

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN THỦY PHÂN DẦU DỪA BẰNG XÚC TÁC ENZYME LIPASE LÊN HIỆU SUẤT QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN

● ĐỖ ĐÌNH NHẬT - TRẦN LÊ VĨ AN - PHẠM THỊ THANH HƯƠNG - PHẠM THỊ THƯỜNG

TÓM TẮT:

Trong nghiên cứu này, quá trình thủy phân dầu dừa thu hồi các axit béo tự do sử dụng xúc tác enzyme lipase đã được thực hiện thông qua khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất quá trình thủy phân dầu dừa. Kết quả cho thấy, mức độ thủy phân cao nhất là 41,3% khi thực hiện thủy phân trong 3 giờ tại các điều kiện thủy phân như sau: tỷ lệ dầu dừa: đệm là 1:4 (% khối lượng); hàm lượng enzyme lipase là 3%. Kết quả của nghiên cứu là tiền đề để áp dụng thủy phân dầu dừa thu hồi các axit béo tự do ở quy mô lớn hơn.

Từ khóa: thủy phân, dầu dừa, enzyme lipase.

1. Đặt vấn đề

Dầu dừa là một trong những nguyên liệu quan trọng đi từ dầu thực vật cho ngành Công nghiệp hóa chất từ dầu. Dầu dừa được coi là một loại dầu bão hòa, có khoảng 92% axit béo bão hòa, từ caproic đến stearic và chỉ khoảng 8% axit béo không bão hòa, bao gồm axit oleic và axit linoleic [1]. Cùng với dầu hạt cọ, dầu dừa thuộc về dòng dầu lauric, là nguyên liệu rất được ưa chuộng trong ngành Công nghiệp hóa chất đi đầu trên toàn thế giới vì tầm quan trọng của axit lauric trong dược mỹ phẩm, đặc biệt là trong sản xuất xà phòng và chất tẩy rửa. Bên cạnh đó, dầu dừa chứa rất nhiều axit béo mạch trung bình (MCFAs) với nhiều ứng dụng quý giá trong lĩnh vực thực phẩm và chăm sóc sức khỏe [1]. Dầu dừa hiện nay rất được ưa chuộng vì có thành phần axit béo nằm trong phổ chuỗi carbon được ngành Công nghiệp hóa chất tìm kiếm (từ C6 đến C18). Axit béo là những sản phẩm có giá trị, vì

chúng có ứng dụng công nghiệp rộng rãi trong sản xuất chất hoạt động bề mặt, mỹ phẩm, thực phẩm và các ứng dụng y sinh khác nhau [2]. Việc sản xuất axit béo bằng cách thủy phân dầu và mỡ tự nhiên là một thành phần rất quan trọng trong việc khai thác nâng cao giá trị kinh tế của các nguyên liệu có thể tái tạo từ tự nhiên. Do những mối quan tâm ngày càng tăng đó đã thúc đẩy sự phát triển của các phương pháp sản xuất axit béo [3]. Thủy phân dầu béo bằng cách sử dụng enzyme lipase làm chất xúc tác sinh học đã nhận được sự chú ý đáng kể để sản xuất các axit béo [4]. Phương pháp này được ưa chuộng hơn bởi tính thân thiện với môi trường và có thể được sử dụng ở nhiệt độ thấp hơn các phương pháp khác.

Hiện nay, diện tích trồng dừa của Việt Nam đạt trên 175.000 ha, các sản phẩm chế biến từ dừa của Việt Nam còn ít về chủng loại, chưa có nhiều sản phẩm chất lượng cao. Dầu dừa là một nguồn

dầu béo chủ yếu của nước ta. Tuy nhiên, Việt Nam phải nhập khẩu dầu thực vật rất nhiều, trong khi đó một số nguồn dầu dừa trong nước chưa được khai thác chế biến tốt, nhiều nơi vẫn còn bán nguyên liệu thô, trong khi từ các nguyên liệu này có thể tạo ra các sản phẩm có giá trị kinh tế cao. Dầu dừa rất được ưa chuộng vì có thành phần axit béo nằm trong phổ chuỗi carbon được ngành Công nghiệp hóa chất tìm kiếm. Do đó, việc khai thác các axit béo trong dầu dừa là một trong những phương pháp có thể giúp nâng cao giá trị của dầu dừa. Đến nay, đã có một số nghiên cứu về thủy phân dầu dừa ở Việt Nam và thế giới. Tuy nhiên, các dữ liệu về quá trình này vẫn còn hạn chế, cần những nghiên cứu, tư liệu mới về quá trình này để tăng cường khả năng ứng dụng sản xuất thực tế. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định được các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất quá trình thủy phân dầu dừa thu hồi các axit béo tự do bằng xúc tác enzyme lipase. Kết quả của nghiên cứu sẽ đóng góp những hiểu biết, những tư liệu mới về quá trình thủy phân dầu dừa thu hồi các axit béo tự do có giá trị cao trong dầu dừa bằng xúc tác enzyme lipase.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu dầu dừa được sử dụng trong suốt quá trình nghiên cứu là dầu dừa ép lạnh được cung cấp bởi Công ty TNHH MTV Dừa Phước Hưng (tỉnh Bến Tre, Việt Nam). Enzyme lipase được cung cấp từ Công ty TNHH Công nghệ sinh học BIOK, là chế phẩm enzyme công nghiệp có nguồn gốc từ nấm, dạng bột, màu trắng. Hoạt tính của enzyme là 20 U/mg enzyme. Hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu có xuất xứ từ Merk (Đức) được cung cấp bởi Cửa hàng kinh doanh hóa chất và thiết bị Hóa Nam, quận 10, TP. Hồ Chí Minh. Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu gồm có Máy khuấy đĩa hiện thị số SH-II-6C (Trung quốc); Máy đồng hóa tốc độ cao IKA T 50 digital (Đức); Tủ ấm có lắc vòng để bàn Yihder LM-420D (Trung Quốc); Máy cô quay chân không Heidolph Hei-VAP (Đức).

2.2. Quy trình thủy phân dầu dừa

Dầu dừa được thủy phân bởi enzyme lipase để

thu nhận các axit béo tự do. Quá trình thủy phân được thực hiện theo phương pháp của tác giả Sharma và cộng sự có sửa đổi [5]. Hỗn hợp ban đầu gồm 50g dầu dừa và đệm được cho vào cốc 500ml theo tỷ lệ khảo sát. Hỗn hợp được tạo nhũ bằng máy đồng hóa tốc độ cao IKA T50, với tốc độ 7000 vòng/phút trong vòng 15 phút. Sau đó, lượng enzyme tự do được cho vào hỗn hợp với các tỷ lệ khác nhau theo khảo sát, enzyme được hòa tan bằng máy khuấy đĩa SH-II-6C với tốc độ 350 vòng/phút trong 15 phút. Các mức pH khảo sát được điều chỉnh trên dung dịch đệm. Quá trình thủy phân hỗn hợp được thực hiện trên máy lắc Yihder LM-420D với tốc độ lắc 150 vòng/phút với nhiệt độ được điều chỉnh theo các mức được khảo sát. Sau 3 giờ phản ứng, dừng quá trình thủy phân bằng cách cho 1mL ethanol tuyệt đối để bất hoạt enzyme. Hỗn hợp sau phản ứng được ly tâm ở khoảng 8.000 vòng/phút trong 20 phút. Hai pha dầu và nước được hình thành sau khi ly tâm được tách ra khỏi nhau. Để kiểm tra độ tái lập của thử nghiệm, mỗi thử nghiệm được thực hiện 3 lần và các giá trị trung bình đã được báo cáo.

2.3. Xác định mức độ thủy phân dầu dừa

Xác định hàm lượng axit béo tự do trong mẫu dung dịch thu được thực hiện bằng cách chuẩn độ với KOH, theo tiêu chuẩn IUPAC 1992, phương pháp 2.201 [6]. Ngắn gọn, khoảng 3 g dung dịch mẫu và 3-4 giọt phenolphthalein được pha loãng trong 50 mL ethanol:aceton 1:1 (v/v) trong bình tam giác 100 mL. Một dung dịch như vậy sau đó được chuẩn độ bằng KOH 0,1 M, lắc mạnh cho đến khi dung dịch thay đổi màu nhẹ. Mức độ thủy phân của dầu dừa được xác định theo công thức:

$$C_{FFA}(wt\%) = \frac{V_{KOH} \times M_{KOH} \times MM_{FFA}}{10 \times M_s}$$

Trong đó:

C_{FFA} là mức độ thủy phân (%w), V_{KOH} là thể tích KOH chuẩn độ (mL), M_{KOH} là nồng độ KOH chuẩn độ (mol/lít), MM_{FFA} là khối lượng phân tử trung bình của axit béo có trong dầu dừa, M_s là khối lượng dầu phản ứng.

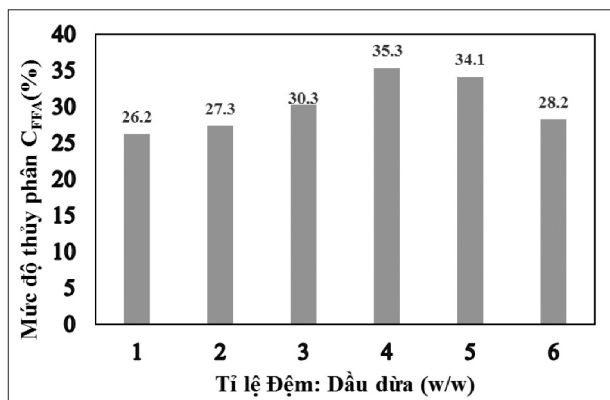
Các yếu tố ảnh hưởng đến mức độ thủy phân dầu dừa được khảo sát gồm tỷ lệ dầu dừa/đệm và hàm lượng enzyme lipase.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ dầu dừa/đệm lên hiệu suất quá trình thủy phân

Một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình thủy phân dầu dừa bằng enzyme lipase là tỷ lệ dầu dừa/đệm vì enzyme lipase chỉ hoạt động trên bề mặt liên pha của hệ nhũ dầu - nước, đây là đặc tính đặc trưng của đa số enzyme lipase. Khi không có bề mặt liên pha dầu nước, những nghiên cứu cho thấy trung tâm hoạt động của enzyme lipase bị che chắn khỏi dung môi bằng một cấu trúc bậc 2 protein di động khiến chúng bất hoạt, không thể kết hợp với cơ chất. Khi có bề mặt liên pha dầu nước sẽ dẫn đến những thay đổi phù hợp khiến trung tâm hoạt động của enzyme lipase hoạt động trở lại để có thể liên kết pha kỵ nước của bề mặt liên pha (triglyceride) [7]. Trong thí nghiệm này, các yếu tố khác được cố định gồm có pH = 7; nhiệt độ 40°C và hàm lượng enzyme là 2 (%w). Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dầu dừa/đệm lên hiệu suất quá trình thủy phân được thể hiện trên Hình 1.

Hình 1: Ảnh hưởng của tỷ lệ dầu dừa/đệm lên hiệu suất quá trình thủy phân



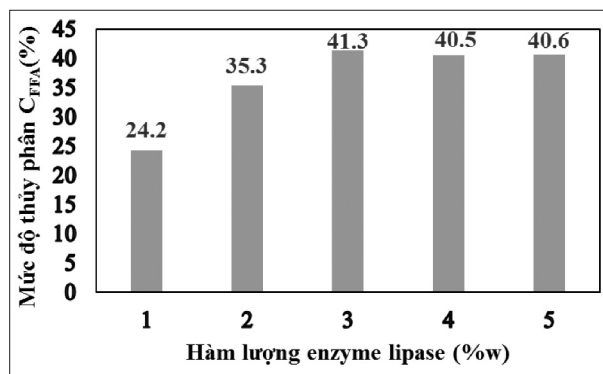
Hình 1 biểu diễn ảnh hưởng của tỷ lệ dầu dừa/đệm lên hiệu suất quá trình thủy phân. Nhìn chung, khi tăng lượng nước, hiệu quả quá trình thủy phân tăng lên. Khi tăng tỷ lệ đệm: dầu dừa từ 1 đến 4, hiệu quả thủy phân tăng từ 26,2% đến 35,3%. Tuy nhiên, đến một tỷ lệ nhất định tiếp tục tăng lượng nước làm cho hiệu suất giảm, cụ thể khi tăng tỷ lệ đệm: dầu dừa từ 4 đến 6, hiệu quả thủy phân

giảm xuống còn 28,2%. Khi tăng tỷ lệ đệm: dầu dừa từ 1 đến 4, hiệu quả thủy phân tăng từ 26,2% đến 35,3%. Điều này có thể được giải thích là khi sử dụng một lượng nước thấp làm giảm hoạt động của enzyme và thúc đẩy phản ứng theo hướng ester hóa. Tuy nhiên, nếu sử dụng một lượng nước quá nhiều sẽ làm giảm hiệu suất thủy phân vì lượng dư nước làm giảm diện tích tiếp xúc giữa enzyme và dầu dẫn đến tốc độ phản ứng giảm [8]. Hiệu suất cao nhất là 35,3% tại tỷ lệ dầu dừa:đệm là 1:4. Tỷ lệ này được chọn để khảo sát yếu tố khác trong thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme lipase lên hiệu suất quá trình thủy phân

Nồng độ enzyme trong hỗn hợp đóng một vai trò quan trọng trong quá trình thủy phân dầu dừa, vì nó ảnh hưởng đến tốc độ phản ứng thủy phân. Do đó, để tìm ra nồng độ enzyme tối ưu cho phản ứng thủy phân và nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến tốc độ phản ứng thủy phân, các thí nghiệm được thực hiện bằng cách sử dụng các nồng độ enzyme khác nhau từ 1-5% khối lượng trong phản ứng. Kết quả của thí nghiệm được thể hiện ở (Hình 2) cho thấy mối quan hệ giữa hàm lượng enzyme lipase và hiệu suất quá trình thủy phân thu được trong các thí nghiệm khác nhau.

Hình 2: Ảnh hưởng của hàm lượng enzyme lipase lên hiệu suất quá trình thủy phân



Hình 2 cho thấy ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến mức độ thủy phân dầu dừa. Kết quả cho thấy sự gia tăng nồng độ của enzyme trong hỗn hợp phản ứng dẫn đến hiệu suất quá trình thủy phân tăng lên. Mức độ thủy phân dầu dừa thu được

đối với các nồng độ enzyme 1%, 2%, 3% 4% và 5% lần lượt là 24,2%, 35,3%, 41,3%, 40,5% và 40,6% sau 3 giờ. Hiệu quả thủy phân tăng nhanh khi tăng nồng độ enzyme từ 1 đến 3%, đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 3% với hiệu quả thủy phân là 41,3%. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ enzyme lên 4% và 5% thì hiệu suất quá trình thủy phân dầu dừa thay đổi không đáng kể. Enzyme lipase xúc tác cho quá trình phản ứng thủy phân diễn ra trên mặt phân cách, do đó lượng enzyme ở mặt phân cách là rất quan trọng. Có thể sau khi nồng độ enzym đạt 3%, bề mặt dung dịch dầu-enzym được tạo ra ở điều kiện thí nghiệm đã bão hòa enzyme và do đó tăng thêm nồng độ enzyme sẽ không cho thấy bất kỳ sự thay đổi nào trong hiệu suất phản ứng thủy phân. Xu hướng này cũng được quan sát trong một số nghiên cứu khác [9]. So với một số nghiên cứu khác về thủy phân dầu dừa thì nồng độ enzyme sử dụng trong nghiên cứu này cao hơn. Virendra K. Rathod và cộng sự [9] đã thủy phân dầu thầu dầu cho kết quả tốt nhất ở nồng độ enzyme lipase 1%. Sharma và cộng sự [5] đã sử dụng enzyme candida rugosa lipase để thủy phân

dầu gan cá tuyết với nồng độ enzyme là 2%. Sự khác biệt này có thể là do sự khác biệt về chất nền, phương pháp thủy phân cũng như loại enzyme sử dụng. Trong nghiên cứu này, loại enzyme sử dụng là loại enzyme thương mại công nghiệp với định hướng ứng dụng ở quy mô lớn và nồng độ tối ưu của enzym lipase được sử dụng là 3%.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, quá trình thủy phân dầu dừa thu hồi các axit béo tự do sử dụng xúc tác enzyme lipase đã được thực hiện thông qua xác định được các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất quá trình thủy phân dầu dừa. Kết quả của nghiên cứu cho thấy quá trình thủy phân dầu dừa đạt hiệu suất cao nhất là 41,3% khi được thủy phân trong 3 giờ với xúc tác enzyme lipase, với tỷ lệ dầu dừa: đệm là 1:4 (% khối lượng) và hàm lượng enzyme lipase là 3% khối lượng. Kết quả của nghiên cứu đóng góp những hiểu biết, những tư liệu mới về quá trình thủy phân dầu dừa thu hồi các axit béo tự do có giá trị cao trong dầu dừa bằng xúc tác enzyme lipase và thực tiễn có đóng góp vào quá trình nâng cao giá trị kinh tế của dầu dừa Việt Nam ■

Lời cảm ơn:

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã hỗ trợ kinh phí. “Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ NTTU trong đề tài mã số 2021.01.30”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. A. M. Marina, Y. B. Che Man, S. A. H. Nazimah, and I. Amin. (2009). Chemical properties of virgin coconut oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(4), 301-307.
2. A. Boulila, and A. Bejaoui. (2015). Lycium intricatum Boiss: An unexploited and rich source of unsaturated fatty acids, 4-desmethylsterols and other valuable phytochemicals. *Lipids in Health and Disease*, 14(1), 1-6.
3. J. E. Lee, P. V. Vadlani, Y. N. Guragain, K. Y. San, and D. H. Min. (2018). Production of free fatty acids from switchgrass using recombinant Escherichia coli. *Biotechnology Progress*, 34(1), 91-98.
4. R. Morales-Medina, M. Munio, A. Guadix, E. M. Guadix, and F. Camacho. (2018). A lumped model of the lipase catalyzed hydrolysis of sardine oil to maximize polyunsaturated fatty acids content in acylglycerols. *Food Chemistry*, 240, 286-294.
5. A. Sharma, S. P. Chaurasia, and A. K. Dalai. (2013). Enzymatic hydrolysis of cod liver oil for the fatty acids production. *Catalysis today*, 207, 93-100.

6. M. C. P. Zenevicz, A. Jacques, A. F. Furigo Jr, J. V. Oliveira, and D. de Oliveira. (2016). Enzymatic hydrolysis of soybean and waste cooking oils under ultrasound system. *Industrial Crops and Products*, 80, 235-241.
7. A. A. Mendes, P. C. Oliveira, and H. F. de Castro. (2012). Properties and biotechnological applications of porcine pancreatic lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 78, 119-134.
8. A. Anand, and L. R. Weatherley. (2018). The performance of microbial lipase immobilized onto polyolefin supports for hydrolysis of high oleate sunflower oil. *Process Biochemistry*, 68, 100-107.
9. V. K. Rathod, and A. B. Pandit. (2009). Effect of various additives on enzymatic hydrolysis of castor oil. *Biochemical Engineering Journal*, 47(1-3), 93-99.

Ngày nhận bài: 4/1/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 4/2/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 14/2/2022

Thông tin tác giả:

1. ThS. ĐỖ ĐÌNH NHẬT

2. TRẦN LÊ VĨ AN

3. PHẠM THỊ THANH HƯƠNG

4. PHẠM THỊ THƯƠNG

Khoa Kỹ thuật thực phẩm và Môi trường

Đại học Nguyễn Tất Thành

EFFECT OF REACTION CONDITIONS ON THE LIPASE-CATALYZED HYDROLYSIS OF COCONUT OIL

● MSc. DO DINH NHAT¹

● TRAN LE VI AN¹

● PHAM THI THANH HUONG¹

● PHAM THI THUONG¹

¹Faculty of Environmental and Food Engineering
Nguyen Tat Thanh University

ABSTRACT:

This study examines the hydrolysis of coconut oil to recover free fatty acids by using lipase catalysis and explores the factor affecting the hydrolysis efficiency of coconut oil. The highest yield of this hydrolysis is up to 41.3% when the coconut oil is hydrolyzed for 3 hours with the ratio of coconut oil/buffer of 1/4 and the lipase content of 3%. This study's results are a premise to apply the hydrolysis of coconut oil to recover free fatty acids on a larger scale.

Keywords: hydrolysis, coconut oil, lipase.