

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH TRÍCH LY ENZYM LIPASE TỪ CÀM GẠO

Lê Hoàng Phương^{1*}, Nguyễn Văn Thành¹, Võ Tấn Thạnh¹, Lý Nguyễn Bình²

TÓM TẮT

Lipase là enzyme thuộc nhóm enzym thủy phân có tính đặc hiệu thủy phân chất béo tạo thành glycerin và các acid béo. Sự có mặt của lipase trong cám gạo là không mong muốn bởi vì nó chính là nguyên nhân gây hư hỏng nguyên liệu, do đó cần được loại trừ. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ trong quá trình trích ly lipase từ cám gạo được nghiên cứu. Hiệu quả của việc trích ly lipase ra khỏi cám gạo được đánh giá thông qua phản ứng thủy phân cơ chất là nhũ tương được tạo ra từ dầu oliu, chuẩn độ theo lượng NaOH để trung hòa lượng acid béo sinh ra. Kết quả cho thấy điều kiện tối ưu để trích ly lipase ra khỏi cám gạo được xác định là dung dịch nước muối có nồng độ 1M, tỷ lệ dung dịch muối so với cám gạo là 7 : 1 v/w và thời gian trích ly là 8 giờ.

Từ khóa: Tối ưu hóa, lipase, trích ly, cám gạo.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa gạo là một loại lương thực quan trọng đối với khoảng 3,5 tỷ người, chiếm 50% dân số thế giới. Qua quá trình xay xát có thể cung cấp được tối đa 70% gạo phục vụ lương thực cho con người và 8% cám gạo, là lớp ngoài hạt gạo bao gồm vỏ, aleurone, lớp subaleurone và mầm. Cám gạo chứa nhiều chất dinh dưỡng với 14% - 16% protein, 8% - 10% chất xơ, cũng là nguồn giàu vitamin B và các chất khoáng như sắt, kali, magiê, mangan, clo [9]. Sự hiện diện của các chất chống oxy hóa như tocopherols, tocotrienols và γ -oryzanol cũng là triển vọng của việc sử dụng cám gạo đối với con người [10]. Cám gạo có lợi cho việc điều trị bệnh tiểu đường loại 2 vì nó điều chỉnh lượng đường trong máu bằng cách tăng hoạt tính glucokinase và sản xuất glucokinase trong gan [4], làm giảm cholesterol [15], tác dụng hạ đường huyết ở con người [8].

Đặc biệt, cám gạo có hàm lượng chất béo tương đối cao (12% - 23%), chúng có thể bị chuyển hóa để tạo thành những sản phẩm khác nhau. Quá trình chuyển hóa này rất phức tạp, dưới tác dụng của một loạt các nhân tố và có enzyme hoặc không có enzyme xúc tác, lipid bị thay đổi trạng thái, màu sắc, có mùi vị khó chịu. Thường người ta gọi quá trình tổng hợp này là sự ôi hóa. Thực chất của sự ôi hóa là quá trình oxy hóa [6]. Trong cám gạo, phản ứng thủy phân được xúc tác bởi hoạt động của enzyme nội

bào (lipase) và nếu nguyên liệu kém chất lượng thì sự hư hỏng còn do vi khuẩn gây nên [1]. Sau khi lớp cám được tách ra khỏi nội nhũ, các tế bào được tách ra riêng biệt, các chất béo cám gạo tiếp xúc với enzyme lipase ở trạng thái hoạt động cao nên rất dễ bị phân hủy tạo ra các acid béo tự do. Các acid béo tự do dễ bị oxy hóa không chỉ tạo nên các gốc tự do mà còn tạo vị xấu cũng như làm mất giá trị dinh dưỡng. Vì vậy, việc loại trừ enzyme lipase có trong cám gạo là cần thiết. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định điều kiện tối ưu để trích ly enzyme lipase ra khỏi cám gạo nhằm tránh các ảnh hưởng bất lợi đến chất lượng của cám gạo trong quá trình bảo quản và chế biến.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Nguyên liệu: Cám gạo được thu trực tiếp tại cơ sở xay xát lúa gạo (giống lúa ST24), có màu vàng sáng tự nhiên, mùi thơm đặc trưng, không bị mốc, sâu mọt hay vón cục. Cám gạo được sàng loại bỏ tạp chất, bao gói cách ẩm và bảo quản ở nhiệt độ - 40°C.

- Hóa chất: Ethanol (C_2H_5OH) (Việt Nam), NaCl (Merck, Đức), NaOH 0,01N (Merck, Đức), Gum arabic (Pháp), Acetone (Việt Nam), Copper (II) chloride dihydrate ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) (Merck, Đức), Glycerol chuẩn (Merck, Đức) độ tinh khiết 99,5%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa

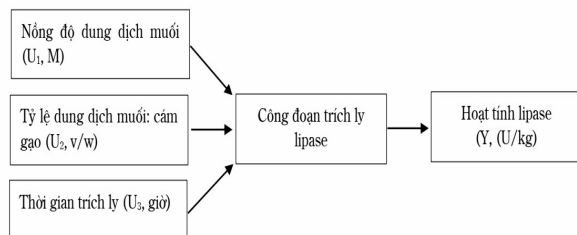
Thí nghiệm được bố trí với ba nhân tố độc lập là nồng độ dung dịch muối, tỷ lệ nguyên liệu và dung môi, thời gian trích ly. Sử dụng phương pháp bề mặt

¹ Trường Đại học Kiên Giang

* Email: lhphuong@vnkgu.edu.vn

² Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

đáp ứng (Response Surface Methodology) để xác định điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly lipase. Thiết kế thí nghiệm, phân tích thống kê và tìm mô hình hồi quy bằng phần mềm Stagraphics Centurion 15.0. Mô hình sử dụng trong nghiên cứu với kiểu thiết kế mô hình Box - Behnken được mô tả như sau:



Theo Lê Hoàng Phụng và cs (2021) [5] thì các yếu tố nồng độ dung môi, tỷ lệ dung môi : nguyên liệu và thời gian trích ly ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất trích ly. Các nhân tố khảo sát có khoảng biến thiên như sau: nồng độ dung dịch muối: $0 \leq U_1 \leq 2M$; tỷ lệ dung dịch muối : cám gạo: $5 : 1 \text{ v/w} \leq U_2 \leq 9 : 1 \text{ v/w}$; thời gian trích ly: $4 \text{ giờ} \leq U_3 \leq 12 \text{ giờ}$. Hàm mục tiêu là hoạt tính lipase ($Y, U/kg$) cao nhất. Bố trí quy hoạch thực nghiệm tối ưu hóa được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ma trận thực nghiệm với biến mã

Số nghiệm thức	U_1 (M)	U_2 (v/w)	U_3 (giờ)	x_1	x_2	x_3
1	1	5 : 1	4	0	-1	-1
2	0	9 : 1	8	-1	1	0
3	1	7 : 1	8	0	0	0
4	1	9 : 1	12	0	1	1
5	2	7 : 1	12	1	0	1
6	1	7 : 1	4	0	0	-1
7	1	7 : 1	8	0	0	0
8	2	7 : 1	4	1	0	-1
9	0	5 : 1	8	-1	-1	0
10	2	5 : 1	8	1	-1	0
11	1	5 : 1	12	0	-1	1
12	0	7 : 1	12	-1	0	1
13	2	9 : 1	8	1	1	0
14	1	9 : 1	4	0	1	-1
15	0	7 : 1	4	-1	0	-1

Kết quả (Y) là hoạt tính enzyme lipase xác định dựa vào các nhân tố được mã hóa ($x_i, i = 1, 2, 3$) là một phương trình đa thức bậc hai:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + \varepsilon$$

Trong đó: Y (U/kg) là hoạt tính lipase; x_1, x_2, x_3 lần lượt là nồng độ dung dịch muối (M), tỷ lệ dung dịch muối : cám gạo (v/w), thời gian trích ly (giờ); b_0 : hằng số; b_1, b_2, b_3 : ảnh hưởng tuyến tính đơn; b_{11}, b_{22}, b_{33} : ảnh hưởng bậc hai; b_{12}, b_{13}, b_{23} : ảnh hưởng tương tác; ε : sai số ngẫu nhiên.

Kết quả khảo sát nồng độ dung dịch muối, tỷ lệ dung dịch muối : cám gạo và thời gian trong quá trình trích ly lipase cám gạo được xử lý bằng phần mềm Stagraphic Centurion 15.0 trên cơ sở phân tích phương sai (ANOVA) tiến hành loại bỏ các hệ số hồi

quy không phù hợp và kiểm tra sự phù hợp của mô hình bằng chuẩn Fisher.

2.2.2. Phương pháp phân tích hoạt tính lipase

Hoạt tính enzyme sau khi trích ly được xác định theo phương pháp chuẩn độ acid - base (pH-stat) [12], [13]. Theo Bùi Hồng Quân và Nguyễn Đức Lượng (2009), một đơn vị hoạt tính của enzyme lipase được định nghĩa là lượng lipase cần thiết giải phóng ra $1 \mu M$ acid béo trong 1 phút ở điều kiện thí nghiệm (pH 9, nhiệt độ phòng) [2]. Cơ chất là nhũ tương dầu olive (20%) trong 5% gum arabic được chỉnh pH = 9. Nhũ tương được chuẩn bị mới trước ngày thí nghiệm và dùng hết trong ngày [7]. Hỗn hợp phản ứng gồm 4 mL nhũ tương dầu, 3,2 mL dung dịch đệm Tris - HCl (0,1M, pH 7,2), 0,8 mL enzyme lipase. Giữ mẫu ở nhiệt độ $30^\circ C$, trong 30 phút cho phản ứng xảy ra, sau đó thêm 16 mL acetone để