BỘ CÔNG THƯƠNG
VIỆN CÔNG NGHIỆP THỰC PHẨM
PHÂN VIỆN CÔNG NGHIỆP THỰC PHẨM TẠI TPHCM

BÁO CÁO KHOA HỌC

ĐỀ TÀI

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT DẦU TỪ HẠT BÍ ĐỎ BẰNG PHƯƠNG PHÁP ENZYM

7318
23/4/2009

Thành phố Hồ Chí Minh, 12/2008

BỘ CÔNG THƯƠNG
VIỆN CÔNG NGHIỆP THỰC PHẨM
PHÂN VIỆN CÔNG NGHIỆP THỰC PHẨM TAI TPHCM

BÁO CÁO KHOA HỌC

ĐỀ TÀI

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT DẦU TỪ HẠT BÍ ĐỎ BẰNG PHƯƠNG PHÁP ENZYM

Chủ trì thực hiện: ThS. Lưu Thị Lệ Thủy

Cộng tác viên: CN. Tô Lan Phương
ThS. Võ Tấn Hậu
KS. NguyễnThị Thà
KS. Nguyễn Anh Quân
CN. Lê Khiêm Hùng
KS. Dương Minh Khải

Thành phố Hồ Chí Minh, 12/2008

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1: Các thành phần có trong hạt bí và nhân hạt bí *C. maxima* 4

Bảng 2: Thành phần các axít amin trong nhân hạt bí *C. maxima* 4

Bảng 3: Đặc tính lý hoá của dầu nhân hạt bí 6

Bảng 4: Thành phần (%) các axít béo trong nhân hạt bí *C. maxima* 6

Bảng 5: Sản lượng dầu tách chiết và thành phần axít béo (g/100g tổng axít béo) trong các giống bí phổ biến 7

Bảng 6: Hàm lượng phytosterol trong dầu hạt bí 8

Bảng 7: So sánh quy trình chiết xuất dầu bằng nước và dung môi; khả năng cải tiến công nghệ 11

Bảng 8: Hiệu suất thu hồi dầu (%) trong trường hợp tách chiết dầu bằng nước có dùng enzym và không dùng enzym 16

Bảng 9: Tương quan giữa thời gian thử nghiệm và nhiệt độ 18

Bảng 10: Thành phần hóa sinh của các mẫu nhân hạt bí 20

Bảng 11: Thành phần axít béo trong các mẫu dầu nhân hạt bí chiết bằng dung môi 21

Bảng 12: Tiêu chuẩn nguyên liệu hạt bí đỏ giống Việt Nam 21

Bảng 13: Ảnh hưởng của loại enzym lên hiệu suất tách chiết dầu 22

Bảng 14: Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất tách chiết dầu 23

Bảng 15: Ảnh hưởng của nồng độ enzym đến hiệu suất chiết dầu 23

Bảng 16: Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất tách chiết dầu 24

Bảng 17: Thiết kết Box-Behnken 3 nhân tố và đáp ứng (hiệu suất thu hồi Y) 25

Bảng 18: Các giải pháp tối ưu và hiệu suất thu hồi dầu 26

Bảng 19: Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đền hiệu suất thu nhận dầu 27

Bảng 20: Ảnh hưởng của thời gian ly tâm đến hiệu suất thu nhận dầu 29

Bảng 21: Đặc tính và thành phần axít béo của mẫu dầu chiết bằng các phương pháp khác nhau ở điều kiện thực nghiệm 30

Bảng 22: Sự thay đổi chất lượng dầu theo thời gian lão hóa tăng tốc 31

Bảng 23: Ước tính chi phí nguyên liệu vật tư để sản xuất 100 kg dầu hạt bí đỏ 32

DANH MỤC SƠ ĐỒ VÀ ĐỒ THỊ

Sơ đồ 1: Quy trình thu nhận dầu 17

Sơ đồ 2: Qui trình công nghệ sản xuất dầu hạt bí đỏ 28

Đồ thị 1: Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hiệu suất tách chiết dầu 25

Đồ thị 2: Sự thay đổi % FFA trong thử nghiệm lão hóa tăng tốc 28

Đồ thị 3: Sự thay đổi chỉ số peroxyt trong thử nghiệm lão hóa tăng tốc 31

KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Thuật ngữ tiếng Anh	Tiếng Việt
AAR	Accelerated Aging Rate	Tốc độ lão hóa tăng tốc
AAT	Accelerated Aging Temperature	Nhiệt độ lão hóa tăng tốc
AATD	Accelerated Aging Time Duration	Thời gian lão hóa tăng tốc
AEP	Aqueous Extraction Process	Quy trình chiết xuất bằng nước
AT	Ambient Temperature	Nhiệt độ phòng
BHT	Butylated Hydroxytoluene	
BPH	Benign Prostatic Hyperplasia	Hội chứng tăng sinh tuyến tiền liệt
DRTA	Desired Real Time Aging	Thời gian bảo quản mong muốn
E/S	Enzyme/Substrate	Tỷ lệ enzym/cơ chất
EFAs	Essential Fatty Acids	Các axit béo thiết yếu
FFA	Free Fatty Acid	Axit béo tự do
LA	Linoleic Acid	
LNA	Linolenic Acid	
Q10	Accelerated Aging Factor	Nhân tố lão hóa tăng tốc
RSM	Response Surface Methodology	Phương pháp đáp ứng bề mặt
SEM	Scanning Electron Microscopy	Kính hiển vi điện tử quét
TPP	Three phase partitioning	Kỹ thuật phân tách ba pha
v/p		Số vòng quay trong 1 phút
W/S	Water/Substrate	Tỷ lệ nước/ cơ chất

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU 6
1. TỔNG QUAN 7
1.1. Cơ sở xuất xứ của đề tài 7
1.2. Tính cấp thiết và mục tiêu nghiên cứu của đề tài 7
1.3. Phạm vi và nội dung nghiên cứu 7
1.4. Tổng quan tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước 7
1.4.1. Giới thiệu chung về cây bí đỏ 7
1. 4.1.1. Đặc điểm, thành phần sinh hóa của hạt bí 9
1.4.1.2. Đặc tính hóa lý của dầu hạt bí 10
1.4.1.3. Vai trò của dầu hạt bí đối với sức khỏe con người 13
1.4.2. Các phương pháp chiết xuất dầu truyền thống 14
1.4.3. Tách chiết dầu bằng enzym 16
1.4.4. Tình hình nghiên cứu tách chiết dầu bằng phương pháp enzym 18
1.4.4.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới 18
1.4.4.2. Tình hình nghiên cứu trong nước 20
2. THỰC NGHIỆM 22
2.1. Phương pháp tiến hành nghiên cứu 22
2.2. Nguyên vật liệu - dụng cụ - thiết bị 24
2.3. Kết quả thực nghiệm 25
2.3.1. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu 25
2.3.1.1. Lựa chọn nguyên liệu 25
2.3.1.2. Xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu 27
2.3.2. Nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ thu nhận dầu 28
2.3.2.1. Nghiên cứu lựa chọn enzym 28
2.3.2.2. Nghiên cứu xác định các thông số kỹ thuật của quy trình tách chiết dầu 28
2.3.2.3. Xây dựng qui trình công nghệ và lựa chọn thiết bị sản xuất 31
2.3.3. Đánh giá chất lượng sản phẩm 34
2.3.4. Nghiên cứu bảo quản sản phẩm 35
2.3.5. Khái toán nguyên liệu, vật tư để sản xuất dầu hạt bí đỏ 36
3. KẾT LUẬN - KIẾN NGHỊ 38
3.1. Kết luận 38
3.2. Kiến nghị 38
TÀI LIỆU THAM KHẢO 39
PHỤ LỤC ..... Error! Bookmark not defined.

MỞ ĐẦU

Lipid là một tập hợp các chất béo có nguồn gốc từ động vật và thực vật. Các chức năng sinh học chính của chất béo là dự trữ năng lượng, tham gia cấu trúc màng tế bào, dẫn truyền tín hiệu, hấp thu các vitamin A, D, E, K và carotenoid. Do vậy chất béo có vai trò quan trọng đối với dinh dưỡng và sức khỏe.[16]

Hầu hết lipid có trong thực phẩm ở dạng triacylglycerol, cholesterol và phospholipid. Các axít béo no (triacylglycerol) trong thức ăn được tích trữ ở mô mỡ và có năng lượng cao hơn so với các axít béo không no. Các axít béo mạch dài như glycero-phospholipid tham gia cấu trúc lớp đôi lipid của màng tế bào vì vậy thành phần axít béo trong khẩu phần ăn ảnh hưởng đến chức năng của tế bào do có ảnh hưởng đến thuộc tính của màng. [6]

Các steroid (gồm cholesterol và các dẫn xuất) là thành phần quan trọng của lipid màng có vai trò như các hormon và các phân tử truyền tín hiệu trong tế bào.

Các nghiên cứu gần đây khẳng định các axít béo không no không làm tăng mức độ cholesterol và LDL (*Low Density Lipoprotein*) trong máu. Việc sử dụng các axít béo không no sẽ duy trì mức độ bình thường của cholesterol trong máu giúp ngăn ngừa các bệnh về tim mạch và các nguy cơ gây xơ vữa động mạch.[6]

Con người rất cần các axít béo thiết yếu như axít linoleic (omega -6) và axít α-linolenic (omega-3) vì không thể tổng hợp được. Axít linoleic có ở hầu hết các loại dầu thực vật, còn axít α-linolenic có ở các loại rau xanh, các loại hạt hoặc quả (quả lanh, quả hồ đào, đậu nành) và dầu cá.

Hiện nay, nguồn cung cấp chất béo dùng làm thực phẩm chủ yếu từ các nguyên liệu truyền thống như đậu nành, mè, đậu phộng…Việc khai thác các loại dầu thực vật ngày càng được quan tâm nhằm sử dụng có hiệu quả các axít béo không no thiết yếu phục vụ nhu cầu ngày càng cao của người tiêu dùng.

Một số nghiên cứu về thành phần của hạt bí đỏ cho thấy tiềm năng khai thác dầu từ loại nguyên liệu này. Với tỷ lệ dầu khá cao (30-40%), trong đó hơn 70% là các axít béo không no (chủ yếu là axít linoleic - trên 50%) có tác dụng giảm cholesterol trong máu ngăn ngừa các bệnh về tim mạch. Ngoài ra, hạt bí đỏ còn có các hoạt chất sinh học Δ7-phytosterol có vai trò ngăn ngừa sự phát triển của tuyến tiền liệt ở người cao tuổi, các chất chống oxi hóa như vitamin E và carotenoid có vai trò duy trì và cải thiện sức khỏe.

Dầu hạt bí đỏ có hàm lượng cao các axít béo thiết yếu, các vitamin và phytosterol nên nó được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp thực phẩm và dược phẩm. Vì vậy nhóm đề tài tiến hành "Nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ sản xuất dầu từ hạt bí đỏ bằng phương pháp enzym" nhằm nâng cao hiệu suất tách chiết và bảo tồn các chất dinh dưỡng có trong dầu. Đây là một kỹ thuật tương đối mới ở Việt nam có tiềm năng ứng dụng trong thực tiễn do tiết kiệm chi phí sản xuất và chi phí đầu tư, không gây độc đối với môi trường sản xuất.

1. TỔNG QUAN

1.1. Cơ sở xuất xứ của đề tài

Đề tài được thực hiện theo Quyết định số 1999/QĐ-KHCN ngày 03/12/2007 của Bộ trưởng Bộ Công thương về việc giao kế hoạch Khoa học Công nghệ năm 2008 cho Viện Công nghiệp thực phẩm và hợp đồng nghiên cứu khoa học và phát triển số 141.08.RD/HĐ-KHCN ngày 04/02/2008 giữa Bộ Công thương và Viện Công nghiệp thực phẩm. (*Chi tiết hợp đồng tại phần phụ lục*)

1.2. Tính cấp thiết và mục tiêu nghiên cứu của đề tài

Ở Việt nam, bí đỏ được trồng rất phổ biến để làm rau ăn, hạt bí đỏ thường được phơi khô, rồi rang để làm thực phẩm. Mặc dù chưa có số liệu thống kê về sản lượng và vùng chuyên canh nhưng hạt bí đỏ thì rất sẵn có và đây là nguồn nguyên liệu chứa dầu rất giá trị. Vì vậy, việc nghiên cứu tách chiết dầu hạt bí đỏ dùng làm thực phẩm, dược phẩm là rất cần thiết.

Mục tiêu nghiên cứu của đề tài là *xây dựng qui trình công nghệ sản xuất dầu hạt bí đỏ đạt tiêu chuẩn dùng trong thực phẩm*.

1.3. Phạm vi và nội dung nghiên cứu

Phạm vi nghiên cứu: ứng dụng công nghệ sinh học trong chế biến thực phẩm. Các nội dung nghiên cứu gồm:

- Điều tra, đánh giá và xác định nguồn nguyên liệu hạt bí đỏ, xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu.
- Nghiên cứu xác định loại enzym thích hợp cho quá trình thu nhận dầu hạt bí đỏ. Xác định các điều kiện công nghệ sử dụng enzym trong chiết tách dầu.
- Xây dựng qui trình công nghệ, thiết bị sản xuất dầu từ hạt bí đỏ bằng phương pháp enzym.

1.4. Tổng quan tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước

1.4.1. Giới thiệu chung về cây bí đỏ

Bí đỏ có tên khoa học là *Cucurbita pepo...* thuộc họ *Cucurbitaceae*, có nguồn gốc từ Trung Mỹ. Bí đỏ là loại cây thân thảo được trồng ở khắp nơi, tập trung từ vùng đồng bằng đến các cao nguyên có cao độ 1.500m, thích nghi với điều kiện khí hậu ở vùng nhiệt đới. Bí đỏ là cây chịu úng kém nhưng khả năng chịu hạn khá cao. Đây là loại cây được trồng để lấy quả, hoa và ngọn để làm rau ăn. Hạt được dùng làm làm thực phẩm và thuốc chữa bệnh giun sán. [16,21,27]

Chi *Cucurbita* L. có khoảng 25 loài, được chia thành 2 loại: giống bí mùa đông (winter pumpkin) gồm các giống: *C. maxima, C. moschata* Duch., *C. argyrosperma* Huber và giống bí mùa hè (summer pumpkin) chủ yếu là *C. pepo* L.

Khí hậu, thổ nhưỡng và yếu tố di truyền có ảnh hưởng đến thành phần axít béo, đặc biệt là yếu tố di truyền tạo nên sự khác nhau về thành phần axít béo của hạt.

Ở Việt Nam có một số giống bí đỏ được trồng phổ biến như: [27]

- *Giống bí Vàm Răng*: được trồng ở các tỉnh Kiên Giang, Cần Thơ, Sóc Trăng. Trái tròn dẹp, có khía, nặng 3-5 kg, trái già màu vàng, vỏ hai da, cùi dầy, màu vàng tươi.
- *Giống bí trái dài Buôn Mê Thuột*: trồng ở vùng miền Đông Nam Bộ và Tây Nguyên. Trái bầu dục, dài, nặng 1-2 kg, vỏ có màu vàng xanh hay vàng, trơn láng hay sần sùi, cùi mỏng, màu vàng tươi đến vàng cam.
- *Giống bí hạt đậu F1- 979*: do Công ty liên doanh hạt giống Đông Tây lai tạo, được trồng ở tỉnh Vĩnh Phúc. Cây phân nhánh mạnh, phát triển tốt. Quả có độ đồng đều, tỷ lệ đậu quả cao, trọng lượng quả 0,8-1,2 kg. Ruột quả đặc, màu vàng cam, ngọt và ít hạt.
- *Giống bí trái dài F1-125*: là giống bí cao sản do Công ty liên doanh hạt giống Đông Tây lai tạo, quả hình thuôn dài, thời gian sinh trưởng mạnh. Ruột đặc màu vàng cam, vị ngọt, bở, trọng lượng 2-3 kg. Vỏ quả màu xanh, cứng và có phấn phủ. Do vậy việc bảo quản và vận chuyển rất thuận lợi. Ưu điểm của giống F1-125 là khả năng thích ứng tốt, có thể trồng trên nhiều loại đất khác nhau. Tuy nhiên, giống này có nhược điểm là dễ bị thối quả.
- *Giống bí cô tiên*: do Công ty giống cây trồng Nông Hữu (Đồng Nai) cung cấp. Cây ngắn ngày, sinh trưởng khỏe, có khả năng kháng vi-rút. Trọng lượng quả 1,1-1,2 kg, thịt quả dày, màu cam.
- *Giống bí đỏ Delica*: giống nhập ngoại của công ty Takis (Nhật Bản), quả tròn, vỏ màu xanh đậm, không có khía được trồng ở Đức Trọng (Lâm Đồng) và Lục Nam (Bắc Giang). Thịt quả màu vàng đỏ, ăn rất dẻo, ngon, ngọt, bùi, độ đường 10-12°, trọng lượng từ 2-2,5 kg.

<u>*Thời vụ*</u>: bí đỏ được trồng quanh năm, thông thường có hai vụ chính: mùa khô và mùa mưa. Vào mùa khô, hạt được gieo vào tháng 11 đến tháng 1, thu hoạch vào tháng 3 - 4; mùa mưa gieo hạt từ tháng 5-6, thu hoạch vào tháng 8-9.

<u>*Công dụng:*</u>

Quả bí đỏ chứa 88,3 - 87,2% nước; protein 1,33 - 1,4%; lipid 0,43 - 0,5%; đường 2,81%; caroten, xanthophin, chất xơ, các nguyên tố vi lượng như sắt, mangan,...Quả bí chủ yếu được dùng làm rau, nấu súp, nấu chè.

Hạt bí đỏ (chủ yếu là giống *Cucurbita pepo* L. & *C. maxima* Duch) được dùng làm thực phẩm, nấu ăn hoặc làm thuốc ở các nước Châu Âu và Châu Á. Hạt bí đỏ được sử dụng như một dược liệu truyền thống trị giun sán, là một trong những thực phẩm chứa các axít béo thiết yếu và phytosterol trị bệnh u tuyến tiền liệt. [16]

1. 4.1.1. Đặc điểm, thành phần sinh hóa của hạt bí

Hạt bí chứa 39,25% protein thô; 27,83% dầu thô; 4,59% tro và 16,84% chất xơ; giá trị tương ứng lần lượt trong nhân hạt bí là 39,22; 43,69; 5,14 và 2,13%. Độ ẩm trong hạt cũng như trong nhân hạt ở mức thấp lần lượt là 5,97 ± 0,32% và 6,27±1,36% (*Kamel và cộng sự*, 1982).

Bảng 1: Các thành phần có trong hạt bí đỏ và nhân hạt bí đỏ C. maxima [21]

Thành phần (%)	Trong hạt	Trong nhân
Protein thô	39,25 ± 0,66	39,22 ± 2,46
Dầu thô	27,83 ± 0,91	43,69 ± 3,92
Tro tổng số	4,59 ± 0,16	5,14 ± 1,23
Xơ thô	16,84 ± 0,81	2,13 ± 0,57
Carbohydrate	11,48 ± 2,53	9,82 ± 2,70

Protein: Hàm lượng protein thô chiếm khoảng 35% trong đó albumin và globulin là 2 thành phần chính chiếm khoảng 59% protein tổng số. Các chất ức chế trypsin có trọng lượng phân tử thấp (cấu trúc gồm 3 cầu disulfide) được xác định.

Bảng 2: Thành phần các axít amin trong nhân hạt bí đỏ C. maxima [16]

Axít amin	Hàm lượng (g/100g)	Axít amin	Hàm lượng (g/100g)
Methionine	1,83 ± 0,05	Valine	4,45 ± 0,06
Tyrosine	3,26 ± 0,01	Histidine	2,66 ± 0,01
Phenylalanine	5,29 ± 0,06	Arginine	15,80 ± 0,22
Leucine	7,25 ± 0,05	Aspartic	9,56 ± 0,05
Isoleucine	3,59 ± 0,03	Glutamic	23,23 ± 0,23
Lysine	3,71 ± 0,01	Serine	5,85 ± 0,03
Threonine	3,04 ± 0,03	Glycine	6,01 ± 0,05
Tryptophan	1,10 ± 0,04	Alanine	5,12 ± 0,10
Tổng các axít amin thiết yếu	33,52	*Tổng các axít amin không thiết yếu*	68,23

Hạt bí đỏ có tỷ lệ protein có thể tiêu hóa rất cao (90%) [21]. Các axít amin có hàm lượng thấp nhất là methionine và tryptophan trong khi các axít amin như arginine, glutamic và aspartic lại rất dồi dào. Bột hạt bí đỏ có hàm lượng các axít amin (ngoại trừ lysine) cao hơn hẳn so với bột đậu nành.

Lipid:

Hàm lượng dầu thô trong nhân hạt bí đỏ chiếm từ 41-59%, phụ thuộc vào sự đa dạng di truyền.

Dầu thô chiết xuất từ hạt bí đỏ có 7 lớp lipid xuất hiện khi phân tích bằng sắc ký lớp mỏng gồm: hydrocarbon (0,62%), triglyceride (94,5%), axít béo tự do (1,44%),

steroid (1,01%), diglyceride (0,39%), monoglyceride (0,93%) và phospholipide (1,09%). Triglyceride là phân đoạn lipid chính trong dầu hạt bí đỏ.[22]

Thành phần axít béo của dầu hạt bí đỏ ảnh hưởng bởi điều kiện gieo trồng, điều kiện sinh trưởng và mức độ chín. Hạt của giống *Cucurbita pepo* sub sp *pepo var styriaca* chứa hơn 80% axít béo không no (chủ yếu là các axít béo nhiều nối đôi) chủ yếu là linoleic, oleic, palmitic và stearic chiếm 98,1 - 98,7% trong tổng số axít béo. Ngoài các axít béo trên còn 1 lượng vết (<0,5%) các axít béo khác như 16:1, 18:3, 20:4, 20:0, 22:6, 24:0.

Với những protein và lipid trong nhân hạt cũng như thành phần các chất béo, các axít amin của nó như trên thì nhân hạt bí hứa hẹn sẽ là sản phẩm được khai thác thương mại.

Khoáng chất [22]

Trong hạt bí đỏ chứa nhiều loại khoáng khác nhau và hàm lượng của chúng phụ thuộc vào điều kiện trồng cũng như chủng giống. Trong hạt chứa các khoáng chất sau: kali (183µg/g), magie (105µg/g), canxi (27µg/g) và natri (3,6µg/g). Hàm lượng phospho trong hạt bí đỏ Styrian khoảng 211µg/g. Một lượng vết selenium cũng được tìm thấy trong nhân hạt bí đỏ Styrian (23-37 ng/g hạt khô), trong dầu thì hàm lượng dưới giới hạn phát hiện (1ng/g). Hàm lượng iốt (5-13 ng/g hạt khô) và từ 2-3 ng/g dầu.

Sắc tố: màu của dầu hạt bí đỏ là do vỏ lụa có màu xanh. Màu xanh và hơi đỏ của dầu hạt bí đỏ là do các vòng pyrrol bậc 4 khác nhau như photochlorophyll (a và b), protopheophytin (a và b) ở bên trong của các mô vỏ hạt và lutein có trong nhân hạt.

Các thành phần tạo hương: gồm các dẫn xuất của pyrazine như 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine; 2,3-diethyl-5-methylpyrazine và 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine. Ngoài ra, dầu hạt bí đỏ còn có mùi mỡ do các axít béo không no bị oxi hóa và mùi oi do các aldehyde gây ra.

Các hợp chất phenol: các hợp chất phenol từ hạt bí đỏ có các thuộc tính chống oxi hóa, estrogen và antiestrogen, chống ung thư, bảo vệ tim mạch và kháng khuẩn. Ngoài hoạt tính phytoestrogen Adlercreutz và Mazur đã tìm ra genistein (15,3µg/kg hạt khô), daidzain (5,6µg/kg hạt khô), secoisolariciresinol (3,8 mg/kg hạt khô). Secoisolariciresinol dạng glycosyl hóa có khả năng ức chế sự phát triển của khối u trong giai đoạn đầu.

1.4.1.2. Đặc tính hóa lý của dầu hạt bí

Dầu chiết xuất từ nhân hạt bí có chỉ số khúc xạ là 1,4656; tỷ trọng 0,913; chỉ số iốt 0,53 (mg KOH/g dầu) và chỉ số peroxyt 0,85 (meq/kg dầu). Theo tiêu chuẩn Codex -1982 qui định chỉ số axít tối đa đối với dầu chưa qua tinh luyện là 4mg KOH/g dầu. Dầu hạt bí đỏ có các chỉ số peroxyt và axít thấp, chỉ số iốt cao cho thấy tiềm năng thương mại của loại dầu này.

Bảng 3: Đặc tính lý hoá của dầu nhân hạt bí đỏ C.maxima

Đặc trưng	Giá trị	
	C. maxima	***C. pepo* L.**
Chỉ số khúc xạ	1,4656 ± 0,004	1,4695 ± 0,0007
Tỷ trọng	0,913 ± 0,004	0,915 ± 0,00
Độ nhớt (cp)	48,09 ± 0,03	-
Chỉ số iốt (*g I_2/100g dầu*)	105,12 ± 5,83	123,00 ± 0,10
Chỉ số saponin hóa (*mg KOH/g dầu*)	185,20 ± 5,84	132,33 ± 0,02
Chỉ số axít (*mg KOH/g dầu*)	0,53 ± 0,25	0,66 ± 0,20
Tổng axít béo tự do (*% theo oleic*)	0,27 ± 0,13	0,33 ± 0,66
Chỉ số peroxyt (*meq/kg dầu*)	0,85 ± 0,46	-

Axít béo:

Trong dầu hạt bí đỏ có bốn loại axít béo chiếm ưu thế là: *Palmitic* (hexadecanoic axít), *Stearic* (octadecanoic axít), *Oleic* (9- octadecenoic axít) và *Linoleic* (9, 12 - octadecadienoic axít).

Các axít béo no chiếm 27,73% gồm palmitic và stearic. Các axít béo không no chiếm 73,03% chủ yếu là oleic (18,14%) và linoleic (52,69%). Dầu hạt bí đỏ có giá trị dinh dưỡng cao do chứa hàm lượng axít linoleic khá lớn. Đây là một axít béo thiết yếu đối với con người vì nó là yếu tố tham gia hình thành màng tế bào, vitamin D và các loại hormon.

Bảng 4: Thành phần % các axít béo trong nhân hạt bí đỏ

Axít béo	Hàm lượng	Axít béo	Hàm lượng
Myristic ($C_{14:0}$)	0,18 ± 0,03	Oleic ($C_{18:1}$)	18,14 ± 0,03
Palmitic ($C_{16:0}$)	16,41 ± 0,95	Erucic ($C_{22:1}$)	0,76 ± 0,13
Stearic ($C_{18:0}$)	11,14 ± 1,03	Linoleic ($C_{18:2}$)	52,69 ± 0,92
Palmitoleic ($C_{16:0}$)	0,16 ± 0,04	Linolenic ($C_{18:3}$)	1,27 ± 0,22
Tổng các axít béo no	*27,73 ± 1,80*	*Tổng các axít béo 1 nối đôi*	*19,06 ± 0,49*
Tổng các axít béo không no	*73,03 ± 0,78*	*Tổng các axít béo nhiều nối đôi*	*53,97 ± 1,15*

Hàm lượng axít oleic luôn tương quan tỉ lệ nghịch với hàm lượng axít linoleic do có mối liên hệ tiền chất và sản phẩm giữa hai axít béo này. Hoạt tính enzym *microsomal oleoyl desaturase* (chuyên biệt ở thực vật) tăng khi nhiệt độ giảm dẫn tới sự gia tăng hàm lượng linoleic và giảm lượng oleic.

Bảng 5: Sản lượng dầu tách chiết và thành phần axít béo (g/100g tổng axít béo) trong các giống bí phổ biến.[21]

Giống bí	***C. maxima***		***C. pepo***	
	Nhật Bản	Ấn Độ	Nhật Bản	Hungary
Sản lượng dầu *(% so với trọng lượng hạt)*	24,20	42,33	38,02	41,70
Palmitic (16:0)	21,32	18,90	13,55	12,24
Stearic (18:0)	6,40	7,37	8,10	6,42
Oleic (18:1n-9)	18,32	22,82	36,72	27,14
Linoleic (18:2n-6)	50,31	48,33	40,36	52,22
Axít béo tổng số (%)	96,35	97,52	98,73	98,02
Tổng axít béo no (%)	27,72	26,27	21,65	18,66
Tổng axít béo không no (%)	68,63	71,15	77,08	79,36

Axít béo linoleic (LA) và linolenic (LNA) là các axít béo không thay thế (Essential Fatty Acids – EFAs). LA là axít béo không no gồm 18 C với 2 nối đôi ở giữa. Nối đôi thứ nhất ở vị trí thứ 6 sau nguyên tử carbon đầu tiên (nên nó được gọi là *omega 6*), do thiếu 4 nguyên tử hydrogen nên nó có nhiệt độ nóng chảy là 23^0F (-5^0C). LA ít ổn định dễ bị tác động bởi ánh sáng và oxi.

LNA (α-linolenic axít) là axít béo có 18 carbon với 3 nối đôi ở vị trí 3, 6, 9 nên nó còn được gọi là *omega 3*. LNA có điểm nóng chảy thấp 10^0F (-12^0C). LNA không ổn định so với LA gấp 5 lần, nó rất dễ bị oi nếu tiếp xúc với ánh sáng và oxi.

<u>*Các vitamin*</u> [6, 21]

Tocopherol là các hợp chất chống oxi hóa chủ yếu có trong dầu hạt bí đỏ. Hạt bí đỏ chứa 1 lượng lớn vitamin E là các dẫn xuất của tocopherol và tocotrienol. Đồng phân chủ yếu của 2 nhóm này là γ và α (lượng tocopherol nhiều hơn từ 5-8 lần so với lượng tocotrienol). Phân tích 100 mẫu dầu khác nhau cho thấy hàm lượng γ-tocopherol dao động từ 41-620μg/g hạt khô và α-tocopherol từ 0-91μg/g hạt khô, lượng β và δ-tocopherol rất thấp.

Hàm lượng tocopherol trong dầu hạt bí đỏ khá cao trong đó chủ yếu là γ-tocopherol. Dầu hạt bí đỏ chất lượng cao có lượng γ-tocopherol có thể đạt trên 800 μg/g dầu, α-tocopherol từ 18-282 μg/g dầu.

Ngoài ra, trong dầu hạt bí đỏ còn chứa vitamin A và các carotenoid, chủ yếu là lutein (71%), β-caroten (12%) và cryptoxanthin B (5,3%).

<u>*Phytosterol*</u>*: [6]*

Trong hạt bí, lượng phytosterol chiếm khoảng 1,5-1,9 mg/g hạt và trong dầu là 3,5 - 4,0 mg/g. Khác với các loại dầu ăn khác, phytosterol chủ yếu trong dầu hạt bí đỏ là Δ7-sterol và một lượng nhỏ Δ5-sterol.

Bảng 6: Hàm lượng phytosterol trong dầu hạt bí đỏ

Phytosterol	Hàm lượng (µg/ml)
Spinasterol (Δ7, 22-stigmastadienol)	447,8
Δ7, 22, 25-Stigmastatrienol	427,5
Δ7, 25-stigmastadienol + Δ7-stigmastenol	395,4
Δ7-Avenasterol	230,1
β-Sitosterol (Δ5)	84,6

Mặc dù hàm lượng phytosterol có khác nhau nhưng tỷ lệ các loại hầu như không thay đổi. Tuy nhiên Δ7-sterol tồn tại ở dạng liên kết với β-D-gluco pyranoside và chúng có thể được giải phóng khi có sự thủy phân bằng axít.

1.4.1.3. Vai trò của dầu hạt bí đối với sức khỏe con người

Dầu hạt bí đỏ ngày càng được quan tâm nghiên cứu vì ngoài giá trị dinh dưỡng cao nó còn có một số hoạt chất có tác dụng phòng ngừa và trị bệnh.

Ngăn ngừa ung thư tiền liệt tuyến [6]

Hội chứng BPH (*Benign Prostatic Hyperplasia)* là hội chứng tăng sinh tuyến tiền liệt ở nam giới. Bệnh nhân nam thường bị đau đớn do ứ đọng nước tiểu. Trong khi đó phụ nữ thường gặp các hội chứng liên quan đến stress, đặc biệt là những phụ nữ đang ở giai đoạn tiền mãn kinh. Nguyên nhân là do sự thay đổi cân bằng hormon androgen và estrogen.

Chiết xuất từ hạt bí đỏ được xem như một loại thảo dược quan trọng trong việc điều trị các chứng bệnh ở đường tiết niệu. Trong thí nghiệm nuôi cấy nguyên bào sợi tuyến tiền liệt người, chiết xuất từ hạt bí ức chế enzym *5α-reductase* (đây là enzym chuyển hóa testosteron thành dihydrotestosteron có hoạt tính sinh học mạnh hơn). Theo Schilcher và cộng sự, hoạt chất Δ7-phytosterol trong hạt bí có tác dụng làm giảm hàm lượng dihydrotestosteron trong mô tuyến tiền liệt ở các bệnh nhân.

Chiết xuất từ hạt bí cũng duy trì sự cân bằng hormon do nó ức chế enzym *aromatase* (enzym chủ yếu tham gia vào quá trình sinh tổng hợp estrogen, chuyển hóa testosterone thành 1,7-β-estradiol). Adlercreuta và cộng sự chứng minh rằng các liên kết phenyl-glycoside trong hạt bí đỏ có vai trò như các estrogen thực vật.

Một vài nghiên cứu trên chuột Wistar được xử lý với testosteron và prazosin để cảm ứng sự phát triển của tiền liệt tuyến. Người ta nhận thấy, chiết xuất hạt bí giàu phytosterol và hỗn hợp phytosterol nhân tạo đều có hiệu quả ức chế sự phì đại tuyến tiền liệt.

Nhiều thử nghiệm lâm sàng trên người cho thấy, những người sử dụng chiết xuất hạt bí đều giảm các triệu chứng liên quan tới BPH.

Thử nghiệm ngẫu nhiên đầu tiên được thực hiện với "Curbicin" (gồm chiết xuất từ hạt bí *Cucurbita pepo* và quả cọ lùn *Sabal serulata*, mỗi loại 80mg). Kết quả nghiên cứu trên 53 bệnh nhân cho thấy có sự cải thiện đáng kể các thông số như lượng nước tiểu, số lần đi tiểu và hàm lượng urine còn lại.

Thử nghiệm lâm sàng khác thực hiện trên 2.245 bệnh nhân BPH ở giai đoạn I và II. Trong thử nghiệm này, các bệnh nhân được uống viên nang chứa 500mg dầu hạt bí thương phẩm trong khoảng thời gian hơn 3 tháng. Kết quả cho thấy, chỉ số I-PSS (*International Prostate Symptom Score*) giảm 41,4%, chất lượng cuộc sống của các bệnh nhân được cải thiện đáng kể, hơn 96% bệnh nhân không bị phản ứng phụ trong quả trình điều trị (Schielbel Scholosser và Friederich, 1998).

Tác dụng làm giảm cholesterol [6]

Trong dầu hạt bí đỏ có chứa nhiều hợp chất là đồng đẳng của cholesterol như phytosterol và phytostanol, có tác dụng làm giảm cholesterol trong máu.

Vài nghiên cứu tìm hiểu về cơ chế làm giảm cholesterol của phytosterol mới chỉ được xem xét lại gần đây. Chế độ ăn có phytosterol rất quan trọng trong việc làm giảm cholesterol bằng cách ngăn chặn sự tổng hợp các chất béo no.

Ngoài ra, dầu hạt bí đỏ rất giàu linoleic - là axít béo không no tự nhiên có thể tiêu hóa nên làm giảm nguy cơ tắc nghẽn động mạch.

1.4.2. Các phương pháp chiết xuất dầu truyền thống

Có bốn phương pháp chiết xuất dầu từ nguyên liệu thực vật là: ép thủy lực, ép trục, trích ly bằng dung môi và chiết xuất bằng nước.[1]

Phương pháp ép thủy lực: là phương pháp có nguồn gốc ở Châu Âu từ năm 1795. Hiện nay, phương pháp này không được sử dụng nữa.

Phương pháp ép trục đang được thay thế cho phương pháp ép thủy lực và được sử dụng rộng rãi để sản xuất dầu từ các loại quả có dầu. Đối với vật liệu có hàm lượng dầu cao, quá trình sản xuất gồm hai giai đoạn là ép sơ bộ và trích ly bằng dung môi. Phương pháp này hiệu quả hơn so với phương pháp trích ly trực tiếp bằng dung môi, vì giảm đáng kể lượng dung môi sử dụng. Quá trình kết hợp này được áp dụng đối với các nguyên liệu có hàm lượng dầu cao (> 35%) như hạt hướng dương, hạt bông, phôi bắp. Riêng đối với hạt đậu nành thường sử dụng phương pháp chiết xuất trực tiếp bằng dung môi do hàm lượng dầu thấp hơn 35%.

Phương pháp trích ly bằng dung môi: xuất hiện đầu tiên ở châu Âu vào năm 1870. Phương pháp này sử dụng hệ thống trích ly liên tục để tách chiết dầu của các loại nguyên liệu có hàm lượng dầu thấp, dòng hexan chảy ngược ngấm qua nguyên liệu đã xử lý nghiền. Bã sau khi chiết được thu hồi dung môi và tiếp tục tái sử dụng. Hexan được loại ra khỏi dầu nhờ hệ thống cô và lọc chân không.

Sau giai đoạn trích ly, dầu thô được đưa qua quá trình tinh luyện để loại bỏ các tạp chất tan và cặn. Quá trình tinh luyện gồm một số giai đoạn như: khử gum để loại bỏ các phosphatide và gum dạng keo, tiếp theo là giai đoạn khử nước, các axít béo tự do, chất màu và các chất tiền oxi hóa kim loại. Dầu đã tinh luyện được tẩy trắng để loại sắc tố và xà phòng, cải thiện vị của sản phẩm. Có thể cải thiện mùi dầu bằng phương pháp tẩy mùi chân không.

Một số nghiên cứu đã chứng minh việc thủy phân hạt có dầu trước khi trích ly bằng dung môi sẽ làm tăng hiệu suất thu nhận dầu. Hỗn hợp các enzym (pectinase, cellulase, hemicellulase) được dùng để phân hủy vách tế bào thực vật, làm tăng khả năng thấm của vách tế bào và tăng hiệu suất tách chiết dầu.

Chiết xuất dầu bằng nước *(AEP - Aqueous Extraction Process):* dùng nước thay cho dung môi để tách dầu từ các loại hạt có dầu ở vùng nông thôn của các nước phát triển, xuất hiện vào những năm 1950. Phương pháp này tiết kiệm hơn và an toàn hơn phương pháp chiết xuất bằng dung môi. Hơn nữa có thể thu nhận cả dầu và protein (dạng *cô đặc* hoặc *kết tủa* phụ thuộc vào pH của môi trường chiết xuất). [1]

AEP sử dụng một nguyên lý khác biệt hoàn toàn so với phương pháp trích ly bằng dung môi. Phương pháp dung môi dựa trên khả năng hòa tan của dầu trong dung môi. Trong phương pháp AEP, dầu không tạo ái lực hóa học cao với môi trường chiết xuất, các thành phần hòa tan sẽ khuếch tán vào trong nước, giải phóng dầu khỏi cấu trúc ban đầu.

Dựa vào thành phần hóa học và cấu trúc vật lý của hạt, người ta có thể thay đổi một số điều kiện như pH, nhiệt độ hoặc xử lý bằng enzym để tăng hiệu suất chiết tách dầu.

AEP sử dụng nguyên tắc dòng nước nóng xoay chiều. Hạt đã bóc vỏ, nghiền nhỏ trong các bồn nước nóng và thu phần dầu nổi lên trên bề mặt. Quá trình gồm 5 bước cơ bản sau: (1) gia nhiệt, (2) nghiền, (3) chiết xuất bằng nước nóng, (4) thu nhận dầu, (5) khử nước.

Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất thu hồi dầu và protein trong AEP

- Nghiền: kích thước của hạt sau khi nghiền có ảnh hưởng rất lớn đến hiệu quả tách chiết. Quá trình nghiền có tác dụng bẻ gãy vách tế bào chứa các túi dầu, khuếch tán các thành phần hòa tan trong nước dễ dàng hơn, đồng thời thay đổi cấu trúc ban đầu và tăng mức độ tiếp xúc của enzym tác động lên cơ chất. Tùy thuộc vào đặc tính của nguyên liệu như độ ẩm, thành phần hóa học và cấu trúc vật lý...để lựa chọn phương pháp nghiền. Đối với các nguyên liệu có độ ẩm cao như dừa thì sử dụng phương pháp nghiền ướt. Ngược lại với những nguyên liệu độ ẩm thấp thì áp dụng phương pháp nghiền khô.

- Trích ly (chiết xuất): nhằm phân tán nguyên liệu trong nước kết hợp với khuấy để tăng khả năng chiết xuất dầu và protein. Các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình này là: tỷ lệ nước so với nguyên liệu, kích thước nguyên liệu, pH, thời gian, nhiệt độ, tốc độ khuấy và số lần chiết.

- pH: nguyên liệu chứa dầu khác nhau thì pH tối ưu cho quá trình tách chiết cũng khác nhau. Tại giá trị pH tối ưu, sản lượng dầu tách chiết là cao nhất tương ứng với khả năng tách chiết tối đa protein trong nước. Nhìn chung, phương pháp tách chiết dầu bằng nước cho sản lượng dầu và protein tối đa thực hiện ở giá trị pH khác với pH ở điểm đẳng điện.

Ngoài ra, các yếu tố khác như nhiệt độ, tỷ lệ nguyên liệu so với nước và thời gian tách chiết cũng ảnh hưởng đến hiệu suất tách chiết dầu. Các điều kiện tối ưu phụ thuộc vào loại nguyên liệu.

Bảng 7: So sánh quy trình chiết xuất dầu bằng nước và dung môi; khả năng cải tiến công nghệ [1]

Khía cạnh	Ưu điểm	Nhược điểm	Khả năng cải tiến
Kinh tế	Tăng hiệu suất thu nhận dầu và protein Không cần năng lượng để thu hồi dung môi Không cần hệ thống kiểm soát và điều khiển sự thất thoát của các hợp chất hữu cơ bay hơi	Sản lượng dầu thấp Cần nhiều năng lượng để loại nước Tốn chi phí enzym cao Cần phải có giai đoạn loại bỏ nhũ tương	Kết hợp xử lý enzym Tối ưu hóa quy trình Tái sử dụng nước Sử dụng kỹ thuật màng tế bào Tối ưu và sử dụng các phương tương đương để loại nhũ tương
Môi trường	Không tạo ra các hợp chất hữu cơ bay hơi và không hình thành ôzôn		
An toàn	Nguy cơ cháy nổ và ô nhiễm thấp		
Chất lượng sản phẩm	Chất lượng dầu cao do không có giai đoạn khử gum Sản phẩm không có các yếu tố phi dinh dưỡng Protein bị biến tính và có giá trị sinh học cao hơn		

1.4.3. Tách chiết dầu bằng enzym

Tách chiết xuất dầu bằng enzym được xem là một kỹ thuật mới trong công nghiệp khai thác dầu và chất béo do nó có nhiều ưu điểm so với các phương pháp truyền thống:

– Hạn chế việc sử dụng dung môi, tiết kiệm chi phí đầu tư và năng lượng.

– Có thể áp dụng với hầu hết các loại hạt có dầu, chất lượng dầu đáp ứng tiêu chuẩn của Codex.

– Không cần qua giai đoạn khử gum, cho phép loại bỏ các độc tố và các hợp chất phi dinh dưỡng có trong hạt.

Hơn bốn thập kỷ gần đây, nhiều nghiên cứu trong lĩnh vực chiết dầu bằng nước đã được thực hiện. So với phương pháp chiết bằng hexan, phương pháp này cho hiệu suất thu nhận dầu thấp hơn. Để nâng cao hiệu suất thu hồi dầu, người ta sử dụng phương pháp thủy phân bằng enzym để hỗ trợ quá trình giải phóng dầu. Phương pháp này an toàn hơn đối với môi trường do hạn chế được hàm lượng các chất hữu cơ bay hơi và sự thất thoát dung môi trong quá trình thao tác.

Cấu trúc hạt có dầu và cơ chế tác động của enzym [1]

Đặc tính của các tế bào 2 lá mầm ở các loại hạt có dầu là tồn tại các bào quan nội bào riêng biệt được gọi là các túi dầu và các hạt protein.

Hạt protein (*aleurone*) chiếm khoảng 60 – 70% tổng protein có trong hạt. Kích thước hạt của phụ thuộc vào từng loại nguyên liệu. Đối với hạt đậu nành, kích thước trung bình từ 8 - 10 µm nhưng khoảng dao động từ 2 - 20µm.

Các túi dầu (*spherosome hay oleosome*) là các vị trí chứa lipid dự trữ, đường kính của các túi dầu dao động trong khoảng 1- 2 µm. Quan sát trên kính hiển vi điện tử quét (*SEM*), các túi dầu được treo trên mạng lưới nội chất chứa protein. Khoảng không gian giữa các túi dầu trong tế bào hai lá mầm được làm đầy bởi các hạt protein và mạng lưới tế bào chất.

Lớp vách bao quanh tế bào: gồm có *cellulose, hemicellulose, lignin và pectin*. Trong phương pháp chiết xuất bằng dung môi, hạt được nghiền nhỏ làm vách tế bào bị đứt gãy, phơi bày các túi dầu bên trong tế bào để dầu dễ dàng khuếch tán vào dung môi, trong khi đó protein được giữ lại trong bùn cùng với chất xơ và carbonhydrat.

Trong quá trình chiết xuất bằng nước, giai đoạn nghiền nhỏ vật liệu thúc đẩy việc phóng thích các túi dầu và protein dễ dàng hơn. Tuy nhiên, do các thành phần hòa tan khuếch tán vào trong nước, lớp dầu được phóng thích sẽ nằm ở pha lỏng riêng biệt hoặc nhũ hóa một phần với nước.

Trong phương pháp tách chiết dầu bằng enzym, người ta thường sử dụng các enzym như *cellulasse, hemicellulase* hay *pectinase* nhằm phá vỡ cấu trúc của vách tế bào hoặc *protease* để thủy phân protein trên màng tế bào cũng như bên trong tế bào chất. Ngoài ra, các protease còn có khả năng thủy phân màng túi dầu. Người ta tiến hành cô lập túi dầu từ hạt đậu nành và phôi bắp, sau đó thực hiện phản ứng thủy phân. Kết quả là màng tế bào túi dầu bị phá vỡ và có sự kết hợp của các túi dầu với nhau.

Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất thu nhận dầu trong tách chiết bằng enzym [1]

- *Chủng loại enzym*: các enzym khác nhau sẽ có vai trò khác nhau trong việc thuỷ phân cấu trúc nguyên liệu. *Carbohydrase* (*pectinase, cellulase* và *hemicellulase*) đặc hiệu cho các thành phần vách tế bào thúc đẩy quá trình giải phóng dầu trong môi

trường nước. *Protease* không những thủy phân protein màng và protein trong tế bào chất mà còn thay đổi các thuộc tính chức năng của protein (đặc biệt là khả năng nhũ hóa). Như vậy, ảnh hưởng của các protease lên toàn bộ quá trình phụ thuộc vào mức độ thủy phân protein.

Sự kết hợp của các enzym sẽ cải thiện đáng kể hiệu suất tách chiết dầu. Hỗn hợp các enzym với sự kết hợp của các hoạt tính cho kết quả tách dầu cao hơn khi sử dụng một loại enzym.

- *Liều lượng enzym*: lượng enzym bổ sung càng cao và thời gian phản ứng càng dài thì sản lượng dầu càng tăng.

- Bên cạnh chủng loại enzym và liều lượng sử dụng, các thông số kỹ thuật như: *pH, kích thước nguyên liệu, nhiệt độ* và *thời gian phản ứng* cũng có những ảnh hưởng nhất định đến hiệu quả tác động của enzym.

- *Chế độ ly tâm*: ly tâm là công đoạn quan trọng của quá trình chiết dầu bằng nước. Embong và Jelen cho rằng tốc độ ly tâm và thời gian ly tâm ảnh hưởng rất lớn tới sự phân tách pha, đặc biệt là trong giai đoạn đầu của quá trình ly tâm. Tốc độ ly tâm càng lớn thì khả năng tách pha càng cao.

1.4.4. Tình hình nghiên cứu tách chiết dầu bằng phương pháp enzym

1.4.4.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Barrios và cộng sự (1986) nghiên cứu kết hợp các enzym *polygalacturonase, α-amylase* và *protease* trong chiết xuất dầu dừa bằng nước, kết quả là hiệu suất thu nhận dầu tăng hơn 80%. [1]

Tuy nhiên, theo Christensen (1989) thì hiệu suất chiết tách dầu dừa có thể đạt hơn 90% khi sử dụng *galactomannase* kết hợp với một phức hợp enzym thủy phân polysaccharide.

Tất cả các thí nghiệm trên đều khẳng định rằng cần phải sử dụng nhiều loại enzym khác nhau để phân hủy các thành phần cấu trúc vách tế bào (mannan, galactomannan, arabinoxylogactan và cellulose).

Các nghiên cứu tách chiết dầu ôliu đều đưa ra kết luận *pectinase* và *cellulase* là hai enzym hiệu quả nhất làm tăng sản lượng dầu. Fantozzi (1977) xử lý bột ôliu dạng paste với enzym pectinase hoặc cellulase sau giai đoạn ép làm tăng lượng dầu khoảng 20%. [1]

Theo Yoon và cộng sự (1991), sử dụng *protease* trong chiết xuất dầu đậu nành làm tăng hiệu suất thu nhận dầu từ 62% lên 86% và hiệu suất thu nhận protein tăng từ 62% lên 89%. [1]

Năm 1993, Bocevska và cộng sự thử nghiệm dùng enzym thương mại để tách chiết dầu hạt bắp bằng phương pháp ướt cho thấy *carbohydrase* (chủ yếu là *cellulase*) từ chủng *Trichoderma reesei* cho hiệu quả cao nhất (giải phóng 84,7% dầu, dầu tự do tách được sau giai đoạn ly tâm là 76,3%). [4]

J. Sineiro và các cộng sự (1998) nghiên cứu sử dụng enzym *Celluclast* 1,5L (Novo Nordisk A/S) trong chiết xuất dầu hạt hướng dương bằng nước. Hạt được nghiền nhỏ và sàng để thu phân đoạn kích thước từ 0,75-1mm. Sau đó được huyền phù trong đệm citrate 0,05M; pH= 4,8. Tại giá trị pH này, protein trở nên không tan và được thu nhận ở dạng cô đặc trong pha rắn, giải phóng dầu và các hợp chất phenol trong pha nước. Sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt để xác định các thông số tối ưu của quy trình. Kết quả với tỷ lệ nước/cơ chất khoảng 7,5-8 g/g, tỷ lệ enzym/cơ chất là 1,25 g/100g và thời gian thủy phân 2 giờ cho hiệu suất thu nhận dầu cao nhất (>30%).[10]

Năm 2003, Beatriz P.M. Sant'Anna và cộng sự nghiên cứu đánh giá hiệu suất thu nhận dầu và protein từ cơm dừa bằng phương pháp tách chiết bởi enzym. Nghiên cứu này sử dụng các enzym sau: *Celluclast, Termamyl, Viscozyme, Neutrase* và *Protease*. Các thí nghiệm sơ bộ ban đầu được thực hiện để lựa chọn loại enzym phù hợp, nồng độ enzym và thời gian ủ. Để xác định ảnh hưởng của yếu tố pH và tỷ lệ nước/cơ chất, nhóm tác giả sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt để tối ưu hóa. Kết quả cho thấy pH là thông số có ý nghĩa quan trọng nhất tới hiệu suất thu nhận dầu và protein, với mức ý nghĩa cao hơn 90%. Xử lý bằng enzym Viscozyme L nồng độ 0,6% (w/w) sau đó tiếp tục bổ sung Neutrase 1,5 MG nồng độ 0,3% (w/w), tổng thời gian thủy phân là 60 phút, tỷ lệ cơ chất/nước = 1/6, pH khoảng 7 cho hiệu suất thu nhận dầu và protein cao nhất đạt 83%.[3]

M. Gabriela Bernardo-Gil và Lina M. Cardoso Lopes (2004) nghiên cứu chiết xuất dầu hạt bí đỏ *Cucurbita ficifolia* bằng phương pháp CO_2 lỏng tới hạn ở nhiệt độ 308 - 318^{0}K (35 - 45^{0}C) và áp suất khoảng 18 - 20 Mpa (177,66 – 197,4 atm). Kết quả khảo sát các đặc tính lý hóa của dầu cho thấy, so với phương pháp chiết xuất bằng dung môi n-hexan thì hàm lượng axít béo tự do không có sự khác biệt đáng kể. Các loại axít béo chính là linoleic (60%), palmitic (15%) và oleic (14%). Công nghệ này cho sản lượng dầu tương đương với phương pháp trích ly bằng dung môi nhưng đòi hỏi có sự kết hợp của nhiều yếu tố như: *áp suất, nhiệt độ, kích thước nguyên liệu* và *tốc độ bề mặt*. Ưu điểm của phương pháp này là so với phương pháp trích ly bằng dung môi hữu cơ là không độc, không gây cháy, không ăn mòn. Hơn nữa, CO_2 là nguồn nguyên liệu sẵn có và rẻ, độ tinh sạch cao. [14]

M. C. Kashyap và cộng sự (2007) nghiên cứu sử dụng enzym để thủy phân đậu nành trước khi trích ly dầu bằng dung môi hexan. Phương pháp này không những làm tăng đáng kể hiệu suất tách chiết dầu mà còn có tác dụng rút ngắn thời gian sản xuất.[20]

Năm 2007, Ruchi Gaur và cộng sự nghiên cứu kết hợp xử lý enzym với kỹ thuật phân tách ba pha (*Three phase partitioning-TPP*) để tăng hiệu suất chiết dầu từ đậu nành, cám gạo và nhân hạt xoài. TPP là kỹ thuật bổ sung muối *ammonium sulphate* và *τ-butanol* vào bùn của hạt có dầu đã được đồng hóa ở dạng sệt. Sau khoảng một giờ sự phân lớp ba pha sẽ hình thành: pha dung môi trên cùng, pha giàu protein kết

lắng ở giữa và pha rắn dưới cùng. Hơn nữa, τ-butanol có nhiệt độ sôi khoảng 84^0C cao hơn hexan (69^0C) nên sẽ giảm hàm lượng chất hữu cơ bay hơi. Một đặc tính khác của τ-butanol đó là nhiệt độ đông đặc của nó khoảng 11^0C cao hơn rất nhiều so với hexan (-95^0C). Do vậy có thể sử dụng kỹ thuật làm lạnh để thu hồi τ-butanol sẽ giảm bớt nhu cầu năng lượng so với phương pháp bốc hơi dung môi. Kết quả nghiên cứu cho hiệu suất chiết dầu đậu nành, cám gạo và nhân hạt xoài tương ứng là 98%, 86% và 79%. [18]

Hilaire Macaire Womeni và cộng sự (2008) nghiên cứu thu nhận dầu từ nhân hạt *Irvingia gabonensis* bằng phương pháp enzym trong môi trường nước. Cơ chất được xử lý với các enzym *Alcalase, Pectinex* và *Viscozyme*. Kết quả là phương pháp chiết xuất bằng nước cho hiệu suất thu nhận dầu khoảng 27,4%; *Alcalase* (35,0%); *Pectinex* (42,2%) và *Viscozyme* (68%). Các điều kiện hoạt động tối ưu của Viscozyme như sau: tỷ lệ nước/cơ chất là 0,16; nồng độ enzym 2% và thời gian 18 giờ cho hiệu suất thu nhận dầu 83%. Thực hiện thí nghiệm trong các điều kiện tương tự như trên, sau đó bổ sung thêm 1% Alcalase trong 2 giờ, hiệu suất đạt được là 90%. [8]

Kết quả chiết xuất dầu bằng phương pháp enzym trên một số nguyên liệu đặc trưng được trình bày ở bảng 8.

1.4.4.2. Tình hình nghiên cứu trong nước

Hiện nay, quá trình sản xuất dầu thực vật ở quy mô công nghiệp được thực hiện theo 2 phương pháp như sau:

Phương pháp ép: nguyên liệu có dầu → chưng sấy → ép → tinh luyện → dầu ăn. Phương pháp này được áp dụng ở các cơ sở tư nhân, trang thiết bị không đồng bộ nên chất lượng sản phẩm không ổn định, khó cạnh tranh.

Phương pháp trích ly bằng dung môi: được áp dụng ở các nhà máy lớn như Nhà máy Dầu Tường An, Dầu Tân Bình, Nhà máy trích ly dầu cám (Cần Thơ).

Gần đây, một số nhà khoa học tập trung khai thác các loại dầu thực vật từ các nguyên liệu có trong nước. Công trình nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Minh Nguyệt (Viện nghiên cứu dầu và cây có dầu), sử dụng chế phẩm enzym Cytolase để sản xuất dầu dừa tinh khiết có chất lượng cao.

Tác giả Đào Thị Nguyên (Viện Công nghiệp thực phẩm – 2007) đã nghiên cứu tách chiết omega-3 và omega-6 để ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm và thực phẩm chức năng.

Các nghiên cứu này đều nhằm nâng cao chất lượng dầu ăn sử dụng trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm.

Bảng 8: Hiệu suất thu nhận dầu (%) trong trường hợp tách chiết dầu bằng nước có dùng enzym và không dùng enzym [1]

Nguyên liệu	Enzym	Nồng độ (%)	Sản lượng dầu (%)
Đậu nành	Mẫu đối chứng		62,0
	Protease (Alcalase)	0,2	84,0
	Protease (Sigma)	0,2	86,0
Dừa	Mẫu đối chứng		12,0
	Pectinase (Clarex) + α-amylase (Tanase) + protease (HT-proteolic)	0,1: 0,1:0,1	80,0
	Pectinase (Irgazyme) + α-amylase (Tanase) + protease (HT-proteolic)	0,1: 0,1:0,1	89,3
	Pectinase (Pectinex + pectinase (Clarex) + α-amylase (Tanase) + protease (HT-proteolic)	0,1:0,1:0,1:0,1	87,6
	Pectinase (Cleazyme) + pectinase (Clarex) + α-amylase (Tanase) + protease (HT-proteolic)	0,1:0,1:0,1:0,1	89,4
	Pectinase (Rohapec) + α-amylase (Tanase) + protease (HT-proteolic)	0,1:0,1:0,1	83,5
	Beta-glucanase (brew-n-zyme)	0,3	14,4
	Beta-glucanase (brew-n-zyme) + pectinase (Clarex) + α-amylase (Tanase) + protease (HT-proteolic)	0,1:0,1:0,1	93,8
Đậu phộng	Mẫu đối chứng		72,0
	Protease (pepsin- Merck)	3	78,0
	Cellulase (CGA)	3	75,0
	α-1,4 galacturonide glicano-hydrolase (Ultrazym)	3	74,0
	Protease (pepsin-Merck) + Cellulase (CGA)	1,5:1,5	78,0
	Protease (pepsin-Merck) + α-1,4 galacturonide glicano-hydrolase (Ultrazym)	1,5:1,5	76,0
	Cellulase (CGA) + α-1,4 galacturonide glicano-hydrolase (Ultrazym)	1,5:1,5	74,0
	Protease (pepsin- Merck) + Cellulase (CGA) + α-1,4 galacturonide glicano-hydrolase (Ultrazym)	1,0:1,0:1,0	78,0

2. THỰC NGHIỆM

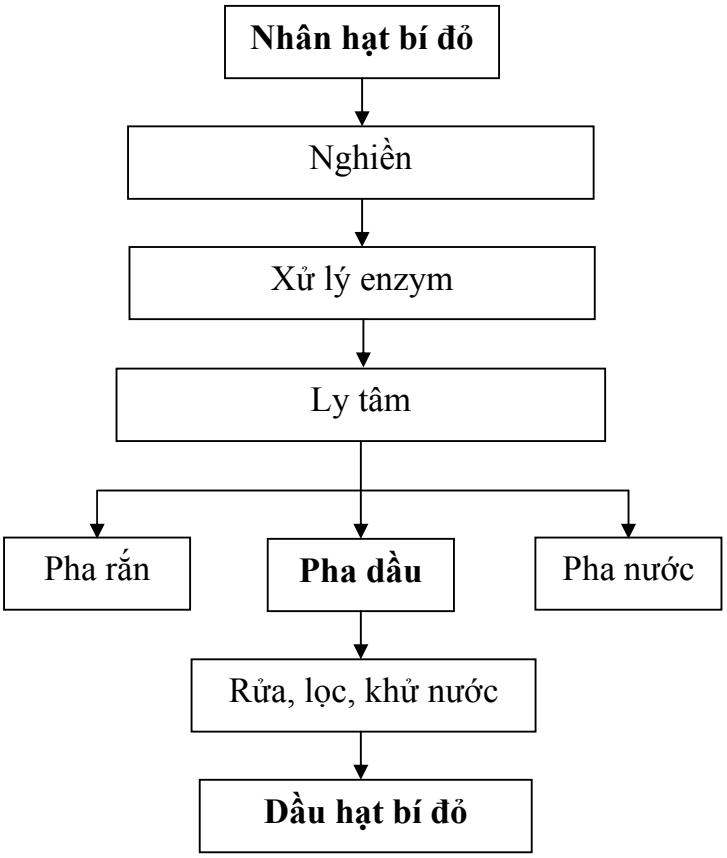
2.1. Phương pháp tiến hành nghiên cứu

2.1.1. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu

- Xác định các thành phần hóa lý, hàm lượng axít béo và một số chỉ tiêu cảm quan của các loại hạt bí đỏ từ các giống bí trồng tại phía Nam Việt nam.
- Lựa chọn và xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu.

2.1.2. Nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ thu nhận dầu hạt bí đỏ

- Nghiên cứu lựa chọn loại enzym phù hợp
- Xác định các thông số kỹ thuật như: tỷ lệ E/S, tỷ lệ W/S, pH và thời gian thủy phân.
- Nghiên cứu tối ưu hóa các thông số kỹ thuật của quy trình công nghệ.
- Đề xuất thiết bị sản xuất



Sơ đồ 1: Quy trình thu nhận dầu

2.1.3. Nghiên cứu xác định thời hạn bảo quản dầu hạt bí đỏ

Phương pháp: ASTM F1980-Lão hóa tăng tốc dùng cho các loại dược phẩm vô trùng.

Nguyên lý: Lão hóa tăng tốc dựa vào giả thuyết khi nhiệt độ tăng hoặc giảm 10^0C thì tốc độ phản ứng hóa học tăng gấp 2 lần hoặc giảm 2 lần.

Công thức:

$$AAR = Q10^{((AAT - AT)/10)}$$
$$AATD = DRTA/AAR$$

Trong đó:

AAR	tốc độ lão hóa tăng tốc
AATD	thời gian lão hóa tăng tốc
DRTA	thời gian bảo quản mong muốn
AAT	nhiệt độ lão hóa tăng tốc
AT	nhiệt độ phòng
Q10	nhân tố lão hóa tăng tốc

Thực nghiệm:

DRTA	1 năm (365 ngày)
AT	20^0C
Q10	2

Bảng 9: Tương quan giữa thời gian thử nghiệm và nhiệt độ (thời gian bảo quản mong muốn là 1 năm)

Nhiệt độ (^{0}C)	Thời gian (tuần)
22	52,1
25	42,2
30	29,9
35	21,1
40	14,9
45	10,6
50	7,5
55	5,3
60	3,7

Thí nghiệm lão hóa mẫu dầu ở 60^0C. Chỉ tiêu kiểm tra mức độ oxi hoá dầu là hàm lượng axít béo tự do (% FFA) và chỉ số peroxyt. Yêu cầu hai chỉ tiêu này phải đạt tiêu chuẩn dầu tinh khiết (%FFA $\leq$ 2 và peroxyt $\leq$ 20 meq/kg) (*Theo Codex stan 33*).

2.1.4. Phương pháp hóa lý

- Xác định hàm ẩm theo phương pháp sấy ở 105^0C đến trọng lượng không đổi
- Xác định hàm lượng nitơ tổng số theo phương pháp Kjeldahl
- Xác định hàm lượng tro tổng số theo phương pháp nung ở 550^0C
- Xác định hàm lượng lipid theo phương pháp Sohlexh
- Xác định hàm lượng axít béo theo phương pháp AOCS Cele - 91
- Xác định các chỉ số axít và hàm lượng axít béo tự do trong dầu theo TCVN 6127: 1996 (ISO 660:1983)
- Xác định chỉ số peroxyt của dầu theo TCVN 6121:1996 (ISO 3960:1977)
- Xác định chỉ số iốt của dầu theo TCVN 6126:1996 (ISO 3961:1989)
- Xác định chỉ số xà phòng hóa theo TCVN 6126:1996 (ISO 3657:1988)
- Xác định tỷ trọng dầu bằng phương pháp bình tỷ trọng

2.2. Nguyên vật liệu - dụng cụ - thiết bị

- *Nguyên liệu*: sử dụng hạt của các giống bí đỏ Việt Nam, giống bí đỏ Nhật và giống bí đỏ Mỹ.

- Các enzym thương mại của hãng Novo (Đan Mạch).

Tên enzym	Đặc điểm	Điều kiện hoạt động tối ưu
Alcalase	Có nguồn gốc từ chủng *Bacillus licheniformis.*	Nhiệt độ: 55-70^0C. pH: 6,5-8,5
AMG	exo-1,4-alpha-D-glucosidase (glucoamylase) có nguồn gốc từ nấm mốc *Aspergillus niger*.	Nhiệt độ: 25^oC pH: 4,3
Fungamyl	1,4-alpha-D-glucan - glucanohydrolase, sản xuất từ nấm mốc *Aspergillus oryzae*	Nhiệt độ: 37^oC pH: 4,7
Viscozyme L	Là enzym carbohydrase gồm: beta-glucanase, cellulase, arabanase, pectinase, pentosanase, xylanasse.	Nhiệt độ: 50-55^oC pH: 7 - 8

- *Hóa chất phân tích*: Các hoá chất phân tích các chỉ số hóa lý của dầu ăn.

- *Thiết bị thí nghiệm*: Cân phân tích, máy ly tâm, thiết bị cô quay chân không, tủ ấm lắc ổn nhiệt, máy khuấy từ gia nhiệt, lò nung, tủ sấy chân không, hệ thống chưng cất đạm bán tự động, máy đo pH và các dụng cụ thủy tinh…

2.3. Kết quả thực nghiệm

2.3.1. Nghiên cứu xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu

2.3.1.1. Lựa chọn nguyên liệu

Các mẫu hạt được lấy từ các giống bí đỏ ở vùng miền Đông nam bộ gồm các tỉnh Đồng Nai, Bình Phước và Đà Lạt. Chọn các quả bí đỏ già có hạt chắc. Hạt được rửa sạch, ly tâm tách nước và phơi khô để dùng làm nguyên liệu thí nghiệm.

Bảng 10: Đặc điểm các giống bí đỏ dùng trong nghiên cứu

Đặc điểm	Bí đỏ giống Việt Nam	Bí đỏ giống Nhật	Bí đỏ giống Mỹ
Hình dạng quả	Quả tròn, to, hơi dẹp, có khía rõ và đều.	Quả tròn, nhỏ, bề mặt tương đối nhẵn.	Hình quả lê, có khía sâu.
Trọng lượng quả	2 – 4 kg	0,5 – 1,2 kg	0,6 – 1 kg
Màu sắc vỏ quả	Màu vàng sậm	Màu xanh đậm	Màu vàng vân xanh
Màu sắc vỏ hạt	Vỏ mỏng, dai, màu vàng kem, hơi bóng	Vỏ dày, cứng, màu vàng nâu	Vỏ mỏng, màu trắng ngà
Màu sắc nhân hạt	Màu xanh nhạt hoặc vàng chanh	Màu xanh lục đậm	Màu vàng nhạt
Vùng trồng	Phước Long (Bình Phước)	(Đức Trọng) Lâm Đồng	Tân Phú (Đồng Nai)

Tiến hành phân tích các thành phần hóa lý của hạt và thành phần các axít béo có trong dầu trích ly từ hạt. Kết quả được trình bày ở bảng 11 và 12.

Bảng 11: Thành phần hóa sinh của các mẫu nhân hạt bí đỏ

TT	Nguyên liệu	Tỷ lệ hạt/quả	Tỷ lệ nhân/vỏ	Độ ẩm (%)	Protein (%)	Chất béo (%)	Tro (%)
1	Hạt bí đỏ Việt Nam	1,0 – 2,0	**75/25**	6,23	30,55	**51,15**	4,13
2	Hạt bí đỏ Nhật	0,9 – 1,5	50/50	6,13	29,1	**52,18**	4,62
3	Hạt bí đỏ Mỹ	0,8 – 1,2	70/30	6,19	30,3	48,14	4,18

Tỷ lệ nhân/vỏ của hạt bí đỏ theo thứ tự là giống bí Nhật < giống bí Mỹ < giống bí Việt Nam. Các thành phần như protein, tro tổng số hầu như không có sự chênh lệch.

Tỷ lệ dầu trích ly từ các mẫu hạt bí đỏ theo thứ tự như sau giống bí Nhật > giống bí Việt Nam > giống bí Mỹ.

Bảng 12: Đặc tính và thành phần axít béo trong các mẫu dầu nhân hạt bí đỏ chiết bằng dung môi

TT	**Chỉ tiêu**	**Bí Việt Nam**	**Bí Nhật**	**Bí Mỹ**
1	Chỉ số axít (mg KOH/g)	3,12	3,12	3,25
	- *% FFA*	1,56	1,56	1,63
2	Chỉ số xà phòng hóa (mg KOH/g)	184	186	178
3	Chỉ số iốt (g I_2/100 g)	107	96	85
4	Chỉ số peroxyt (meq/kg)	2,91	3,23	2,6
5	Thành phần các axít béo (%)			
	- Axít Palmitic (C16:0)	17,52	8,72	17,74
	- Axít Stearic (C18:0)	8,53	8,78	7,96
	- Axít Oleic (C18:1)	**15,15**	**42,76**	**38,52**
	- Axít Linoleic (C18:2)	**57,98**	**38,75**	**34,63**
	- Axít Linolenic (C18:3)	0,82	0,99	0,99
	- Axít Myristic (C14:0)	-	-	0,16
	- Axít Arachidic (C20:0)	Vết	-	-
	- Axít Behenic (C22:0)	Vết	-	-
	Tổng axít béo không no	**73,95**	**82,5**	**74,14**

Tổng hàm lượng các axít béo không no giảm dần theo thứ tự giống bí đỏ Nhật > giống bí đỏ Mỹ > giống bí đỏ Việt nam. Tuy nhiên hàm lượng omega - 6 của giống bí đỏ Việt Nam là cao nhất (xấp xỉ 58%) và cao hơn hẳn hai giống bí đỏ còn lại.

Kết quả phân tích ở bảng 10 cho thấy hàm lượng dầu trong ba mẫu hạt bí đỏ chênh lệch không nhiều. Tỷ lệ nhân/hạt và tỷ lệ nhân/vỏ của giống bí đỏ Việt Nam là cao nhất.

Từ các kết quả nêu trên, chọn mẫu hạt bí đỏ giống Việt Nam để làm nguyên liệu thí nghiệm.

2.3.1.2. Xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu

Mẫu hạt bí đỏ Việt Nam được phân tích thành phần hóa lý và đặc tính để xác định các chỉ tiêu đặc trưng của nguyên liệu. Kết quả trình bày trong bảng 13.

Bảng 13: Tiêu chuẩn nguyên liệu hạt bí đỏ giống Việt Nam

TT	Chỉ tiêu	Hạt bí đỏ nguyên vỏ	Nhân hạt bí đỏ
1	Độ ẩm (%)	**7,22 - 7,33**	**4,61 - 4,77**
2	Kích thước hạt (cm)	D: 1,84 ± 0,2 R: 0,91 ± 0,1 d: 0,31 ± 0,02	D: 1,54 ± 0,2 R: 0,79 ± 0,1 d: 0,24 ± 0,03
3	Trọng lượng của 1.000 hạt (g)	160 - 180	116 - 126
4	Dung trọng (g/l)	**337 - 352**	**456 - 494**
5	Protein tổng số (%)	27,6 - 29,4	30,4 - 32,5
6	Chất béo (%)	38 - 42,2	49,6 - 51,2
7	Xơ thô (%)	9,8 - 11,2	6,5 - 6,8
8	Tro tổng số (%)	3,2 - 3,6	4,16 - 4,6
9	Màu sắc của nhân hạt	**Màu trắng kem đến hơi vàng**	**Màu xanh lục hoặc vàng nhạt**

Ghi chú: D: chiều dài; R: chiều rộng; d: chiều dày

Các tiêu chuẩn về độ ẩm, dung trọng và màu sắc hạt là những chỉ tiêu được dùng để xác định các tiêu chuẩn thu mua hạt bí đỏ dùng làm nguyên liệu tách chiết dầu.

2.3.2. Nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ thu nhận dầu

2.3.2.1. Nghiên cứu lựa chọn enzym

Hạt bí đã bóc vỏ → nghiền mịn → bổ sung nước (W/S = 5 lần); enzym (E/S = 1%) → Thủy phân (50 – 55^{0}C)/8h → Ly tâm 6.000 v/p trong 20 phút → Xác định trọng lượng dầu thu được.

Bảng 14: Ảnh hưởng của loại enzym lên hiệu suất tách chiết dầu

TT	Loại enzyme	Trọng lượng dầu (g)	Hiệu suất thu nhận dầu (%)
1	Đối chứng	1,82	24,3
2	AMG	1,93	25,7
3	Fungamyl	2,16	28,8
4	Viscozyme	3,07	**40,9**
5	Alcalase	3,75	**50,0**

Sử dụng enzym để thủy phân các thành phần của bột hạt bí đỏ làm tăng lượng dầu thu được so với mẫu đối chứng (không bổ sung enzym). Trong đó Alcalase và Viscozyme là hai loại enzym cho lượng dầu cao nhất. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn enzym Alcalase và Viscozyme để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

2.3.2.2. Nghiên cứu xác định các thông số kỹ thuật của quy trình tách chiết dầu

❖ ***Ảnh hưởng của pH***

Chuẩn bị mẫu: Dùng các dung dịch NaOH 0,5 N và HCl 0,5 N điều chỉnh pH. Các giá trị pH thử nghiệm gồm: 5; 6; 7; 7,5; 8; 8,5 và 9,0. Kết quả trình bày ở bảng 14.

Bảng 15: Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất tách chiết dầu

pH	Alcalase		Viscozyme	
	Trọng lượng dầu (g)	Hiệu suất (%)	Trọng lượng dầu (g)	Hiệu suất (%)
5	3,43	45,7	2,08	27,7
6	3,55	47,3	2,23	29,7
7	3,70	49,3	2,67	35,6
7,5	3,79	50,5	**3,04**	**40,5**
8	**3,96**	**52,8**	2,81	37,5
8,5	3,90	52,0	2,34	31,2
9	3,79	50,5	2,03	27,1

Giá trị pH được chọn khi dùng Alcalase là 8,0 và Viscozyme là 7,5.

❖ ***Ảnh hưởng của tỷ lệ E/S***

Các thông số kỹ thuật cố định gồm:

- Tỷ lệ W/S là 5
- Nhiệt độ thủy phân: 50 – 55^{0}C trong 8 giờ
- pH = 8 (Alcalase), pH = 7,5 (Viscozyme)

Tỷ lệ E/S thay đổi từ 0,5 đến 3,5 %.

Kết quả thí nghiệm được trình bày trong bảng sau:

Bảng 16: Ảnh hưởng của nồng độ enzym đến hiệu suất tách chiết dầu

Tỷ lệ E/S (% v/w)	**Alcalase**		**Viscozyme**	
	Trọng lượng dầu (g)	Hiệu suất (%)	Trọng lượng dầu (g)	Hiệu suất (%)
0,5	4,73	63,1	4,65	62,0
1,0	4,85	64,7	4,82	64,3
1,5	**5,04**	**67,2**	4,87	64,9
2,0	5,01	66,8	5,04	67,2
2,5	4,99	66,5	5,09	67,9
3,0	4,98	66,4	5,22	69,6
3,5	-	-	5,21	69,5

Kết luận: Đối với Alcalase, tỷ lệ E/S thích hợp là 1,5%

Đối với Viscozyme, tỷ lệ E/S thích hợp là 3%

❖ ***Ảnh hưởng của thời gian thủy phân***

Thông số kỹ thuật cố định: tỷ lệ W/S = 5 ; nhiệt độ thủy phân (50-55^{0}C)

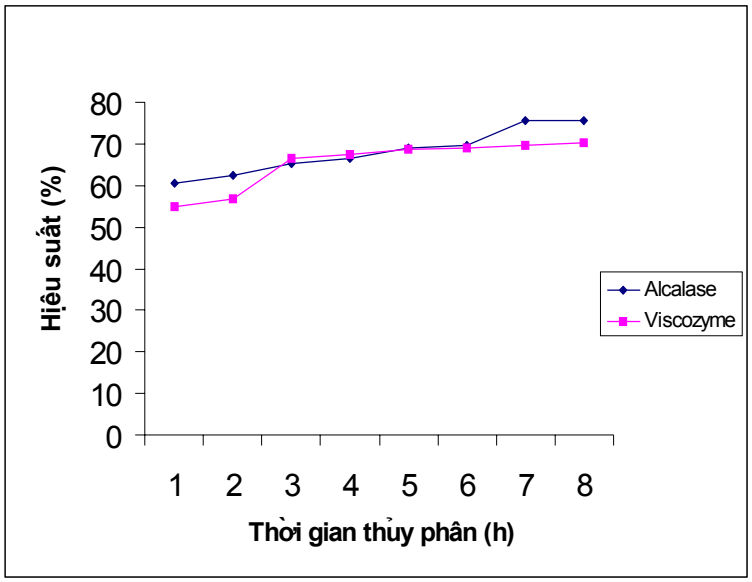
Đối với Alcalase: tỷ lệ E/S = 1,5% ; pH = 8

Đối với Viscozyme: tỷ lệ E/S = 3% ; pH = 7,5

Kết quả thực nghiệm trình bày trong bảng sau:

Bảng 17: Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất tách chiết dầu

Thời gian (giờ)	Alcalase		Viscozyme	
	Trọng lượng dầu (g)	Hiệu suất (%)	Trọng lượng dầu (g)	Hiệu suất (%)
1	4,55	60,7	4,12	54,9
2	4,69	62,5	4,27	56,9
3	4,89	65,2	4,98	66,4
4	4,99	66,5	5,07	67,6
5	5,18	69,1	5,16	68,8
6	5,23	69,7	5,18	69,1
7	**5,68**	**75,7**	5,23	69,7
8	5,67	75,6	**5,27**	**70,3**



Đồ thị 1: Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hiệu suất tách chiết dầu

Khi *kéo dài* thời gian thủy phân thì lượng dầu thu được cũng tăng dần. Đối với quá trình thủy phân bằng enzym Alcalase thì hiệu suất đạt cao nhất (75,7%) ở giờ thứ 7, đối với enzym Viscozyme ở giờ thứ 8, hiệu suất cao nhất là 70,3 % cao hơn không nhiều so với hiệu suất đạt được ở giờ thứ 7 (69,7%).

Các kết quả khảo sát cho thấy: so với Viscozyme, enzym Alcalase cho hiệu suất thủy phân cao hơn (lượng dầu thu được cao hơn) với lượng enzym sử dụng thấp hơn trong thời gian ngắn hơn. Hơn nữa giá thành của Viscozym cao gấp 1,5 lần so với Alcalase. Xét về hiệu quả kinh tế, enzym Alcalase được lựa chọn cho các thử nghiệm tiếp theo.

2.3.2.3. Xây dựng qui trình công nghệ và lựa chọn thiết bị sản xuất

❖ ***Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu***

Việc nghiền nguyên liệu có vai trò làm tăng sự tiếp xúc giữa cơ chất và enzym, tăng khả năng khuếch tán của các thành phần hòa tan trong nước. Hạt bí đỏ trước khi thủy phân được nghiền đến độ mịn nhất định. Qua khảo sát thực tế, nhóm đề tài đề xuất sử dụng máy nghiền đĩa để nghiền nguyên liệu.

Nhân hạt bí đỏ và hạt bí đỏ nguyên vỏ được xay → nghiền → rây với các sàng có kích thước khác nhau (≤ 1 mm, ≤ 2 mm) → bổ sung nước, điều chỉnh pH, bổ sung enzym và ủ ở 50 - 55^{0}C trong 4 giờ. Hỗn hợp sau khi thủy phân được ly tâm để thu nhận dầu. Hiệu suất thu nhận dầu được trình bày ở bảng dưới đây.

Bảng 18: Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu đến hiệu suất thu nhận dầu

Loại mẫu	Khối lượng mẫu (g)	Hàm lượng chất béo (%)	Trọng lượng dầu (g)	Hiệu suất thu nhận (%)
Nhân hạt nghiền mịn	50	51,15	17,42	68,10
Nhân hạt < 1mm	50	51,15	12,25	47,89
Hạt nguyên vỏ < 1mm	50	37,62	5,91	31,42
Hạt nguyên vỏ > 1mm	50	38,76	5,37	27,71

Kết quả thực nghiệm cho thấy kích thước nguyên liệu có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất thu nhận dầu.

Mẫu nhân hạt nghiền mịn cho hiệu suất thu nhận dầu cao nhất. Việc xử lý nghiền góp phần phá vỡ vách tế bào, tạo điều kiện thuận lợi để các túi dầu thoát ra ngoài và enzym tiếp xúc với cơ chất dễ dàng hơn.

Mẫu nhân hạt < 1mm (nhân hạt bí đỏ sau khi xay, được sàng qua rây có kích thước 1 mm). Hiệu suất thu nhận dầu chỉ đạt gần 50%.

Đối với các mẫu hạt nguyên vỏ kích thước > 1mm hoặc <1mm cho hiệu suất thu nhận dầu khá thấp. Điều này có thể do phần vỏ hạt khi tiếp xúc với nước sẽ trương nở, cản trở sự tiếp xúc của enzym với cơ chất.

Như vậy, cần thiết phải có công đoạn bóc vỏ hạt bí đỏ. Tuy nhiên đặc tính của vỏ hạt bí đỏ là mỏng và dai nên việc bóc vỏ cần được nghiên cứu thêm tuỳ thuộc vào mục đích sử dụng của loại dầu này trong thực phẩm hay dược phẩm.

❖ ***Ảnh hưởng của chế độ ly tâm***

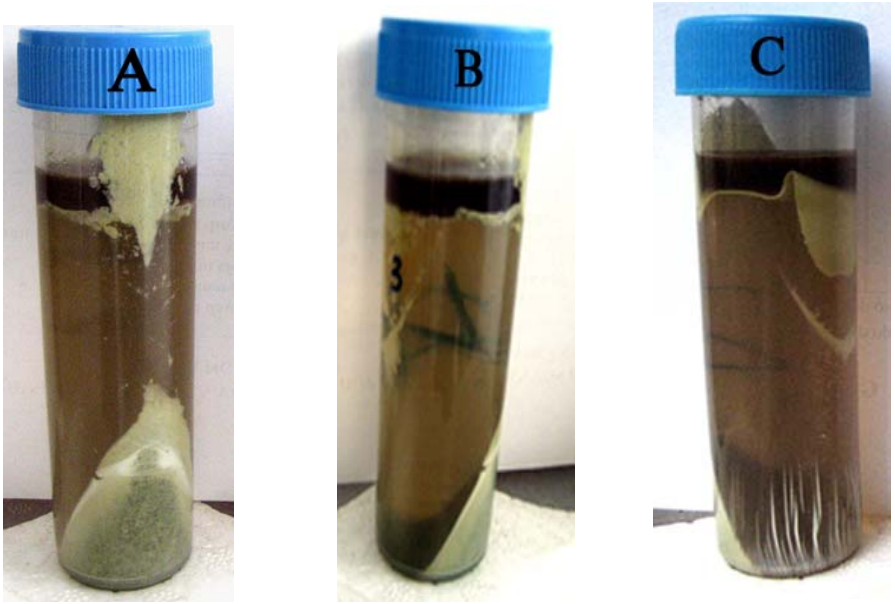
Trong tách chiết dầu bằng phương pháp enzym - nước, việc ly tâm thúc đẩy quá trình tách pha dầu - nước, làm tăng hiệu suất thu nhận dầu. Do đó, việc khảo sát chế độ ly tâm là một yêu cầu cần thiết trong việc xây dựng quy trình công nghệ.

Dầu hạt bí đỏ được thu nhận theo quy trình công nghệ trong sơ đồ 2. Hỗn hợp sau thủy phân được ly tâm ở các tốc độ khác nhau, thời gian ly tâm là 10 phút. Quan sát mức độ phân ly và xác định lượng dầu thu được. Kết quả thử nghiệm như sau:

Bảng 19: Ảnh hưởng của chế độ ly tâm đến hiệu suất thu nhận dầu

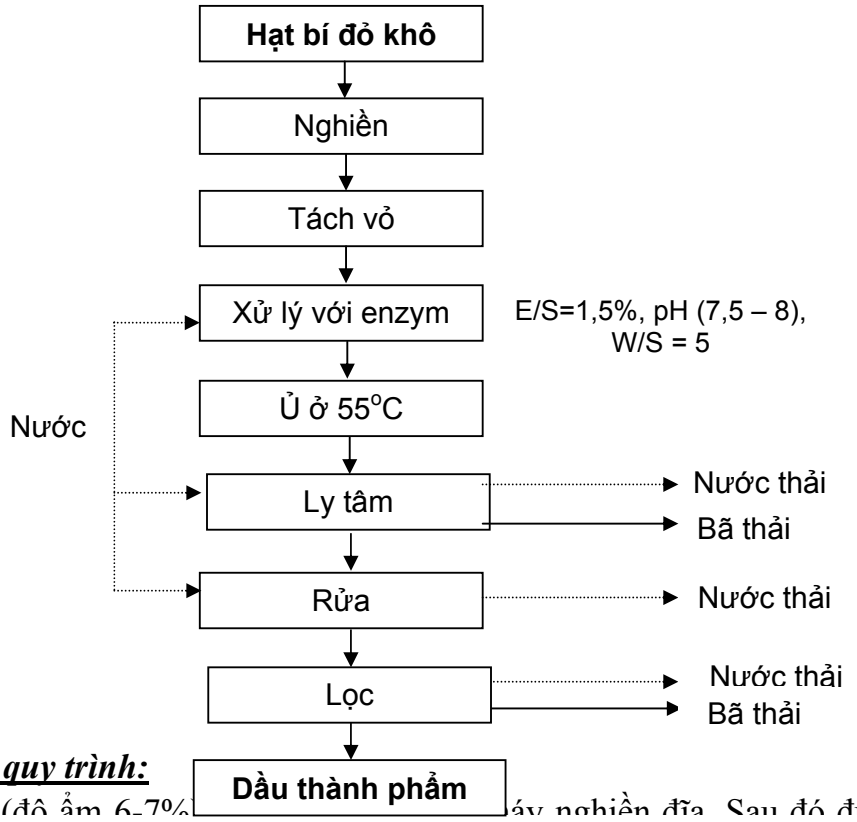
Chế độ ly tâm	**Khối lượng mẫu (g)**	**Lượng dầu thu được (g)**	**Hiệu suất thu nhận dầu (%)**	**Mức độ phân tách pha**
6.000 v/p (10 phút)	50	16,52	64,61	Phân tách 3 pha. Pha rắn kết dính không chặt, dễ tách ra khỏi thành ống ly tâm. Pha nước hơi đục, lớp nhũ tương mỏng giữa pha dầu và nước, không kết dính thành khối.
6.000 v/p (20 phút)	50	17,4	68,0	Tách pha tương đối rõ. Pha nước hơi đục, lớp nhũ tương kết không chặt.
6.000 v/p (30 phút)	50	18,5	**72,3**	Tách pha tương đối rõ. Pha nước trong suốt, lớp nhũ tương liên kết thành khối.
8.000 v/p (10 phút)	50	18,64	**72,90**	Phân tách 3 pha. Pha rắn kết dính chặt chẽ. Pha nước trong suốt, lớp nhũ tương mỏng, kết dính không chặt và bám trên thành ống.
10.000 v/p (10 phút)	50	18,83	**73,64**	Phân tách 3 pha. Pha rắn kết dính rất chặt trên thành ống. Pha nước trong suốt, lớp nhũ tương dày nhưng kết dính với nhau thành một lớp màng.

Hiệu suất thu nhận dầu tăng nhẹ khi tăng tốc độ ly tâm. Tốc độ ly tâm càng lớn thì thời gian ly tâm càng ngắn. Điều này có ý nghĩa rất lớn trong thực tế sản xuất, vừa rút ngắn thời gian sản xuất vừa hạn chế tối đa các ảnh hưởng đến chất lượng dầu. Tùy theo mục đích sử dụng của dầu có thể lựa chọn chế độ ly tâm phù hợp.



Hình 1: Ảnh hưởng của tốc độ ly tâm đến khả năng phân tách pha
A – Mẫu dầu hạt bí đỏ ly tâm ở tốc độ 6.000 v/p; B – Mẫu dầu hạt bí đỏ ly tâm ở 8.000 v/p; C – Mẫu dầu hạt bí đỏ ly tâm ở 10.000 v/p

Từ các kết các kết quả nghiên cứu thực nghiệm, nhóm tác giả đề xuất quy trình công nghệ tách chiết dầu hạt bí đỏ như sơ đồ 2:



Thuyết minh quy trình:

- Hạt bí đỏ (độ ẩm 6-7% áy nghiền đĩa. Sau đó được sàng

Sơ đồ 2: Qui trình công nghệ sản xuất dầu hạt bí đỏ bằng phương pháp enzym

- Bột hạt bí được bổ sung nước theo tỷ lệ W/S = 5, điều chỉnh pH (7,5 - 8); bổ sung enzym tỷ lệ E/S = 1,3 - 1,5 % (v/w).
- Hỗn hợp được khuấy đều và giữ ở nhiệt độ khoảng 50 -55^{0}C trong 7 giờ. Sau khi thủy phân, hỗp hợp được ly tâm ở tốc độ 6.000 v/p trong 30 phút để loại bỏ cặn, nước và tạp chất để thu lấy lớp dầu phía trên.
- Dầu thô sau khi ly tâm sẽ được rửa nước nhiều lần, lọc và khử nước để thu lấy dầu.

2.3.3. Đánh giá chất lượng sản phẩm

Mẫu dầu hạt bí đỏ chiết bằng enzym được so sánh với các mẫu dầu chiết bằng dung môi hoặc bằng phương pháp ép. Kết quả được trình bày ở bảng 20.

Bảng 20: Đặc tính và thành phần axít béo của mẫu dầu chiết bằng các phương pháp khác nhau ở điều kiện thực nghiệm

TT	Chỉ tiêu	Mẫu dầu chiết bằng dung môi	Mẫu dầu chiết bằng enzym*	Mẫu dầu chiết bằng pp ép
1	Hiệu suất thu nhận dầu (%)	98 - 99	76 - 77	70 - 72
2	Thời gian chiết dầu (giờ)	22 - 24	10 - 12	6 - 8
3	Tỷ trọng dầu	0,917	0,917	0,918
4	Độ ẩm (%)	0,13 - 0,14	0,03 - 0,04	0,03
5	Chỉ số axít (mg KOH/g)	3,12	1,09	4,01
6	Chỉ số xà phòng hóa (mg KOH/g)	184	187	185
7	Chỉ số iốt (g I_2/100 g)	107	120	111
8	Chỉ số peroxyt (meq/kg)	2,91	0,8	1,61
9	Màu sắc, độ trong	Màu xanh lá cây đậm ánh đỏ, trong suốt	Màu xanh lá cây đậm ánh đỏ, trong suốt	Màu xanh lá cây đậm ánh đỏ, trong
10	Vi khuẩn hiếu khí (Cfu/ml)	1	4	-
11	Thành phần các axít béo (%)			-
	- Axít Palmitic (C16:0)	17,52	15,79	
	- Axít Stearic (C18:0)	8,53	8,08	
	- Axít Oleic (C18:1)	**15,15**	**14,89**	
	- Axít Linoleic (C18:2)	**57,98**	**57,44**	
	- Axít Linolenic (C18:3)	**0,82**	**0,73**	
	- Axít Arachidic (C20:0)	Vết	Vết	
	- Axít Behenic (C22:0)	Vết	3,07	
	Tổng axít béo không no	**73,95**	**73,06**	

Dầu thô sau khi tách chiết bằng enzym chỉ cần sử dụng nước để loại các thành phần hòa tan không qua quá trình tinh luyện bằng hóa chất nên vẫn giữ được hương vị đặc trưng và các thành phần dinh dưỡng của dầu. Hơn nữa, trang thiết bị

sản xuất đơn giản dễ vận hành, chi phí đầu tư thấp nên có thể ứng dụng trong thực tiễn.

Bảng 21: So sánh thành phần hóa lý và axít béo của mẫu dầu hạt bí đỏ chiết bằng enzym và mẫu dầu oliu tinh khiết (Codex stan 33)

TT	Chỉ tiêu	Mẫu dầu hạt bí đỏ chiết bằng enzym*	Mẫu dầu oliu tinh khiết (Codex stan 33)
1	Tỷ trọng dầu	0,917	0,91 - 0,916
2	Độ ẩm (%)	0,03 – 0,04	≤ 0,2
3	Chỉ số axít (mg KOH/g)	1,09	-
4	Chỉ số xà phòng hóa (mg KOH/g)	187	184 - 196
5	Chỉ số iốt (g I_2/100 g)	120	75 - 94
6	Chỉ số peroxyt (meq/kg)	0,8	≤ 20
7	Màu sắc, độ trong	Màu xanh lá cây đậm ánh đỏ, trong suốt	Màu xanh lá cây đậm, trong suốt
8	Thành phần các axít béo (%)		
	- Axít Palmitic (C16:0)	15,79	7,5 – 20,0
	- Axít Stearic (C18:0)	8,08	0,5 – 5,0
	- Axít Oleic (C18:1)	**14,89**	**55 - 83**
	- Axít Linoleic (C18:2)	**57,44**	**3,5 - 21**
	- Axít Linolenic (C18:3)	**0,73**	**-**
	- Axít Arachidic (C20:0)	Vết	≤ 0,6
	- Axít Behenic (C22:0)	3,07	≤ 0,2
	Tổng axít béo không no	**73,06**	**76 - 86,5**

Mẫu dầu chiết bằng enzym có chất lượng đạt các tiêu chuẩn đăng ký và đạt tiêu chuẩn dầu tinh khiết.

2.3.4. Nghiên cứu bảo quản sản phẩm

Thực nghiệm:

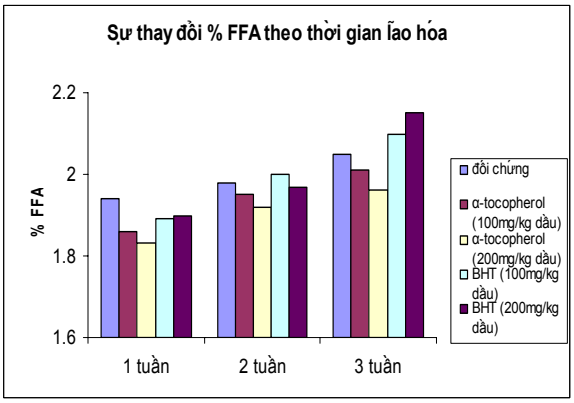
- Mẫu dầu chiết xuất bằng enzym (% FFA ban đầu là 1,06; chỉ số peroxyt là 0,8 meq/kg) bảo quản trong chai thủy tinh màu nâu, đậy kín.
- Bổ sung các chất chống oxi hóa: α-tocopherol và BHT ở các nồng độ khác nhau (100 - 200 mg/kg dầu).
- Nhiệt độ xử lý mẫu là 60^0C. Sau mỗi tuần, phân tích chỉ số axít và peroxyt của các mẫu thử.

Kết quả:

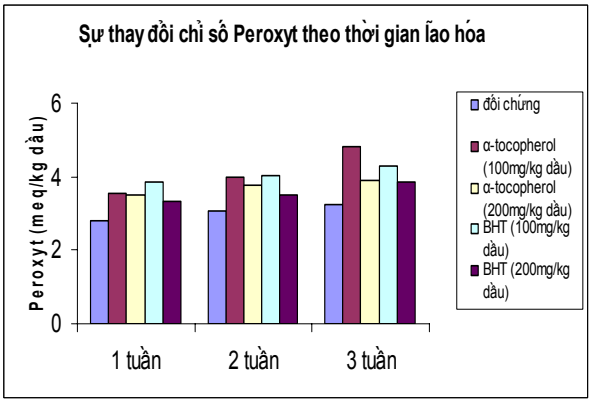
Bảng 22: Sự thay đổi chất lượng dầu theo thời gian lão hóa tăng tốc

	% FFA	Chỉ số peroxyt (meq/kg)

	1 tuần	2 tuần	3 tuần	1 tuần	2 tuần	3 tuần
Đối chứng	1,94	1,98	**2,05**	2,8	3,06	3,26
α-tocopherol (100 mg/ kg dầu)	1,86	1,95	**2,01**	3,54	3,97	4,8
α-tocopherol (200 mg/ kg dầu)	1,83	1,92	1,96	3,5	3,75	3,9
BHT (100 mg/ kg dầu)	1,89	**2,0**	2,1	3,85	4,01	4,3
BHT (200 mg/ kg dầu)	1,90	1,97	**2,15**	3,34	3,52	3,87



Đồ thị 2: Sự thay đổi % FFA trong thử nghiệm lão hóa tăng tốc



Đồ thị 3: Sự thay đổi chỉ số peroxyt trong thử nghiệm lão hóa tăng tốc

- Khi nồng độ chất bảo quản càng tăng thì các chỉ số đều thấp hơn so với mẫu đối chứng. Như vậy, chất bảo quản có vai trò duy trì sự ổn định của dầu.
- Trong trường hợp bảo quản bằng BHT không có sự chênh lệch về các chỉ số ở các nồng độ khác nhau.
- Trong trường hợp dùng α-tocopherol, nồng độ chất bảo quản càng tăng thì tốc độ oxi hóa sản phẩm sẽ tăng chậm lại.
- Theo tiêu chuẩn Codex đối với dầu tinh khiết, hàm lượng axít tự do tính theo axít oleic không quá 2g/100 g dầu.
- Như vậy, ở nhiệt độ 60^0C, các mẫu dầu không bổ sung chất bảo quản và các mẫu thử nghiệm bổ sung α-tocopherol có thời hạn bảo quản khoảng 3 tuần, thời hạn bảo quản thực theo tính toán khoảng 290 ngày.
- Các mẫu dầu bổ sung BHT có thời gian lão hóa khoảng 2 tuần. Thời hạn bảo quản dự đoán tối thiểu là 190 ngày.

Tuy nhiên, đây chỉ là thời hạn bảo quản dự đoán. Để khẳng định kết quả cần tiếp tục các nghiên cứu bảo quản trong điều kiện thực tế.

2.3.5. Khái toán nguyên liệu, vật tư để sản xuất dầu hạt bí đỏ

Bảng 23: Ước tính chi phí nguyên liệu vật tư để sản xuất 100 kg dầu hạt bí đỏ

Nguyên vật liệu	**Đơn vị**	**Số lượng**	**Đơn giá**	**Thành tiền** (đồng)
Hạt bí đỏ	kg	370	70.000	25.900.000
Enzym	kg	4,2	420.000	1.764.000
Chi phí hoá chất khác				280.000
Điện	kW	80	1.500	120.000
Nước	m^3	5	6.000	30.000
Công lao động	người	2	100.000	200.000
Tổng cộng				**28.294.000**
Chi phí nguyên liệu vật tư và nhân công để sản xuất 1 kg dầu, trong đó đã bao gồm chi phí do hao hụt (khoảng 20%)				**282.940**

Giá dầu hạt bí tại Áo là 11,5 euro; tương đương 250.000 đồng/1 lít dầu hạt bídùng để trộn salad (30% dầu hạt bí và 70% dầu khác). Nếu qui về dầu hạt bí tinh khiết thì giá bán 1 lít khoảng 600.000 – 700.000 đồng.

Như vậy, với giá thành sản xuất khoảng 283.000 đồng/lít thì tiềm năng thương mại của loại dầu này là rất khả thi.

3. KẾT LUẬN - KIẾN NGHỊ

3.1. Kết luận

Đề tài đã đạt được một số kết quả như sau:

- Xây dựng được tiêu chuẩn hạt bí đỏ dùng trong tách chiết dầu.
- Lựa chọn được 2 loại enzym phù hợp (Alcalase và Viscozyme) để thủy phân bột hạt bí đỏ.
    - Với Alcalase: pH= 8, tỷ lệ E/S = 1,5%, tỷ lệ W/S = 5, thời gian thủy phân trong 7 giờ ứng với và hiệu suất thu nhận dầu là 75,7%.
    - Viscozyme: pH= 7,5; tỷ lệ E/S = 3%, tỷ lệ W/S = 5, thời gian thủy phân 8 giờ ứng với hiệu suất là 70,3%.
- Xây dựng được quy trình công nghệ với các thông số kỹ thuật cụ thể và đề xuất các thiết bị để tách chiết dầu từ hạt bí đỏ bằng enzym Alcalase. Sản phẩm dầu tạo ra có chất lượng tương đương dầu tinh khiết, có giá trị dinh dưỡng cao (hàm lượng axít béo omega-6 > 50%).
    - W/S = 5
    - pH: 8
    - E/S = 1,5%
    - Thời gian thủy phân: 7 giờ
    - Chế độ ly tâm: 10.000 v/p trong 10 phút
- Nghiên cứu xác định thời hạn bảo quản sản phẩm với các chất chống oxi hóa khác nhau: sử dụng α-tocopherol thời hạn bảo quản dầu dự đoán là 290 ngày so với 190 ngày trong trường hợp bảo quản bằng BHT.

3.2. Kiến nghị

Tiếp tục được hỗ trợ kinh phí để hoàn thiện quá trình công nghệ nhằm nâng cao chất lượng sản phẩm và hiệu suất thu nhận dầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1 A. Rosenthal, D. L. Pyle, and K. Niranjan (1996), "*Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction*". Enzyme and Microbial Technology 19, p. 402-420

2 Barbara Siegmun, Michael Murkovic (2004), *"Changes in chemical composition of pumpkin seed during the roasting process for production of pumpkin seed oil"* (Part 2: volatile compounds), Food Chemistry 84, p. 367-374.

3 Beatriz P.M., Sant'Anna, Suely P. Freitas and Maria A.Z. Coelho (2003), *"Enzymatic aqueous technology for simultaneous coconut protein and oil extraction"*, Grasas y Aceites, Vol. 54. Fasc. 1, p.77-80.

4 Bocevska, M., Karlovic, D., Turkulov, J., and Pericin, D. (1993) "*Quality of corn germ oil obtained by aqueous enzymatic extraction*". J. Am. Oil Chem. Soc. 70, p. 1273-1277

5 Christensen, F. M. (1989). "*Enzyme technology versus engineering technology in food industry*". Biotechnol. Appl. Biochem. 11, p. 249-265

Eunok Choe and David B. Min (2006), "*Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation*".

6 Gilbert O. Fruhwirth, Albin Hermetter (2007), *"Seed and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities"*, Eur. J. Lipid Sci. Tecnol. 109, p. 1128-1140.

7 Hana Al Zuhairu, Amal A. Abd El-Fattah And Moushira Ibrahim El-Sayed (1999). "*Pumpkin-Seed Oil Modulates The Effect Of Felodipine And Captopril In pontaneously Hypertensive Rats*" Pharmacological Research, Vol. 41, No. 5, 2000

8 Hilaire Macaire Womeni, Robert Ndjouenkeu, Cesar Kapseu, Felicite Tchouanguep Mbiapo, Michel Parmentier, Jacques Fanni (2008), *"Aqueous enzymatic oil extraction from Irvingia gabonensis seed kernels"*, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 110, p.232-238.

9 Ivan Kreft, Vekoslava Stibilj, Zdenka Trkov (2002), "*Iodine and selenium contents in pumpkin (Cucurbita pepo L.) oil and oil-cake*", Eur Food Res Technol 215, p. 279-281.

10 J. Sineiro, H. Dominguez, M. J. Nunez & J. M. Lema (1998). "*Optimization of the enzymatic treatment during aqueous oil extraction from sunflower seeds*". Food Chemistry, Vol. 61, No. 4, pp. 467-474

11 Karl J. Hemmerich (1998). "*General Aging Theory and Simplified Protocol for Accelerated Aging of medical Devices*" Medical Plastics and Biomaterials Magazine, p. 1-6

12 L. Mayor, R.L. Cunha, A.M. Sereno (2007) "*Relation between mechanical properties and structural changes during osmotic dehydration of pumpkin*". Food Research International 40, p. 448–460

13 M. C. Kashyap, Y.C Agrawal, P.k. Ghosh, D. S. Rajas, B.C Sarkar, B.P.N. Singh (2007), *"Oil extraction rates of enzymatical hydrolyzed soybean"*, Journal of Food Engineering 81, p. 611-617.

14 M. Gabriela Bernardo-Gil, Lina M. Cardoso Lopes (2004). "*Supercritical fluid extract of Cucurbita ficifolia seed oil*". Eur Food Res Technol 219, p. 593-597

15 Michael Murkovic, Vieno Piironen, Anna M. Lampi, Tanja Kraushofer, Gerhard Sontag (2004), *"Changes in chemical composition of pumpkin seed during the roasting process for production of pumpkin seed oil"* (Part 1: non-volatile compounds), Food Chemistry 84, p. 359-365.

16 Mohammed A. Alfawaz (2004), *"Chemical compsition and Oil Characteristics of Pumpkin (Cucurbita maxima) Seed Kernels"*, Res. Bult., No. (129), Food Sci & Agric. Res. Center, King Saud Univ., p. 5-18.

17 Peter G. Bradford and Atif B Award (2007),"*Phytosterols as anticancer compounds*". Mol. Nutri Food Res. 51, 161-170

18 Ruchi Gaur, Aparna Sharma, S.K. Khare, Munishwar Nath Gupta (2007), *"Anovel process for extraction of edible oils Enzyme assisted three phase partitioning (EATTP)"*, Bioresource Technology 98, p.696-699.

19 Shweta Shah, Aparna Sharma, M.N. Gupta (2005). "*Extraction of oil from Jatropha curcas L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction*". Bioresource Technology 96, p. 121-123

20 S. Setha, Y.C. Agrawala, P.K. Ghoshb, D.S. Jayasb, B.P.N. Singha (2007). "*Oil extraction rates of soya bean using isopropyl alcohol as solvent*" Biosystems Engineering 97, p. 209 – 217

21 Tarek A. El-Adawy, Khaled M. Taha (2001), *"Characteristics and composition of different seed oils and flours"*, Food Chemistry 74, p. 47-54.

22 Thomas Wenzl, Elke Prettner, Klaus Schweiger, Franz S. Wagner (2002), "*An improved method to discover adulteration of Styrian pumpkin seed oil*", J. Biochem. Biophys. Methods 53

23 Tran T Thanh, Marie-France Vergnes, Jacques Kaloustian, Tarek F El-Moselhy, Marie-Jo Amiot-Carlin and Henri Portugal (2006). "*Effect of storage and heating on phytosterol concentrations in vegetable oils determined by GC/MS*" J. Sci. Food Agric. 86, p.220–225.

24 Wendy L. Applequist, Bharathi Avula, Brian T. Schaneberg, Yan-Hong Wang, Ikhlas A. Khan (2006), *"Comparative fatty acid content of seed of four Cucurbita species grown in a common (shared) garden"*, Journal of Food Composition and Analysis 19, p. 606-611.

25 Xiao Guan, Huiyuan Yao (2008). " *Optimization of Viscozyme l-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology*". Food Chemistry 106, p. 345-351.

26 Y.M.H. Younis, Seniat Ghirmay, S.S. Al-Shihry (2000), *"African Cucurbita pepo* L*,: properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil"*, Phytochemistry 54, p. 71-75.

27 www.khuyennongvn.gov.vn

PHỤ LỤC

1. Một số hình ảnh thực hiện đề tài
2. Kết quả phân tích
3. Hợp đồng nghiên cứu khoa học và phát triển công nghệ
4. Biên bản họp hội đồng nghiệm thu cấp cơ sở
5. Nhận xét của phản biện đề tài

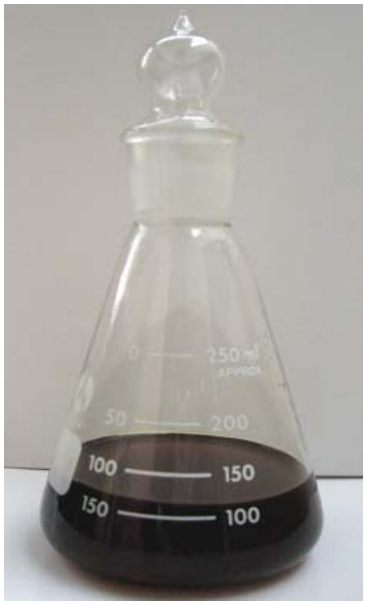
Quy trình tách chiết dầu từ hạt bí đỏ

Hạt bí đỏ giống Việt Nam

Bột hạt bí đỏ

Thủy phân

Ly tâm



Dầu hạt bí đỏ