

# NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP CHẤT BÉO CẤU TRÚC CÓ CHỨA AXIT LINOLEIC NỐI ĐÔI LIÊN HỢP (CLA)

## STUDYING ON SYNTHESIS OF STRUCTURED LIPIDS CONTAINING CONJUGATED LINOLEIC ACIDS (CLA)

Vũ Phương Lan

*Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp*

Đến tòa soạn ngày 08/4/2017, chấp nhận đăng ngày 06/5/2017

**Tóm tắt:** Tổng hợp chất béo cấu trúc (structured lipid) chứa acid béo linoleic có nối đôi liên hợp (CLA) được thực hiện giữa CLA và dầu đậu nành có sử dụng enzyme làm chất xúc tác. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ giữa CLA và dầu đậu nành, lượng enzyme sử dụng, thời gian phản ứng đến lượng CLA liên kết vào phân tử triacylglyceride. Kết quả cho thấy 36,57 mole% CLA liên kết vào dầu đậu nành sau 48h phản ứng, với tỷ lệ CLA:dầu đậu nành là 4:1 và sử dụng 20% Rm lm. Thành phần acid béo và tính chất hoá lý của sản phẩm tổng hợp cũng được phân tích và đánh giá.

**Từ khóa:** Chất béo cấu trúc, dầu đậu nành, enzym, CLA.

**Abstract:** Synthesis of structured lipids containing conjugated linoleic acid (CLA) was synthesized between CLA and soybean oil using enzyme as catalysis. The effects of the mole ratio between CLA and soybean oil; amount of enzyme and reaction time were studied. The structured lipids which contained 36,57 mol% of CLA, was obtained after 48 h reaction time, with 4:1 molar ratio of CLA and soybean oil and 20% Rm lm. The fatty acid composition and chemical properties were also analyzed.

**Keywords:** Structured lipids, soybean oil, enzyme, CLA.

### 1. PHẦN MỞ ĐẦU

Đối với ngành công nghiệp thực phẩm, chất lượng dinh dưỡng của sản phẩm thực phẩm luôn là một yếu tố quan trọng để phát triển. Phần lớn các chất béo trong tự nhiên chứa nhiều acid béo chưa bão hoà tại vị trí sn-2 và acid béo bão hoà hoặc acid béo chưa bão hoà một nối đôi tại vị trí sn-1,3 của phân tử triacylglycerid (TAG). Sự phân bố acid béo trong phân tử triacylglycerid như vậy không hoàn toàn có lợi đối với dinh dưỡng người. Do đó, thay đổi cấu trúc phân tử TAG đã được thực hiện nhằm cải thiện tính chất hoá lý và giá trị dinh dưỡng bằng phương pháp hoá học hoặc enzyme. Chất béo cấu trúc

(structured lipids), thành phần của thực phẩm chức năng, được sử dụng nhằm tăng cường sức khoẻ cũng như điều trị bệnh [1,2].

Hiện nay, tổng hợp chất béo chứa acid béo chức năng có lợi cho sức khoẻ được nhiều nhà khoa học quan tâm và thực hiện [1,2]. Hơn nữa, acid linoleic có nối đôi liên hợp (conjugated linoleic acid - CLA) một đồng phân của acid linoleic, được biết đến như một acid béo cần thiết với nhiều lợi ích về mặt dinh dưỡng như tốt cho tim mạch, chống ung thư [3].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tổng hợp chất béo chức năng chứa CLA có sử dụng enzyme làm chất xúc tác.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Hỗn hợp conjugated linoleic acid (CLA) do công ty Livemax (Sungnam, Hàn Quốc) cung cấp. Hỗn hợp acid này chứa tổng số 70% các loại đồng phân CLA (70 CLATM).

Enzyme Lipozyme RM IM (từ *Rhizomucor miehei*) của Công ty Novozymes (Đan Mạch).

Các dung môi, hoá chất sử dụng cho phân tích được mua từ Công ty Fisher Scientific (Norcross, Mỹ).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Tổng hợp chất béo chức năng có chứa CLA

Chất béo chức năng được tổng hợp từ dầu đậu nành và CLA. Chuẩn bị dầu đậu nành, CLA và enzyme theo tỷ lệ yêu cầu, đặt trong lọ 25 ml có nắp vặn. Phản ứng được tiến hành trong thiết bị ổn nhiệt, khuấy đảo bằng thanh khuấy từ với tốc độ 200 vòng/phút, tại 50°C. Tỷ lệ giữa CLA và dầu đậu nành, lượng enzyme sử dụng và thời gian phản ứng là những yếu tố được khảo sát.

Sau khi phản ứng kết thúc, tiến hành lọc hỗn hợp phản ứng để loại bỏ enzyme. Sau đó, tiến hành loại bỏ acid tự do như sau: mẫu thí nghiệm (20g) được đưa vào phễu tách, thêm vào 120 ml 0,5N KOH (trong etanol), 4-5 giọt phenolphthalein, và 250 ml hexane. Loại bỏ pha nước và thu lại pha hexane. Bay hơi hexane bằng thiết bị cô quay chân không và khí nitơ.

#### 2.2.2. Phân tích chất hoá lý

Chỉ số acid, iot và xà phòng được xác định theo phương pháp của AOCS (AOCS 1990).

#### 2.2.3. Phân tích thành phần acid béo

Mẫu thí nghiệm (khoảng 5 mg) được đặt vào ống nghiệm có nắp vặn. Tiếp theo, BF<sub>3</sub> trong methanol (3 ml) và 50 µl heptadecanoic acid (chất nội chuẩn, 1 mg/ml trong hexane) được cho vào ống nghiệm.

Mẫu được đặt vào tủ sấy trong 2 h tại nhiệt độ 90°C, rồi làm lạnh nhanh trong đá. Heptane (2 ml) được sử dụng để tách phần acid béo đã methyl hoá, và đem đi phân tích bằng GC.

Thành phần acid béo được phân tích bằng sắc ký khí (GC) HP 6890 với đầu dò FID. Cột sắc ký SP-Wax fused-silica capillary 60m × 0,25 mm i.d. của Supelco được sử dụng cho phân tích này. Cột sắc ký được giữ tại 100°C trong 5 phút, sau đó tăng lên 220°C với tốc độ tăng nhiệt 4°C/phút, và giữ trong 20 phút. Khí N<sub>2</sub> được sử dụng làm khí mang với tốc độ 52 ml/phút ở chế độ split 50:1. Nhiệt độ bộ phận tiêm mẫu và đầu dò lần lượt là 250°C và 260°C.

#### 2.2.4. Phân tích acid béo tại vị trí sn-2

Sử dụng enzyme pancreatic để phân tích acid béo tại vị trí sn-2 của phân tử triacylglycerid theo phương pháp của Lee&Akoh, 1996 [4].

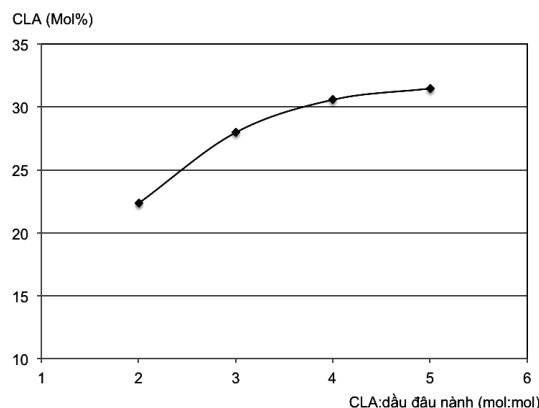
#### 2.2.5. Xử lý số liệu

Dùng phần mềm Microsoft Office Excel 2010.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ CLA: dầu đậu nành đến lượng CLA liên kết vào triacylglyceride

Tiến hành phản ứng với tỷ lệ CLA: dầu đậu nành (mol/mol) là 2:1; 3:1; 4:1; 5:1, lượng enzyme sử dụng 10% so với khối lượng. Thí nghiệm được tiến hành trong 24 giờ, tại nhiệt độ 50°C

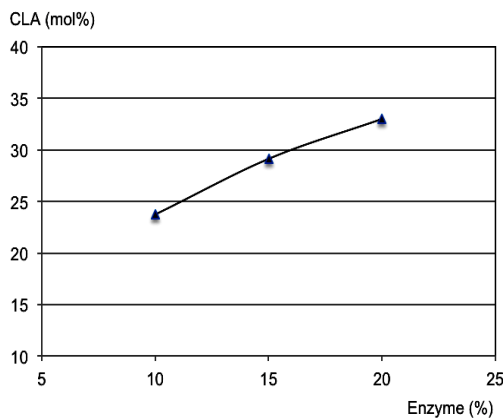


Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ CLA: dầu đậu nành tới lượng CLA (mol%) liên kết

Kết quả được thể hiện trong hình 1. Trong hỗn hợp phản ứng diễn ra đồng thời hai phản ứng thủy phân và ester hoá, khi một acid béo giải phóng ra, sẽ có một acid béo khác liên kết lại vào glycerol. Do đó, khi tăng tỷ lệ acid tự do (trong nghiên cứu này là CLA) so triacylglyceride thì sẽ tăng khả năng liên kết của acid đó vào phân tử triacylglyceride. Với nghiên cứu này, khi tỷ lệ tăng từ 2 lên 3 (theo mol) lượng CLA liên kết tăng từ 22,37mol% lên 27,98 mol% (tăng 5,61 mol%); từ 3 lên 4 lượng CLA liên kết được 30,57 mol% (tăng 2,59 mol%); từ 4 lên 5 tăng thêm 0,89 mol%. Từ đó, ta nhận thấy lượng CLA liên kết vào dầu đậu nành không tuyến tính so với tỷ lệ CLA: dầu đậu nành, đặc biệt khi tỷ lệ này cao hơn 4. Do vậy nhóm nghiên cứu lựa chọn tỷ lệ giữa CLA và dầu đậu nành là 4 cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.2. Khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ enzyme đến lượng CLA liên kết vào dầu đậu nành

Tiến hành thí nghiệm tương tự như thí nghiệm trên với tỷ lệ CLA: dầu đậu nành là 4:1 và tỷ lệ enzyme Rm Im sử dụng khác nhau lần lượt gồm 10, 15 và 20% theo khối lượng nguyên liệu



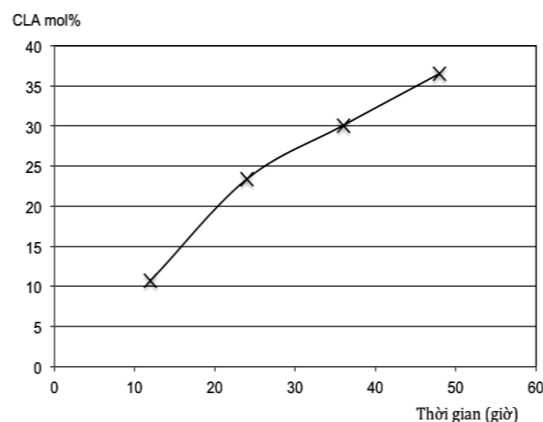
**Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme xúc tác đến lượng CLA (mol%) liên kết vào dầu đậu nành**

Kết quả thí nghiệm cho thấy khi tăng lượng

enzyme sử dụng thì lượng CLA liên kết vào triacylglyceride của dầu đậu nành tăng. Với nghiên cứu này, thì lượng CLA liên kết vào dầu đậu nành đạt được cao nhất là 32,98 mol% khi sử dụng 20% enzyme. Cossignani và cộng sự (2004) [5] đã tiến hành tổng hợp chất béo cấu trúc từ dầu đậu nành với lượng enzyme sử dụng từ 10-30%, kết quả cho thấy khi tăng lượng enzyme từ 20 lên 30% (tăng 10%) nhưng lượng acid liên kết vào không tăng đáng kể. Do đó, nhóm nghiên cứu không tiếp tục tăng tỷ lệ enzyme mà lựa chọn tỷ lệ enzyme là 20% so với khối lượng cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.3. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến lượng CLA liên kết vào dầu đậu nành

Tiến hành thí nghiệm với điều kiện nêu tại với tỷ lệ CLA:dầu đậu nành là 4:1, lượng enzyme 20% trong 12, 24, 36 và 48 giờ. Kết quả thí nghiệm trình bày trong hình 3.



**Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến lượng CLA liên kết vào dầu đậu nành**

Lượng CLA liên kết vào dầu đậu nành tăng dần theo thời gian phản ứng. Và sau 48 giờ phản ứng, CLA liên kết vào dầu đậu nành cao nhất là 36,57 mol%. Lượng CLA liên kết vào dầu đậu nành tăng nhanh vào giai đoạn từ 12 giờ đến 24 giờ phản ứng, sau đó thì tốc độ tăng chậm hơn. Điều này có thể do sự cạnh tranh giữa các acid tự do trong hỗn hợp phản ứng. Hơn nữa, theo nghiên cứu của

Cossignani và cộng sự (2004) [5], thời gian phản ứng từ 0 đến 48 giờ lượng acid béo tự do liên kết vào dầu đậu nành theo tăng dần và sau đó giảm xuống. Nên chúng tôi chọn thời gian phản ứng là 48 giờ. Sản phẩm dầu đậu nành chức năng được tiến hành các phân tích tiếp theo gồm thành phần acid béo và một số chỉ tiêu hoá học.

### 3.4. Phân tích tính chất hoá lý của sản phẩm chất béo chức năng chứa CLA

Thành phần acid béo của dầu đậu nành và của chất béo chức năng chứa CLA tổng hợp được trình bày trong bảng 1. So sánh thành phần acid béo giữa dầu đậu nành và dầu đậu nành chức năng, CLA không có trong thành phần acid béo của dầu đậu nành. Sau 48 giờ phản ứng, CLA đã liên kết vào triacylglycerid của dầu đậu nành chức năng và do đó trong thành phần axit béo của sản phẩm có 36,57 mol% CLA.

**Bảng 1. Thành phần acid béo của dầu đậu nành và dầu đậu nành chức năng**

Acid béo	Dầu đậu nành		Dầu đậu nành chức năng <sup>(1)</sup>	
	sn-1,3	Tổng số	sn-1,3	Tổng số
16:00	10,45	9,23	8,94	7,12
16:01	0,1	0,33	0,23	0,19
18:00	1,82	2,15	1,81	1,21
18:01	34,73	27,87	17,99	21,37
18:02	52,01	54,3	21,48	30,82
18:03	0,89	6,12	0,42	2,72
CLA	-	-	49,13	36,57

(1) Dầu đậu nành chức năng tổng hợp được tại mục 3.3 sau 48 giờ phản ứng

Thành phần acid béo trong dầu đậu nành chủ yếu là acid linoleic (C18:2) và acid oleic

(C18:1) lần lượt chiếm 54,30 và 27,87 mol%. Sau khi tiến hành phản ứng với CLA, hai acid này giảm xuống còn 30,82 và 21,37 mol%.

Trong phân tử triacylglycerid, acid béo liên kết vào vị trí sn-1,3 có vai trò quan trọng trong dinh dưỡng của người. Sau khi phân tách acid béo tại hai vị trí này và phân tích, kết quả cho thấy CLA chủ yếu liên kết vào hai vị trí sn-1 và sn-3 của phân tử triacylglycerid của dầu đậu nành. Đối với dầu đậu nành, tại vị trí sn-1,3 chiếm tỷ lệ cao nhất cũng là acid linoleic và acid oleic. Trong khi đó, dầu đậu nành chức năng thì CLA chiếm tỷ lệ cao nhất với 49,13 mol% tiếp theo là acid linoleic 21,48 mol% và acid oleic 17,99 mol%. Điều này cho thấy rằng, CLA chủ yếu thay thế cho các acid tại vị trí sn-1,3. Vậy sản phẩm của phản ứng tổng hợp có giá trị sử dụng cao khi mà cơ thể người chỉ có khả năng giải phóng được các acid béo tại vị trí sn-1,3 để cơ thể sử dụng.

Chỉ số hoá học của chất béo gồm chỉ số acid, chỉ số iot và chỉ số xà phòng được trình bày trong bảng 2. Hỗn hợp phản ứng sử dụng tỷ lệ CLA tự do cao hơn so với dầu đậu nành, nên chỉ số acid tự do của hỗn hợp phản ứng (dầu đậu nành chức năng) chắc hẳn sẽ có giá trị cao. Tuy nhiên, sau khi tiến hành tinh chế mẫu thí nghiệm bằng kiềm, thì chỉ số acid của dầu đậu nành chức năng đạt giá trị là 0,5 tương đương như với dầu đậu nành. Điều này cho thấy, acid béo tự do trong hỗn hợp phản ứng đã được tách một cách hiệu quả với phương pháp lựa chọn tại nghiên cứu này. Không chỉ có acid béo giải phóng ra từ triacylglyceride của dầu đậu nành qua phản ứng thủy phân mà CLA không phản ứng đã được loại bỏ khỏi hỗn hợp sau phản ứng. Chỉ số iot và chỉ số xà phòng hoá có sự khác nhau giữa dầu đậu nành và dầu đậu nành chức năng do CLA đã thay thế các acid béo nguyên gốc.

**Bảng 2. Phân tích chỉ số hoá học chất béo của dầu đậu nành và dầu đậu nành chức năng**

Chỉ số	Dầu đậu nành	Dầu đậu nành chức năng
Acid tự do	0,5	0,5
Iot	124	121
Xà phòng hoá	196	188

#### 4. KẾT LUẬN

Nhóm nghiên cứu đã tổng hợp được chất béo

chức năng từ dầu đậu nành với CLA có sử dụng enzyme làm chất xúc tác. Với điều kiện phản ứng: tỷ lệ CLA:dầu đậu nành là 4:1; 20% enzyme RmIm; thời gian 48 giờ, nhiệt độ phản ứng 50°C và tốc độ khuấy 200 vòng/phút thì CLA liên kết vào triacylglyceride được 36,57 mol%. Và CLA chủ yếu liên kết vào vị trí sn-1,3 của phân tử triacylglyceride - vị trí có giá trị cao về dinh dưỡng.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Gunstone, F.D., *Structured and modified lipids*. Marcel Dekker Inc, New York, USA, 2001.
- [2] Xu, X., *Enzyme bioreactor for lipid modifications*. INFORM, 11: 1004-1012, 2000.
- [3] McDonald, H.B., Conjugated linoleic acid and disease prevention: A review of current knowledge, *Journal of the American College of Nutrition*, 19 (2), 111S-118S, 2000.
- [4] Lee, K.T., Akoh, C.C., Immobilized lipase-catalyzed production of structured lipids with eicosapentaenoic acid at specific positions, *Journal of American Oil Chemists' Society*, 73, 611-615, 1996.
- [5] Cossignani, L., Damiani, P., Simonetti, M.S., Mañes, J., Biocatalyzed acidolysis of soybean oil triacylglycerols to increase oleic acid content, *Journal of Chromatography A*, 1052, 167-170, 2004.

Thông tin liên hệ:

**Vũ Phương Lan**

Điện thoại: 098-667-3235 - Email: vplan@uneti.edu.vn

Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp.

