pm$ 2,1	15,5 $\pm$ 1,6	11,5 $\pm$ 0,4	p > 0,05
	60	16,1 $\pm$ 0,7	12,9 $\pm$ 1,8	10,3 $\pm$ 2,1	p < 0,05
	90	12,9 $\pm$ 1,6	11,3 $\pm$ 3,1	7,7 $\pm$ 1,9	p < 0,05
	120	9,9 $\pm$ 0,8	9,8 $\pm$ 1,5	7,6 $\pm$ 1,7	p > 0,05

Từ kết quả thử nghiệm cho thấy, nồng độ glucose máu tại thời điểm trước khi cho ăn không có sự khác biệt đáng kể (p > 0,05). Tuy nhiên, nồng độ glucose máu tại thời điểm sau khi ăn tại 60 phút và 90 phút của lô cho ăn TBAC (tương ứng với 10,30 và 7,7 mmol/l) thấp hơn rõ rệt so với lô cho ăn TBTN (tương ứng với 16,1 và 12,9 mmol/l) (p < 0,05). Điều này đã góp phần làm rõ hơn khả năng đề kháng sự thủy phân của amylase trong nhóm chuột cho ăn TBAC, dẫn đến sự hạn chế rất tốt trong việc gây tăng glucose máu.

Để minh họa rõ hơn sự biến thiên đường huyết trước và sau ăn, các số liệu ở *Bảng 1* được quy đổi về phần trăm tăng glucose máu sau 30, 60, 90 và 120 phút so với glucose máu lúc đói được thể hiện ở đồ thị *Hình 1*.



Hình 1. Đồ thị khảo sát sự thay đổi chỉ số glucose máu trước và sau bữa ăn của các lô chuột

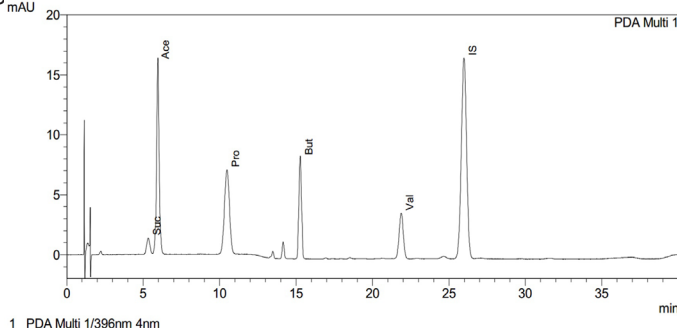
Đồ thị cho thấy nồng độ glucose máu tại các thời điểm sau ăn của lô cho ăn TBAC và lô cho ăn AC/TN biến thiên hầu như không đáng kể so với sự tăng hay giảm rất lớn nồng độ glucose máu ở lô cho ăn TBTN, được thể hiện rất rõ ở độ dốc rất lớn trên đường biến thiên. Cụ thể, tại thời điểm 30 phút của lô cho ăn tinh bột AC và lô cho ăn hỗn hợp AC/TN, nồng độ glucose tăng cao nhất (55,8% và 70,5%) nhưng vẫn thấp hơn so với lô ăn TBTN (80,9%) dù khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tuy nhiên sau đó nồng độ glucose máu đã giảm dần về 60 phút (tương ứng với 36,7% và 42,3%) và sau 90 phút hầu như tương đương với nồng độ glucose lúc đói. Trong khi nồng độ glucose máu ở lô cho ăn TBTN tiếp tục tăng cao và đạt đỉnh tại 60 phút (106%) và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Như vậy, khẩu phần ăn chứa TBAC giúp hạn chế gia tăng đột ngột nồng độ glucose máu trên chuột thí nghiệm so với lô có chứa khẩu phần có TBTN. Nguyên nhân là do tinh bột mì acetat có chứa hàm lượng tinh bột tiêu hóa nhanh RDS là 25,0%, tinh bột tiêu hóa chậm SDS là 22,8% và tinh bột đề kháng RS là 34,5%. Loại tinh bột này chứa tỉ lệ RDS và SDS thấp hơn, trong khi lại chứa tỷ lệ RS cao hơn nhiều so với TBTN. Hàm lượng RS cao đồng nghĩa với việc phần carbohydrat bị thủy phân với enzyme amylase thấp. Khả năng kháng lại sự thủy phân của enzyme làm cho sự hấp thu glucose ở ruột non ở mức độ chậm và ở qui mô nhỏ (chủ yếu ở sự thủy phân của

RDS và SDS), làm cho mức đường huyết sau khi ăn TBAC tăng lên từ từ và giảm xuống một cách chậm rãi và sự thay đổi này hầu như không đáng kể so với sự biến thiên đột ngột nồng độ glucose máu ở khẩu phần ăn chứa TBTN, qua đó sự bài tiết insulin được điều chỉnh thích hợp hơn, góp phần cải thiện độ nhạy cảm của insulin. Điều này chứng minh tinh bột mì acetat có khả năng điều hòa đường huyết rất tốt. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Shimotoyodome (2009) thực hiện trên nhóm chuột có chế độ ăn giàu chất béo, nồng độ glucose máu theo dõi trong suốt 120 phút ở nhóm chuột ăn tinh bột bắp biến tính RS₄ thấp hơn rất nhiều so với nhóm chuột ăn tinh bột bắp tự nhiên. Ngoài ra, nghiên cứu cũng chứng minh được rằng lượng insulin tiết ra để điều hòa mức đường huyết của nhóm chuột ăn RS₄ cũng thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chuột ăn tinh bột bắp [13].

3.2. Xác định hàm lượng các SCFA tại các phân đoạn đường ruột của chuột thí nghiệm

Các acid béo chuỗi ngắn (SCFA) được tạo ra bởi sự lên men của các vi sinh vật yếm khí trong phần ruột già của đường tiêu hóa là chủ yếu. Sau khi tạo dẫn xuất hydrazide trong pyridin và phân tích trên HPLC thu được sắc ký đồ như Hình 2, hàm lượng các SCFA bao gồm acid succinic, acid acetic, acid propionic, acid butyric và acid valeric trong các phân đoạn đường ruột chuột trong mỗi lô chuột cho ăn TBTN (Lô 1) và TBAC (Lô 2) được thể hiện trong Bảng 2.

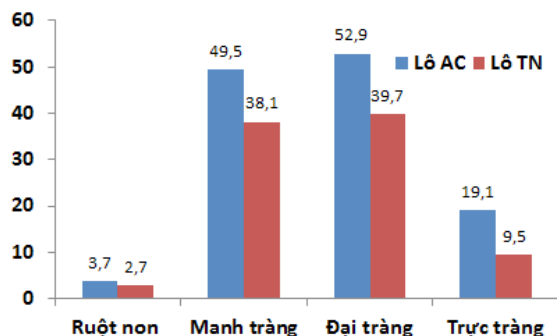


Hình 2. Sắc ký đồ các dẫn xuất hydrazide của acid succinic, acetic, propionic, butyric và valeric trong phân chuột sau khi ăn TBAC

Bảng 2. Hàm lượng SCFA trong các phân đoạn tiêu hóa ở chuột ăn TBTN và TBAC

SCFA(umol/g)		Suc.	Ace.	Pro.	But.	Val.	Tổng SCFA
Lô TN	Ruột non	0,7 ± 2,3	1,7 ± 2,7	0,23 ± 2,6	0,1 ± 3,2	0,0	2,7 ± 2,6
	Manh tràng	0,9 ± 3,6	29,6 ± 1,9	5,2 ± 1,7	2,3 ± 2,7	0,1 ± 0,4	38,1 ± 2,8
	Đại tràng	0,7 ± 2,8	33,5 ± 4,3	4,0 ± 1,3	1,5 ± 2,8	0,1 ± 0,3	39,8 ± 3,0
	Trực tràng	0,02 ± 1,3	7,2 ± 3,7	1,9 ± 1,0	0,3 ± 1,6	0,1 ± 0,3	9,52 ± 1,2
Lô AC	Ruột non	0,3 ± 1,7	3,0 ± 0,8	0,2 ± 1,8	0,1 ± 1,2	0,0	3,6 ± 0,5
	Manh tràng	2,7 ± 1,9	37,8 ± 2,7	6,5 ± 2,1	2,4 ± 1,8	0,1 ± 0,3	49,5 ± 1,8
	Đại tràng	1,5 ± 0,5	42,0 ± 1,9	6,2 ± 2,3	3,1 ± 2,7	0,1 ± 0,2	52,9 ± 1,2
	Trực tràng	0,2 ± 2,6	14,4 ± 0,9	3,6 ± 1,9	0,9 ± 3,1	0,1 ± 0,3	19,2 ± 1,6

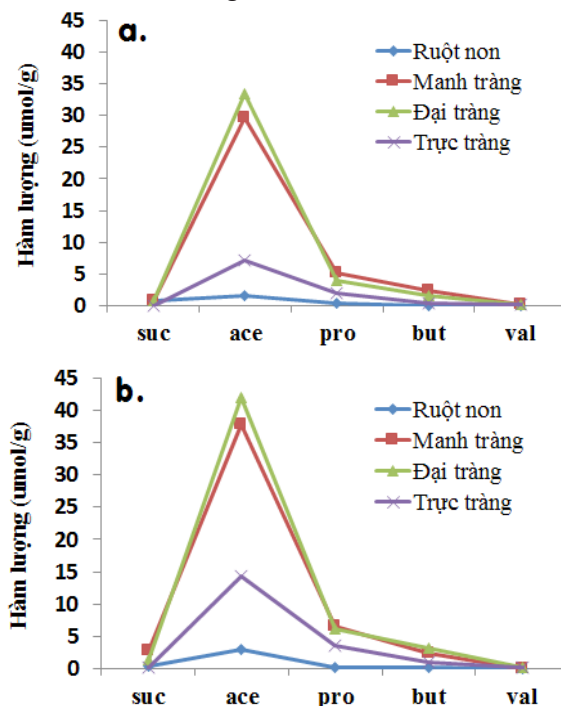
Để nhìn nhận rõ hơn nữa về sự ảnh hưởng giữa hai chế độ ăn khác nhau đến hàm lượng SCFA ở mỗi nhóm chuột, cũng như sự thay đổi tổng hàm lượng các SCFA trong các phân đoạn đường ruột chuột, các số liệu về tổng hàm lượng SCFA ở mỗi phân đoạn tiêu hóa của chuột trên các lô thí nghiệm được biểu diễn trong biểu đồ ở Hình 3.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn tổng hàm lượng SCFA trên các phân đoạn ruột của hai lô chuột sau 21 ngày cho ăn các loại tinh bột TN và AC

Từ đồ thị cho thấy đã có sự biến thiên hàm lượng các SCFA trên cả hai lô chuột ăn TBTN và TBAC rất lớn trong các phân đoạn ruột tiêu hóa. Ban đầu, hàm lượng các SCFA được xác định ở phân đoạn ruột non hầu như không đáng kể. Nhưng đến phân đoạn manh tràng và đại tràng, hàm lượng các SCFA đã có sự gia tăng rất lớn. Tuy nhiên sau đó đến trực tràng, hàm lượng SCFA lại có sự giảm đáng kể ($p < 0,05$) so với ở các phân đoạn trước. Điều đó cho thấy rằng các SCFA không phải sẵn có trong nguồn thức ăn, cũng như không được tạo ra tại ruột non mà được tạo ra từ sự chuyển hóa của tinh bột tại manh tràng và đại tràng dưới sự lên men của vi khuẩn yếm khí. Đồng thời, đã có sự tái hấp thu của các SCFA này ngay trong phần đại tràng xa và trực tràng, thể hiện rõ bởi sự suy giảm hàm lượng các SCFA trong trực tràng. Kết quả nghiên cứu này có giá trị chứng minh rõ nhận định ban đầu là SCFA, sản phẩm được tạo ra từ sự lên men yếm khí của tinh bột trong manh tràng và đại tràng, được tái hấp thu ở trực tràng nhằm cung cấp một phần năng lượng đáng kể cho sự hoạt động đường ruột và các nguồn vi khuẩn đường ruột cũng như cho các hoạt động của cơ thể sống. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Govers và cộng sự (1999) khi thử nghiệm trên lợn với các khẩu phần ăn chứa RS_2 nồng độ các SCFAs ở manh tràng và đại tràng gần được tạo ra cao hơn đáng kể so với nồng độ SCFAs ở hồi tràng, sau đó nồng độ SCFAs giảm đáng kể ở đại tràng xa [7]. Ngoài ra, nghiên cứu của Le Leu và cộng sự (2006) cũng tiến hành trên chuột cống thí nghiệm khi so sánh giữa các khẩu phần

ăn chứa tinh bột ngô hàm lượng amylose cao với các tỷ lệ khác nhau cũng cho kết quả tương tự rằng SCFA được tạo nhiều nhất từ manh tràng và giảm dần trong các phân đoạn đường tiêu hóa sau đó [8]. Đồng thời, sự biến thiên của hàm lượng mỗi SCFA ở mỗi phân đoạn tiêu hóa chuột của các lô thí nghiệm được biểu diễn trong biểu đồ ở Hình 4.



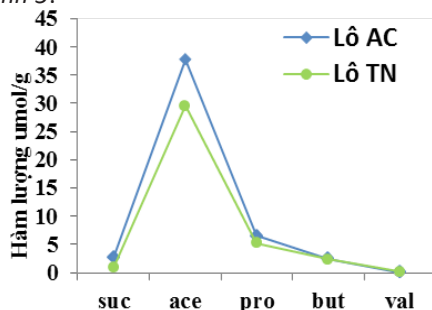
Hình 4. Hàm lượng SCFA trong các phân đoạn đường ruột ở chuột ăn TBTN (a) và TBAC (b)

Từ kết quả đã cho thấy rằng acid acetic, acid propionic, acid butyric vẫn chiếm tỷ lệ lớn so với tổng SCFA được tạo ra ở manh tràng (chiếm khoảng 90-95%) mặc dù ở hai khẩu phần ăn hoàn toàn khác nhau trong đó acid acetic chiếm tỷ lệ lớn nhất (76 - 77%), tiếp theo là acid propionic (13%) và acid butyric (5 - 6%). Nguyên nhân là do mặc dù các vi sinh vật tồn tại ở trong suốt đường tiêu hóa của chuột thí nghiệm rất đa dạng nhưng trong số đó ngành Bacteroidetes - chịu trách nhiệm lên men tạo ra nhiều acid acetic và acid propionic và ngành Firmicutes - lên men tạo ra acid butyric là chiếm chủ yếu trong quần thể vi sinh vật đó [12].

Đồng thời, cũng từ sự biến thiên hàm lượng SCFA trên các lô chuột thử nghiệm ở Hình 3 và Hình 4 cho thấy tổng hàm lượng SCFA ở nhóm chuột cho ăn TBAC đều cao hơn trên nhóm chuột cho ăn TBTN tương ứng ở mỗi phân đoạn tiêu hóa trong ruột già. Nguyên nhân là do mỗi chế độ ăn khác nhau sẽ trực tiếp ảnh hưởng sự đa dạng của quần thể vi sinh vật trong ruột già của chuột thí nghiệm và

dẫn đến lượng acid béo chuỗi ngắn được tạo ra ở manh tràng là khác nhau. Thêm vào đó, tinh bột mì acetat có chứa hàm lượng tinh bột đề kháng RS là 34,5% cao hơn rất nhiều so với tinh bột tự nhiên nên lượng carbohydrate đề kháng sự tiêu hóa của enzyme amylase cũng cao hơn nhiều, do đó lượng carbohydrate ở manh tràng làm “thức ăn” cho hệ vi sinh vật yếm khí nhiều hơn. Điều đó càng khẳng định rằng khẩu phần ăn chứa TBAC có khả năng tạo ra nhiều SCFA hơn khẩu phần ăn chứa TBTN. Kết quả nghiên cứu của Le Thanh (2014) được tiến hành trên chuột cống thí nghiệm cũng cho kết quả tương tự về hàm lượng SCFA ở manh tràng của khẩu phần ăn chứa tinh bột acetat được biến tính từ khoai lớn hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng cho ăn tinh bột khoai tự nhiên. Bên cạnh đó, tỷ lệ giữa các acid béo chuỗi ngắn tạo ra ở manh tràng cũng tương tự so với kết quả của nhóm nghiên cứu acid acetic, acid propionic, acid butyric tương ứng 73:13:13 trên nhóm chứng và 74:19:7 trên nhóm cho ăn RS_4 [9].

Để minh họa rõ hơn sự chênh lệch khác biệt giữa tỷ lệ mỗi SCFA giữa lô chuột cho ăn TBAC so với lô ăn TBTN, sự biến thiên hàm lượng mỗi SCFA ở phân đoạn manh tràng được biểu diễn trong biểu đồ Hình 5.



Hình 5. Đồ thị biểu diễn hàm lượng các SCFA ở manh tràng của hai lô chuột cho ăn các loại tinh bột TN và AC

Kết quả cho thấy, nhóm chuột cho ăn TBAC có hàm lượng tổng SCFA cao hơn so với nhóm ăn TBTN, đặc biệt rõ nhất là acid acetic cao hơn 28%, acid propionic cao hơn 26% ($p < 0,05$). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Tatsuya Morita và cộng sự (2005) khi thử nghiệm trên chuột cống thí nghiệm đã cho thấy rằng khẩu phần chứa tinh bột mì acetat cho hàm lượng SCFA ở manh tràng cao hơn nhiều so với nhóm chuột ăn tinh bột ngô. Bên cạnh đó nghiên cứu còn chỉ ra rằng hàm lượng SCFA được lên men bởi các vi khuẩn yếm khí sẽ tăng tỉ lệ với phần trăm tinh bột acetat trong khẩu phần ăn (từ 10 - 30%), đặc biệt ở khẩu phần chiếm 30% RS_4 tạo ra lượng SCFA hơn rất nhiều so với khẩu phần ăn chứa tinh bột ngô có hàm lượng amylose cao RS_2 [10].

Theo các nghiên cứu trên thế giới, sự khác nhau về hàm lượng acid béo chuỗi ngắn tạo ra giữa các khẩu phần ăn khác nhau đều liên quan mật thiết đến một số tác dụng của tinh bột đề kháng trên *in-vivo* cũng như trên lâm sàng. Cụ thể là một phần lớn acid acetic sau khi lên men tại manh tràng ruột nhanh chóng được hấp thu vào tuần hoàn chung và được phân bố đến các tổ chức trung ương như não bộ và ngoại vi như mô mỡ và cơ. Frost G. và cộng sự (2014) đã chứng minh được rằng acid acetic dễ dàng đi qua hàng rào máu não gây ra cảm giác no và chán ăn, làm hạn chế lượng thức ăn cơ thể tiêu thụ trong ngày [5]. Không những vậy, ở các tổ chức ngoại vi, acid acetic còn tác dụng ức chế sự phân hủy lipid ở tế bào mỡ dẫn đến giảm lượng acid béo tự do (FFA) giải phóng ra huyết tương [6].

Khác với acid acetic, phần lớn acid propionic được lên men tại manh tràng ruột nhanh chóng được hấp thu theo tĩnh mạch cửa lên gan. Tại đây, propionate là một tiền chất quan trọng để thực hiện quá trình tích lũy đường đồng thời nó làm giảm tích trữ các chất béo ở gan nên góp phần cải thiện sự nhạy cảm của insulin trên chuột béo phì bị ĐTĐ [14].

Không những vậy, các acid béo chuỗi ngắn này khi được tái hấp thu sẽ tham gia vào sự chuyển hóa các acid béo trong cơ thể, giúp kiểm soát cân nặng tốt hơn trên chuột thí nghiệm béo phì. Nguyên nhân là do các SCFA này là một trong những nguồn cung cấp năng lượng chủ yếu cho cơ thể nhưng phần năng lượng này quá ít so với phần năng lượng tinh bột thông thường cung cấp, buộc cơ thể phải tăng cường các quá trình oxy hóa đốt cháy các acid béo được tích trữ ở gan, ở mô cơ và các tế bào mỡ nâu. Ngoài ra, tại các tổ chức mỡ trắng, các acid béo chuỗi ngắn này ức chế quá trình thủy phân chất béo làm giảm nồng độ các acid béo tự do (FFA) được giải phóng vào trong huyết tương, đồng nghĩa với việc các acid béo tự do này không đến được các cơ quan khác để tích trữ mỡ [4].

Nghiên cứu của Xu Si và cộng sự (2016) khi tiến hành cho chuột béo phì ăn khẩu phần chứa tinh bột đề kháng RS_4 acetat liên tục trong 6 tháng thử nghiệm cũng cho thấy sự giảm đáng kể các chỉ số Tryglycerid, LDL-cholesterol, cholesterol toàn phần và tăng HDL-cholesterol [15]. Thông thường, ở những người béo phì, sự tăng vọt các acid béo tự do (FFA) trong huyết tương là yếu tố nền tảng gây ra sự đề kháng insulin dẫn đến thực trạng ĐTĐ [3]. Nồng độ các FFA cao trong máu gây cản trở rất lớn đến sự tiếp nhận insulin ở ngoại vi và điều chỉnh mức đường huyết trong cơ thể.

Do đó, thông qua việc điều hòa nồng độ FFA, các

acid béo chuỗi ngắn còn có tác dụng làm tăng sự nhạy cảm insulin trên những bệnh nhân ĐTĐ type 2 thường đi kèm với bệnh béo phì.

Ngoài ra, các acid béo chuỗi ngắn còn có tác dụng tăng khả năng hấp thu glucose vào trong các tế bào mô cơ và tế bào mô mỡ, đây cũng là một yếu tố làm giảm sự đề kháng insulin. Kết quả này đã được chứng minh trong nghiên cứu Robertson (2005) với một chế độ ăn giàu tinh bột đề kháng Hi Maize 260 cho hàm lượng SCFA (chủ yếu là acid propionic và acid acetic) cao hơn đáng kể so với nhóm placebo dẫn đến hàm lượng SCFA đến các mô cơ và mô mỡ nhiều hơn và lượng glucose được hấp thu ở nhóm tế bào này cao hơn đáng kể [11].

Như vậy, quá trình chuyển hóa của tinh bột mì acetat dù là tinh bột đề kháng với enzyme amylase nhưng khác hoàn toàn với cellulose tồn tại trong khẩu phần ăn hằng ngày của chúng ta. Sự khác biệt là do trong khi phần RS của tinh bột mì acetat vẫn có thể được chuyển hóa trong đường tiêu hóa còn cellulose là loại chất xơ không được hòa tan trong ruột non cũng không được các vi sinh vật lên men tại ruột già trên cơ thể người nên nó được đào thải nguyên vẹn ra bên ngoài. Các kết quả thu được cho thấy sự phù hợp vào nhận định ban đầu của nhóm khi tiến hành nghiên cứu tinh bột mì acetat trong *in-vitro* về tính ưu việt của loại RS này trong hỗ trợ điều trị bệnh ĐTĐ.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Như vậy, tinh bột đề kháng acetat của nhóm nghiên cứu có tác dụng hạn chế sự tăng đường huyết trên chuột thí nghiệm thông qua đề kháng sự thủy phân của amylase tại ruột non. Không những vậy, phần RS không bị tiêu hóa khi đi qua ruột non sẽ được lên men tạo thành các acid béo chuỗi ngắn cung cấp một phần năng lượng cho chuột thí nghiệm, tránh đi tình trạng bị lên men thối trong cơ thể do không được chuyển hóa và có thể gây tình trạng rối loạn đường tiêu hóa, đây là một trong những nhược điểm làm hạn chế tính ứng dụng trong công nghệ chế biến thực phẩm. Bên cạnh đó, những acid béo chuỗi ngắn này được chứng minh đóng góp vai trò rất lớn trong việc điều chỉnh cân nặng trên người béo phì - đây là một trong những yếu tố quan trọng làm tăng sự nhạy cảm insulin trên những người bị rối loạn chuyển hóa như ĐTĐ. Điều này chứng minh tính đúng đắn trong nhận định ban đầu của nhóm nghiên cứu về những tác dụng có lợi của tinh bột đề kháng này trên nhóm người bị bệnh ĐTĐ.

Từ những kết quả nghiên cứu này, cho phép nhóm nghiên cứu đề xuất tiếp tục tiến hành các thử nghiệm sâu hơn trên *in-vivo* trên mô hình chuột thí nghiệm béo phì bị ĐTĐ và trên thử nghiệm lâm sàng (clinical trial) nhằm đưa tinh bột mì acetat vào ứng dụng làm thực phẩm chức năng hỗ trợ trong quá trình điều trị ĐTĐ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Mai Khánh, Nguyễn Hữu Tiến (2019), Xác định các acid béo chuỗi ngắn được chuyển hóa từ tinh bột đề kháng trong phân chuột bằng phương pháp HPLC, *Tạp chí Y Dược học*, tập 9, số 1, tr. 65-72.
2. Trần Thị Ngọc Uyên, Nguyễn Khắc Nam, Trần Hữu Dũng (2016), Xác định các đặc tính lý hóa và các phân đoạn dinh dưỡng của tinh bột mì acetate dùng trong hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường, *Tạp chí Y Dược học*, số đặc biệt, Hội nghị nghiên cứu khoa học sinh viên lần thứ 3/2016, tr. 61-68.
3. Al-Goblan AS, Al-Alfi MA, Khan MZ (2014), Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. *Diabetes, Metab Syndr Obes*, 7, pp. 587-591.
4. Den Besten G., Karen van Eunen, Albert K. Groen, (2013), The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism, *Journal of Lipid Research*, 54(9), pp. 2325-2340.
5. Frost, G., Sleeth, M.L., Sahuri-Arisoylu, M., Lizarbe, B., Cerdan, S., Brody, L., Anastasovska, J., Ghourab, S., Hankir, M., Zhang, S., (2014), The short chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism, *Nature Communications*, 5:3611.
6. Ge, H., X. Li, J. Weizsmann (2008), Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids, *Endocrinology*, 149, pp. 4519 - 4526.
7. Govers MJAP, Gannon NJ, Dunshea FR (1999), Wheat bran affects the site of fermentation of resistant starch and luminal indexes related to colon cancer risk: a study in pigs, *Gut*, 45, pp. 840-847.
8. Le Leu RK, Brown IL, Hu Y (2007), Effect of dietary resistant starch and protein on colonic fermentation and intestinal tumourigenesis in rats, *Carcinogenesis*, Vol. 28, No.2, pp. 240-245.
9. Le Thanh-Blicharz, Aniola J, Kowalczewski P (2014), Type IV resistant starch increases cecum short chain fatty acids level in rats, *Acta Biochim Pol*, 61, pp. 109-114.
10. Morita T, Kasaoka S, Kiriya S., (2005), Comparative effects of acetylated and unmodified high-amylose maize starch in rats, *Starch-Starke* 57, pp. 246-253.
11. Robertson, M. D., Bickerton (2005). Insulin-

sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *Am. J. Clin. Nutr*, 82, pp. 559–567.

12. Ruth E. Ley, Fredrik Bäckhed, Peter Turnbaugh (2005), Obesity alters gut microbial ecology, *Pnas*, Vol.102, No.31, pp. 11070-11075.

13. Shimotoyodome A, Suzuki J, Fukuoka D (2009), RS4-type resistant starch prevents high-fat diet-induced obesity via increased hepatic fatty acid oxidation and decreased postprandial GIP in C57BL/6J mice, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298, pp. E652–E662.

14. Weitkunat K, Schumann S, Nickel D (2016), Importance of propionate for the repression of hepatic lipogenesis and improvement of insulin sensitivity in high-fat diet-induced obesity, *Mol Nutr Food Res*, 60(12), pp. 2611-2621.

15. Xu Si (2017), A comparison of RS4-type resistant starch to RS2-type resistant starch in suppressing oxidative stress in high-fat-diet-induced obese rats, *Food & Function*, 8(1), pp. 232-240.

16. <https://resistantstarchresearch.com/posts/fda-announces-health-claim-for-resistant-starch/>