

LÀM GIÀU ACID BÉO KHÔNG NO TRONG DẦU CÁ HỒI (*ONCORHYNCHUS TSHAWYTSCHA*) THỦY PHÂN BẰNG LIPASE

● TRẦN QUỐC HUY

TÓM TẮT:

Trong nghiên cứu này, tác giả tiến hành thủy phân dầu cá hồi để thu nhận acid béo không no (Monounsaturated Fatty Acid - MUFA và polyunsaturated fatty acids - PUFA) bằng chế phẩm lipase Maxigest. Tác giả khảo sát các yếu tố tác động của enzyme lipase Maxigest đến hiệu suất thủy phân dầu cá thu nhận acid béo không no và có được các kết quả sau: tỷ lệ cồn/nguyên liệu 9/1 (v/w), nồng độ cồn 90 (%), tỉ lệ enzyme 1,5 (%). Kết quả thu nhận dầu cá có hàm lượng acid béo không no trong mẫu nghiên cứu đạt 78,7%, trong đó MUFA là 54,6% và PUFA là 24,1%.

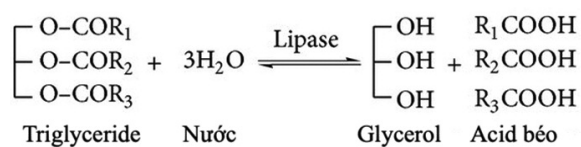
Từ khóa: dầu cá hồi, acid béo không bão hòa, omega - 3, MUFA, PUFA.

1. Đặt vấn đề

Omega 3 có thể được chiết xuất ở hầu hết các loại dầu cá, là một acid béo cần thiết cho cơ thể con người và vật nuôi gồm một chuỗi các nguyên tử carbon, hydro và oxy. Bên cạnh đó, omega 3 còn được xếp vào nhóm acid béo không no có nhiều hơn hoặc bằng 1 liên kết đôi. Cơ thể con người không thể tự tổng hợp acid béo không no, do đó cần phải được bổ sung từ thực phẩm có chứa nó [1]. Omega 3 bao gồm alpha-linoleic acid (ALA), eicosapentaenoic acid (EPA), và docosahexaenoic acid (DHA) [2]. Trong đó, EPA và DHA thường được xem là chuỗi acid béo không no mạch dài và được tìm thấy trong các loại cá chứa nhiều dầu [3], trong khi đó ALA là tiền chất chuyển hóa của EPA và DHA được tìm thấy ở dầu thực vật, tuy nhiên quá trình chuyển hóa diễn ra trong cơ thể thường không hiệu quả [4].

Ngành công nghiệp đánh bắt và chế biến cá hồi rất phát triển ở các nước Bắc Âu, Alaska, Canada và New Zealand. Trong quy trình chế biến cá hồi phi lê, phế phẩm đầu cá hồi chiếm một tỷ lệ khá lớn (hơn 20%). Phế phẩm này được các nhà chế biến thủy sản trong nước nhập về Việt Nam theo con đường hàng hải để cung cấp cho thị trường nội địa và chế biến theo đơn hàng của các công ty Nhật Bản và Hàn Quốc. Trong quy trình chế biến gia công, lượng mỡ cá hồi phế phẩm dư thừa rất lớn (hơn 15%v/w của đầu cá) ảnh hưởng đến vấn đề môi trường và khả năng xử lý làm thức ăn chăn nuôi của các nhà máy chế biến. Nghiên cứu này đặt ra để giải quyết lượng mỡ cá hồi phế phẩm từ quá trình chế biến đầu cá hồi để thu nhận chế phẩm omega - 3 thô phục vụ cho nhu cầu ngành dược thú y và thức ăn chăn nuôi, thức ăn thủy sản và hướng đến thực phẩm chức năng, dược phẩm cho người.

Trong nghiên cứu này, tác giả sử dụng lipase để thủy phân dầu cá hồi. Lipase có chức năng sinh học thủy phân các triglyceride (TG) thành acid béo tự do và glycerol ổn định trong các môi trường phản ứng khác nhau như môi trường nước, dung môi hữu cơ, dung dịch ion, chất lỏng siêu tới hạn và các dung môi eutectic sâu nhờ vào cơ chế hoạt động đặc biệt được gọi là “interfacial activation” [5]. Cơ chế này cho phép lipase hấp phụ và phản ứng trên bề mặt của những giọt triglyceride. Trung tâm hoạt động của enzyme được bao bọc bởi một túi kỵ nước khổng lồ, điều này thường làm enzyme không bền và ít tan trong nước. Nhưng vì được chuỗi polypeptide bao quanh túi kỵ nước này được gọi là “nắp” (“lid”). Khi “nắp” đóng tức là cô lập trung tâm hoạt động khỏi môi trường nước thì enzyme sẽ bị bất hoạt, khi “nắp” di chuyển, hình thành một túi kỵ nước lớn để lộ trung tâm hoạt động với môi trường, làm cho “nắp” chuyển sang trạng thái “mở” kích hoạt enzyme khi có sự hiện diện của giọt dầu và hấp phụ trên bề mặt của nó, cho phép enzyme tấn công các glyceride [5].



Phương pháp dùng lipase để thủy phân chất béo thu nhận acid béo không bão hòa là một trong những phương pháp được khuyến cáo để ứng dụng trong thực phẩm chức năng và dược phẩm, do ít để lại dư lượng hoá chất trong sản phẩm. Ngoài ra, điều kiện để sử dụng phương pháp này không yêu cầu quá cao về điều kiện thiết bị và chi phí đầu tư.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Dầu cá hồi Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) được thu từ nhà máy 3 Con Tôm - Sóc Trăng.

Enzyme Maxigest - Lipase (1275 LU/g): được sản xuất từ Công ty TNHH Công nghệ Advanced enzymes, Ấn Độ, dạng bột màu kem sáng.

Cồn thực phẩm được cung cấp bởi Công ty CP Rượu Bình Tây - TP. Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành thí nghiệm với mỗi 20g dầu khảo sát với lượng enzyme (w/w), ethanol (v/w) và lắc ở tốc độ 200 vòng/phút, nhiệt độ 45°C trong vòng 4 giờ, sau đó lọc enzyme ra khỏi mẫu dầu, phân tích kết quả [6, 7]

Thí nghiệm 1. Khảo sát nồng độ ethanol ảnh hưởng đến quá trình thủy phân dầu cá hồi

Thực hiện khảo sát nồng độ ethanol lần lượt ở các nồng độ 88%; 90%; 92%; 94% và 96% với tỷ lệ ethanol/dầu là 9/1 (v/w) và bổ sung 2,5% lượng enzyme lipase (w/w) vào mẫu dầu.

Thí nghiệm 2. Khảo sát tỷ lệ ethanol/dầu ethanol ảnh hưởng đến quá trình thủy phân dầu cá hồi

Thực hiện khảo sát ethanol với nồng độ (TN1) lần lượt các tỷ lệ 7/1; 8/1; 9/1 và 10/1 sau đó bổ sung 2,5% lượng enzyme lipase (w/w) vào mẫu dầu.

Thí nghiệm 3. Khảo sát nồng độ enzyme lipase ethanol ảnh hưởng đến quá trình thủy phân dầu cá hồi

Thực hiện thí nghiệm với ethanol (TN1) tỷ lệ (TN2) (v/w) và lượng enzyme lipase lần lượt là 1,5; 2,0 và 2,5 (%) (w/w).

2.3. Phương pháp phân tích

Thu hồi acid béo không no bằng chưng cất phân đoạn lỏng-lỏng để loại cồn.

Thực hiện trên thiết bị chưng cất tinh dầu tại 80 - 90°C làm cho cồn sôi bốc hơi, tách cồn khỏi mẫu hoàn toàn [8, 9].

Xác định thành phần và hiệu suất thu hồi

Xác định hiệu suất thu hồi acid béo không no thô dựa trên công thức:

$$H(\%) = \frac{MFA}{m} \times 100$$

Trong đó:

- H% : hiệu suất thu hồi acid béo không no thô (%)

- MFA : khối lượng acid béo không no thô thu được sau chưng cất (g)

- M : khối lượng dầu ban đầu đem đi thủy phân (g)

Định lượng acid béo bão hòa và không bão hòa trong các mẫu acid béo không no- Phân tích sắc ký khí - GC (AOAC 996.06) gồm 3 bước chính (ISO/IEC 17025:2017):

- Thủy phân lipid thành các acid béo bằng các phương pháp sinh học.

- Sau đó được tiến hành ete hóa và metyl hóa trở thành FAMES (Fatty acid methyl esters).

- FAMES sau đó được định tính bằng phương pháp sắc ký khí.

Công thức xác định hàm lượng acid béo không no trong mẫu:

$$CPT(\%) = \frac{S}{\Sigma S} \times \Sigma FA$$

Trong đó:

- CPT%: là % các chất thành phần có trong mẫu (%).

- S: là diện tích peak của chất thành phần (đvdt).

- ΣS : là tổng diện tích các peak của tất cả thành phần (đvdt).

- ΣFA : là hàm lượng chất béo tổng (%).

Phân tích số liệu

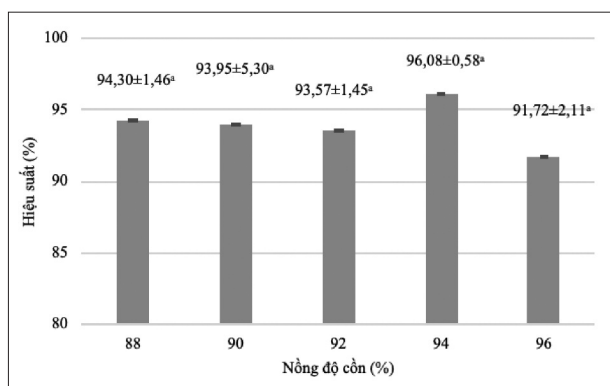
Số liệu báo cáo là trung bình của 3 lần phân tích. Kết quả được phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics, được phân tích phương sai 1 yếu tố ANOVA. Giá trị của $p \leq 0,05$ được xem là có ý nghĩa về mặt thống kê.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khảo sát nồng độ cồn ảnh hưởng tới hiệu suất thu hồi dầu cá chứa acid béo không no từ dầu cá hồi

Khảo sát nồng độ ethanol lần lượt ở các nồng độ 88%; 90%; 92%; 94% và 96% với tỷ lệ ethanol/dầu là 9/1 (v/w) và bổ sung 2,5% lượng enzyme lipase (w/w) ghi nhận kết quả như sau: (Hình 1)

Hình 1. Nồng độ cồn ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi acid béo không no



Nguồn: Tác giả thực hiện

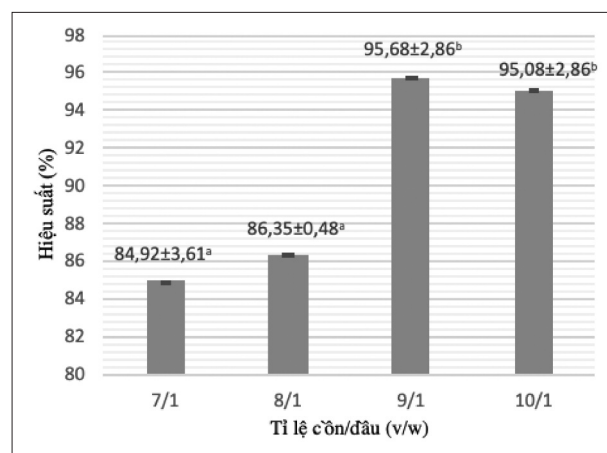
Từ kết quả Hình 1 cho thấy, nồng độ cồn từ 88; 90 và 92% có hiệu suất thu hồi acid béo không no sau khi thủy phân bởi lipase lần lượt là 94,30 ± 1,46; 93,95 ± 5,3 và 93,57 ± 1,45% có sự khác biệt không có ý nghĩa ($p \leq 0,05$). Khi tăng nồng độ lên 94% thì hiệu suất thu hồi acid béo không no đạt cao nhất 96,08 ± 0,58% ($p \leq 0,05$). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ cồn lên 96% thì hiệu suất thu hồi lại giảm xuống 91,72 ± 2,11 ($p \leq 0,05$). Điều này có thể giải thích khả năng hấp phụ bởi tương tác kỵ nước của enzyme và giọt triglyceride khi thay đổi nồng độ cồn khác nhau làm ảnh hưởng tới khả năng thủy phân của lipase. Từ kết quả trên, chúng tôi chọn nồng độ cồn thích hợp để thu hồi acid béo không no là 94%.

3.2. Khảo sát tỷ lệ cồn/dầu ảnh hưởng tới hiệu suất thu hồi dầu thô chứa acid béo không no từ dầu cá hồi

Khảo sát ethanol với nồng độ 94% lần lượt các tỷ lệ 7/1; 8/1; 9/1 và 10/1, bổ sung 2,5% lượng enzyme lipase (w/w) ghi nhận kết quả như sau:

Kết quả từ Hình 2 cho thấy, khi sử dụng tỷ lệ cồn/dầu từ tỷ lệ 7/1, 8/1 và 9/1 (v/w) cho kết quả hiệu suất thu hồi acid béo không no tăng dần lần lượt là 84,92±3,61; 86,35±0,48% và 95,68±2,86 ($p0,05$). Khi tăng tỷ lệ cồn/dầu lên 9/1 và 10/1 ta thấy hiệu suất thu hồi dầu cá chứa acid béo không no giảm từ 95,68±2,86 về 95,08±2,86 ($p0,05$). Một lần nữa kết quả của tỷ lệ cồn/dầu 9/1 cho kết

Hình 2: Tỷ lệ cồn/dầu ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi acid béo không no



Nguồn: Tác giả thực hiện

quả hiệu suất thu hồi cao nhất tương đồng với kết quả thí nghiệm 1 ($p > 0,05$). Nên để tăng hiệu quả về giá trị kinh tế, chúng tôi chọn tỷ lệ cồn/dầu để thu hồi acid béo không no là 9/1.

3.3. Khảo sát nồng độ enzyme lipase ảnh hưởng đến quá trình thu hồi acid béo không no thô từ dầu cá hồi

Thực hiện thí nghiệm với ethanol 94%, tỷ lệ 9/1 (v/w) và lượng enzyme lipase lần lượt là 1,5; 2,0 và 2,5 (%) (w/w) ghi nhận kết quả như sau:

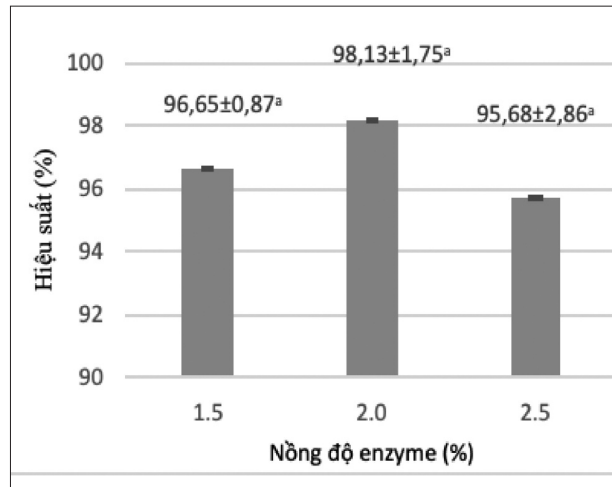
Kết quả tại Hình 3 cho thấy, khi tăng tỷ lệ enzyme lipase Maxigest từ 1,5; 2,0 và 2,5% thì hiệu suất thu hồi dịch sau thủy phân lần lượt là $96,65 \pm 0,87$; $98,13 \pm 1,75$ và $95,68 \pm 2,86$ có sự khác biệt không có nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$). Về mặt kinh tế cho chi phí sản xuất, tác giả chọn nồng độ enzyme lipase là 1,5% thích hợp để thu hồi dầu chứa acid béo không no sau thủy phân.

3.4. Định lượng acid béo no và không no bằng phương pháp sắc ký khí GC (AOAC 996.06)

Sử dụng dầu cá đã được thủy phân thực hiện ở nồng độ cồn 94%, tỷ lệ cồn/dầu cá là 9/1 (v/w) và nồng độ enzyme là 1,5% đem đi sắc ký khí GC ta thu được kết quả như sau:

Từ kết quả sắc ký khí Hình 4, hàm lượng acid béo không no có chứa MUFA và PUFA chiếm

Hình 3. Nồng độ enzyme lipase ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi acid béo không no

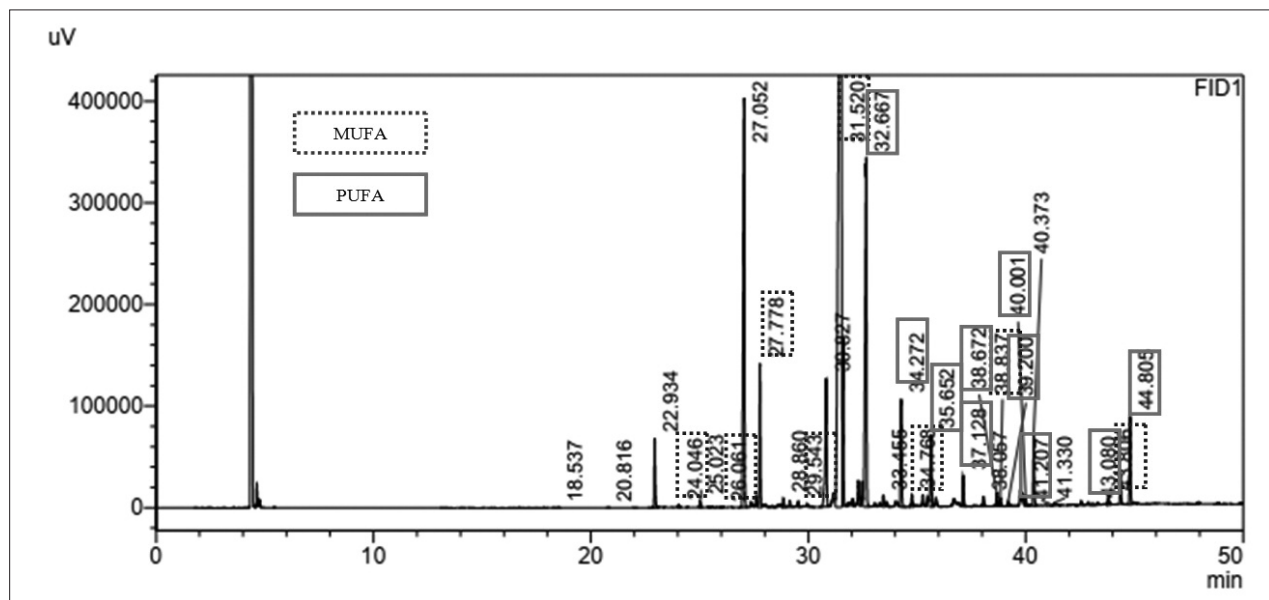


Nguồn: Tác giả thực hiện

78,7% trong đó lượng acid béo với acid béo không bão hòa đa (polyunsaturated fatty acid-PUFA) là 24,1%. (Bảng 1)

Khi so sánh kết quả với phương pháp hóa học của Deepika D et al, 2014, hàm lượng acid béo không no chiếm 82,85% [10] và đối với phương pháp sinh học của Kahveci D et al, 2011, hàm lượng acid béo không no chiếm 79,03% [11]; thì phương pháp phân giải bằng enzyme lipase

Hình 4. Sắc ký khí GC dầu cá hồi sau thủy phân



Nguồn: Tác giả thực hiện

Bảng 1. Kết quả thành phần sau quá trình thủy phân dầu cá hồi

STT	Chỉ tiêu phân tích	Hàm lượng (%w/w)	Phương pháp phân tích	Ghi chú
1	Acid béo không no (Saturated fatty acid)	21,2	AOAC 996.06	
2	Acid béo không no 1 nối đôi (Monounsaturated fatty acid_MUFA)	54,6	AOAC 996.06	
3	Acid béo không no đa nối đôi (Polyunsaturated fatty acid_PUFA)	24,1	AOAC 996.06	

Nguồn: Tác giả thực hiện

Maxigest cho kết quả 78,7% thấp hơn phương pháp hóa học của Deepika D et al, 2014 và tương đồng với phương pháp sinh học của Kahveci D et al, 2011.

4. Kết luận

Qua nghiên cứu cho thấy, thực hiện phân giải

dầu cá hồi *Oncorhynchus tshawytscha* bằng enzyme lipase Maxigest với các thông số: nồng độ cồn 94%, tỷ lệ cồn/dầu cá là 9/1 (v/w) và nồng độ enzyme là 1,5% cho hiệu suất thu hồi acid béo không no là 96,65% và hàm lượng acid béo không no đạt 78,7% ■

Lời cảm ơn:

Cám ơn Lê Trương Thiện Khánh và Võ Thiện Thanh Khoa đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

Cám ơn Công ty Cổ phần Công nghệ sinh học Vinbio và Công ty Cổ phần Công nghệ 3 Con Tôm đã hỗ trợ điều kiện nghiên cứu và nguyên liệu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Chew, E. Y., Clemons, T. E., Sangiovanni, J. P., Danis, R., Ferris, F. L., Elman, M., Antoszyk, A., Ruby, A., Orth, D. & Bressler, S. J. J.-J. O. T. A. M. A. (2013). Lutein+ zeaxanthin and omega-3 fatty acids for age-related macular degeneration: the Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) randomized clinical trial. *JAMA*, 309, 19
- Nettleton, J. A. (1995). *Omega-3 fatty acids and health: Chapter 2 - Omega-3 fatty acids and health* p 64 - 76. UK: Chapman & Hall.
- Swanson, D., Block, R. & Mousa, S. A. J. A. I. N. 2012. Review - Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. American Society for Nutrition. *Advances in Nutrition*, 3, 1-7.
- SURETTE, M. E. J. C. (2008). Review - The science behind dietary omega-3 fatty acids. 178, 177-180. *Canadian Medical Association Journal_CMAJ* January 15, 2008 178(2).
- Ortiz, C., Ferreira, M., Barbosa, O., Dos Santos, J., Rodrigues, R., Berenguer-Murcia, Á., Briand, L. & Fernandez-Lafuente, R. N. J. S. T. (2019). 435: The “perfect” lipase immobilized biocatalyst?. *Catal.* 9, 2380-2420.
- Valverde, L. M., Moreno, P. A. G., Cerdán, L. E., López, E. N., López, B. C. & Medina, A. R. J. B. E. J. (2014). Concentration of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids by enzymatic alcoholysis with different acyl-acceptors. *Biochemical Engineering Journal* 91, 163-173.
- Wanasundara, U. N. & Shahidi, F. J. F. C. 1999. Concentration of omega 3-polyunsaturated fatty acids of seal blubber oil by urea complexation: Optimization of reaction conditions. *Food Chemistry*, 65, 41-49.
- Rubio-Rodríguez, N., Sara, M., Beltrán, S., Jaime, I., SANZ, M. T. & Rovira, J. J. J. O. F. E. (2012). Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods. *Journal of Food Engineering*, 109, 238-248.

9. Bonilla-Méndez, J. R. & Hoyos-Concha, J. L. J. C. Y. T. A. (2018). Methods of extraction refining and concentration of fish oil as a source of omega-3 fatty acids. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria, Mosquera* (Colombia) 19, 645-668
10. Deepika D, Vegneshwaran VR, Julia P, Sukhinder KC, Sheila T, et al. (2014) Investigation on Oil Extraction Methods and its Influence on
11. Omega-3 Content from Cultured Salmon. *J Food Process Technol* 5: 401
10. Deepika D., Vegneshwaran V. R., Julia P., Sukhinder K.C., Sheila T., Heather M. And Wade M. (2014). Investigation on Oil Extraction Methods and its Influence on Omega-3 Content from Cultured Salmon. *Journal of Food Processing & Technology*, 5, 401.
11. Derya Kahveci, Xuebing Xu (2011). Repeated hydrolysis process is effective for enrichment of omega 3 polyunsaturated fatty acids in salmon oil by Candida rugosa lipase. *Food Chemistry* 129, 1552-1558.

Ngày nhận bài: 20/2/2023

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 15/3/2023

Ngày chấp nhận đăng bài: 11/4/2023

Thông tin tác giả:

TRẦN QUỐC HUY

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh

ENRICHING UNSATURATED FATTY ACIDS IN SALMON OIL (*ONCORHYNCHUS TSHAWYTSCHA*) BY USING THE LIPASE CATALYZED HYDROLISIS

● **TRAN QUOC HUY**

Ho Chi Minh City University of Food Industry

ABSTRACT:

In this study, the Maxigest lipase is used to hydrolyze salmon oil in order to obtain unsaturated fatty acids including monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA). The study analyzes the factors of Maxigest lipase affecting the salmon oil hydrolysis process's yield. With the alcohol/material ratio of 9/1 (v/w), 90% alcohol and 1.5% enzyme rate, the unsaturated fatty acid content is obtained at 78.7 percent. In which, MUFA is 54.6% and PUFA is 24.1%

Keywords: Salmon oil, unsaturated fatty acid, omega-3, MUFA, PUFA.