

NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT LIPID TỪ NHỘNG TẦM BẰNG PHƯƠNG PHÁP ENZYM

Lê Thanh Hải Hà¹, Vũ Thị Hồng Chính², Phan Ngọc Nhi³,
Nguyễn Thị Thanh Trà³, Vũ Kim Thoa^{1*}

*Tác giả liên hệ, Email: kimthoacnsh@hou.edu.vn. ORCID: 0009-0006-0735-1366

Ngày tòa soạn nhận được bài báo: 03/03/2026

Ngày phản biện đánh giá: 25/05/2026

Ngày bài báo được duyệt đăng: 25/06/2026

DOI: 10.59266/houjs.2026.1323

Tóm tắt: Nghiên cứu được thực hiện nhằm xây dựng quy trình tách chiết lipid từ nhộng tằm (*Bombyx mori* L.) bằng phương pháp thủy phân enzym. Hiệu quả của các phương pháp tách chiết bằng nước, dung dịch NaCl 1% và enzym được khảo sát, đồng thời đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ gồm nhiệt độ, tỷ lệ nguyên liệu/nước, tỷ lệ enzym và thời gian thủy phân đến hiệu suất thu hồi lipid. Kết quả cho thấy phương pháp sử dụng enzym cho hiệu suất tách chiết cao nhất, đạt 50,5% trong điều kiện khuấy gián đoạn. Các điều kiện thích hợp cho quá trình thủy phân gồm nhiệt độ 50°C, tỷ lệ nguyên liệu/nước 1:4, tỷ lệ enzym lipase 1,5% và thời gian thủy phân 90 phút. Trong điều kiện này, hiệu suất thu hồi lipid đạt xấp xỉ 79,2%. Dầu nhộng tằm thu được có màu vàng rơm, trong suốt, mùi thơm đặc trưng. Các chỉ số chất lượng của dầu lần lượt là peroxide 1,57 meq/kg, acid 4,67 mg KOH/g dầu và iod 116,8 g I₂/100 g dầu. Kết quả cho thấy phương pháp thủy phân enzym là hướng tiếp cận hiệu quả, thân thiện môi trường và có tiềm năng ứng dụng trong khai thác dầu nhộng tằm phục vụ công nghiệp thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.

Từ khóa: Nhộng tằm, *Bombyx mori*, lipid, lipase, enzym thủy phân

I. Đặt vấn đề

Trong quá trình ươm tơ, nhộng tằm được tạo ra như một phụ phẩm với khối lượng đáng kể. Với sản lượng kén trên 16.800 tấn/năm, ngành dâu tằm tơ Việt Nam tạo ra hàng nghìn tấn nhộng tằm mỗi năm. Đây là nguồn sinh khối giàu protein (khoảng 50-60% chất khô) và

lipid (khoảng 25-40% chất khô), có tiềm năng lớn để sản xuất dầu ăn, peptide hoạt tính sinh học và các nguyên liệu cho thực phẩm chức năng, góp phần nâng cao giá trị gia tăng của chuỗi sản xuất dâu tằm tơ. Dầu chiết xuất từ nhộng tằm (Silkworm pupa oil) đã được báo cáo là một nguồn dầu an toàn và dinh dưỡng tương đương với các loại dầu thực vật thường được sử

¹ Trường Đại học Mở Hà Nội, Hà Nội, Việt Nam

² Bệnh viện Đa khoa Quốc tế Vinmec, Hà Nội, Việt Nam

³ Sinh viên Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Mở Hà Nội, Hà Nội, Việt Nam

dụng, chẳng hạn như dầu hướng dương. Dầu nhộng tằm nguồn cung cấp acid béo không bão hòa (khoảng 60-70% tổng hàm lượng acid béo), đặc biệt là α -linolenic acid và oleic acid. Cả α -linolenic acid và oleic đều được biết đến với lợi ích dinh dưỡng và sức khỏe, có thể được khai thác cho nhiều ứng dụng khác nhau, bao gồm thực phẩm, thực phẩm bổ sung và thức ăn.

Để thu nhận dầu từ nhộng tằm, nhiều phương pháp tách chiết đã được nghiên cứu và ứng dụng, bao gồm ép cơ học, chiết bằng dung môi hữu cơ, chiết hỗ trợ vi sóng và chiết bằng chất lỏng siêu tới hạn (Saviane và cộng sự, 2021; Hu và cộng sự, 2017; Srinivas và cộng sự, 2019). Phương pháp ép cơ học có ưu điểm đơn giản, dễ thực hiện và không sử dụng hóa chất, tuy nhiên hiệu suất thu hồi dầu thường thấp do một phần lipid vẫn còn liên kết trong cấu trúc mô nhộng. Trong khi đó, các phương pháp chiết bằng dung môi hữu cơ cho hiệu suất cao hơn nhưng tồn tại nguy cơ tồn dư dung môi trong sản phẩm, đồng thời làm gia tăng chi phí xử lý và các vấn đề về môi trường.

Hu và cộng sự (2017) đã nghiên cứu chiết xuất dầu nhộng tằm bằng phương pháp hỗ trợ vi sóng và cho thấy hiệu suất thu hồi dầu cũng như thành phần acid béo tương đương phương pháp Soxhlet truyền thống. Dầu thu được có các đặc tính hóa lý thuận lợi và độ ổn định oxy hóa tốt. Tuy nhiên, việc sử dụng thiết bị vi sóng chuyên dụng kết hợp với dung môi hữu cơ làm tăng chi phí đầu tư và vận hành, hạn chế khả năng ứng dụng ở quy mô sản xuất.

Bên cạnh đó, Srinivas và cộng sự (2019) đã áp dụng công nghệ chiết bằng

CO₂ siêu tới hạn kết hợp phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) để tối ưu hóa quá trình thu hồi dầu từ nhộng tằm. Kết quả cho thấy hiệu suất chiết phụ thuộc đáng kể vào áp suất, nhiệt độ, thời gian chiết và lưu lượng CO₂. Mặc dù phương pháp này tạo ra sản phẩm có chất lượng cao và hạn chế hiện tượng oxy hóa lipid, nhưng yêu cầu hệ thống thiết bị áp suất cao, quy trình vận hành phức tạp và chi phí đầu tư lớn.

So với các phương pháp trên, công nghệ tách chiết bằng enzyme được xem là hướng tiếp cận tiềm năng nhờ khả năng phá vỡ cấu trúc tế bào và các phức hợp lipid - protein trong mô nhộng dưới điều kiện phản ứng ôn hòa. Quá trình thủy phân bằng enzyme thường được thực hiện ở nhiệt độ thấp, không hoặc ít sử dụng dung môi hữu cơ, qua đó hạn chế sự oxy hóa các acid béo không no và góp phần duy trì chất lượng dầu. Ngoài ra, phương pháp này thân thiện với môi trường, dễ triển khai ở quy mô sản xuất và có khả năng kết hợp thu hồi các sản phẩm giá trị gia tăng khác từ nhộng tằm như protein hoặc peptide thủy phân.

II. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nhộng tằm *Bombyx mori* L. (Trung tâm Nghiên cứu Dâu tằm tơ Trung ương).

Alcalase® Enzyme (2,4 AU, Sigma): thủy phân protein mô nhộng, giải phóng lipid.

Lipase (EC 3.1.1.3; CAS 9001-62-1; hoạt tính ≥ 30.000 U/g; Nanjing Duly Biotech Co., Ltd, Trung Quốc): làm suy yếu liên kết lipid - protein và phospholipid màng, giúp tăng hiệu quả tách chiết lipid khỏi nguyên liệu.

2.2. Phương pháp xử lý nguyên liệu nhộng tằm

Nhộng tằm sau khi thu mua được bảo quản đông ở - 20 °C. Nhộng được rã đông và xử lý bằng phương pháp ép cơ học nhằm tách ruột nhộng ra khỏi lớp vỏ ngoài. Phần ruột nhộng sau khi tách được đồng nhất bằng máy nghiền và sử dụng làm nguyên liệu cho quá trình thủy phân enzyme và thu nhận dầu, trong khi phần vỏ được loại bỏ.

2.3. Phương pháp chiết xuất dầu nhộng tằm bằng nước muối

Quá trình chiết nước muối được thực hiện theo phương pháp của Tangsanthatkun và cộng sự (2022) có một số sửa đổi để phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Để chiết xuất dầu, 50 g nhộng tằm tươi (đã loại vỏ) trộn đều với 100 mL dung dịch muối (NaCl 1%). Giữ hỗn hợp này ở 50°C trong 2 giờ, khuấy đều trong suốt quá trình. Kết thúc quá trình, ly tâm lần 1 để thu được ba phần, bao gồm lớp kem, chất nổi phía trên hoặc một lớp nước và lớp cặn đáy tương ứng từ trên xuống dưới. Lớp kem trên cùng và pha nổi phía trên được thu thập và sau đó được ly tâm lần 2 ở tốc độ cao hơn để tăng cường khả năng tách lipid. Sau ly tâm lần thứ hai, dầu tự do thu được ở lớp trên của ống ly tâm.

2.4. Phương pháp chiết xuất dầu nhộng tằm bằng enzyme

Nhộng tằm tươi được tách bỏ vỏ thu dịch nhộng tằm. Dịch nhộng tằm hòa vào nước theo tỷ lệ 1:2 (w/v), bổ sung alcalase 2%, điều chỉnh pH 8 và giữ ở 50°C trong 2h (khuấy nhẹ trong suốt quá trình). Sau 2 giờ tiến hành bổ sung lipase 1%, điều chỉnh về pH và giữ ở nhiệt độ 50°C trong 1 giờ, theo 2 phương pháp khuấy liên tục và khuấy gián đoạn. Với khuấy liên tục,

duy trì khuấy nhẹ nhàng; với khuấy gián đoạn, cách 15 phút khuấy 1 lần, mỗi lần 30 giây. Sau 3h, gia nhiệt ở 90°C trong 10 phút để bất hoạt enzyme. Kết thúc quá trình, gạn thu dịch, ly tâm lạnh 5000 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ 10°C. Dùng pipet hút dầu nổi trên bề mặt dung dịch sau ly tâm. Tiếp tục ly tâm lần 2 (8000 rpm/15 phút) để làm sạch dầu. Dầu nhộng tằm thu được bảo quản ở khoảng -18°C để tiến hành các phân tích tiếp theo. Hiệu suất chiết dầu tính theo công thức (1). Các thí nghiệm khảo sát được tiến hành bằng cách thay đổi từng yếu tố trong khi giữ cố định các yếu tố còn lại. Các thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần độc lập. Kết quả được biểu thị dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

2.5. Phương pháp xác định hàm lượng lipid tổng số trong nguyên liệu

Hàm lượng lipid tổng số của nguyên liệu được xác định theo phương pháp chiết Soxhlet theo AOAC Official Method 920.39 (AOAC International, 2019). Mẫu nhộng tằm được sấy đến khối lượng không đổi, nghiền mịn và cân chính xác khoảng 3-5 g vào ống chiết có chứa giấy lọc. Lipid được chiết bằng dung môi n-hexan trong thiết bị Soxhlet trong 6-8 giờ. Sau khi kết thúc quá trình chiết, dung môi được loại bỏ bằng thiết bị cô quay chân không, phần dầu thu được được sấy ở 105 °C đến khối lượng không đổi, để nguội trong bình hút ẩm và cân.

Hàm lượng lipid tổng số (%) được tính theo công thức:

$$X = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100$$

Trong đó: m_1 là khối lượng bình chứa trước khi thu dầu (g); m_2 là khối lượng bình chứa sau khi thu dầu (g); m_0 là khối lượng mẫu ban đầu (g).

2.6. Xác định các chỉ số của dầu nhộng tằm

2.6.1. Xác định chỉ số peroxide (PV)

Chỉ số peroxide (PV) được xác định theo phương pháp chuẩn độ iod, dựa trên khả năng oxy hóa kali iodide (KI) của các hydroperoxide hình thành trong quá trình oxy hóa lipid. Iod giải phóng được chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat chuẩn với hồ tinh bột làm chỉ thị (AOCS, 2017). Khoảng 3 g dầu được hòa tan trong cloroform, bổ sung acid acetic và dung dịch KI bão hòa. Sau khi phản ứng trong tối 5-10 phút, thêm nước cất và chuẩn độ bằng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N đến điểm kết thúc. Giá trị PV được tính dựa trên lượng natri thiosulfat tiêu tốn và biểu thị dưới dạng meq O_2/kg dầu.

2.6.2. Xác định chỉ số acid (AV)

Chỉ số acid (AV) được xác định theo phương pháp chuẩn độ kiềm, biểu thị số mg KOH cần thiết để trung hòa acid béo tự do có trong 1 g dầu (ISO 660:2020). Khoảng 5 g dầu được hòa tan trong hỗn hợp ethanol:ether (1:1, v/v) đã trung hòa, sau đó chuẩn độ bằng dung dịch KOH 0,1 N với phenolphthalein làm chỉ thị đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền. Kết quả được biểu thị dưới dạng mg KOH/g dầu.

2.6.3. Xác định chỉ số iod (IV)

Chỉ số iod (IV) được xác định theo phương pháp Wijs nhằm đánh giá mức độ không no của dầu. Các liên kết đôi của acid béo phản ứng với iod monoclorid

(ICl), lượng thuốc thử dư được xác định gián tiếp bằng chuẩn độ natri thiosulfat (ISO 3961:2018). Khoảng 0,3 g dầu được hòa tan trong ether, bổ sung thuốc thử Wijs và ủ trong tối. Sau đó thêm dung dịch KI và nước cất, lượng iod giải phóng được chuẩn độ bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N với hồ tinh bột làm chỉ thị. Kết quả được biểu thị dưới dạng gam iod hấp phụ trên 100 g dầu ($\text{I}_2/100$ g dầu).

III. Kết quả và thảo luận

3.1. Lựa chọn phương pháp tách chiết dầu nhộng tằm

Tiến hành tách chiết dầu nhộng ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 2h, sử dụng các tác nhân khác nhau: tách chiết bằng nước, tách chiết bằng muối và tách chiết bằng lipase 1%. Đánh giá hiệu suất chiết lipid trong điều kiện khuấy gián đoạn và khuấy liên tục. Kết quả được thể hiện ở bảng 1 và hình 2.



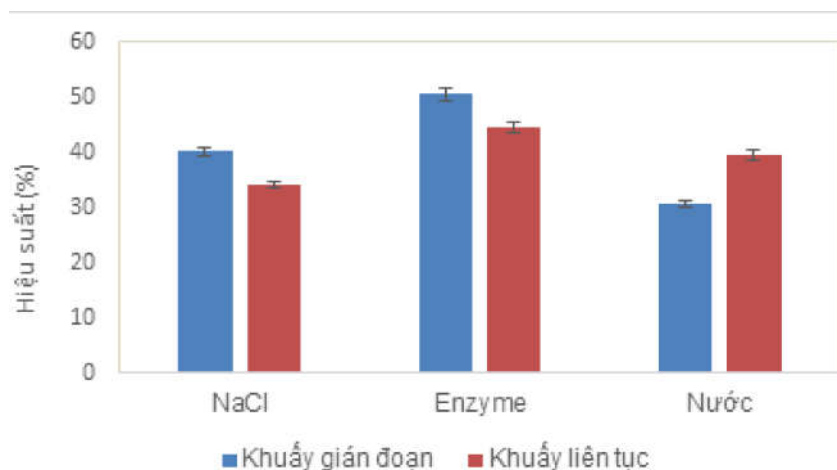
Hình 1: Dịch nhộng tằm thu được sau xử lý

Bảng 1: Hiệu suất chiết lipid bằng dung môi khi khuấy gián đoạn và khuấy liên tục(%)

Tác nhân	Khuấy gián đoạn (%)	Khuấy liên tục (%)
NaCl	$40,2 \pm 0,8$	$34,1 \pm 0,6$
Enzyme	$50,5 \pm 1,1$	$44,6 \pm 0,9$
Nước	$30,6 \pm 0,6$	$39,5 \pm 0,8$

Kết quả phân tích cho thấy, phương pháp sử dụng lipase để chiết xuất lipid từ nhộng tằm khi thực hiện khuấy gián đoạn đạt hiệu suất cao nhất là 50,5%. Trong phương pháp enzym, việc khuấy liên tục không làm tăng hiệu suất tách chiết, thậm

chí hiệu suất còn giảm một cách đáng kể. Lý do cho điều này có thể do việc khuấy liên tục dẫn đến nhũ tương hóa mẫu, gây cản trở hoạt động của enzym, đồng thời có thể giữ dầu trong hệ thống và dẫn đến giảm sản lượng dầu.



Hình 2: Ảnh hưởng của tốc độ khuấy đến hiệu suất chiết lipid bằng NaCl 1%, lipase và nước

3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết và thu nhận lipid

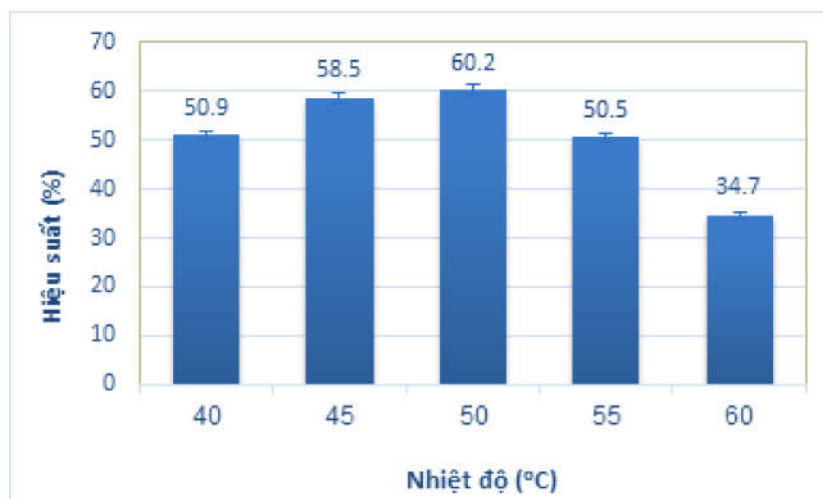
3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Ảnh hưởng của nhiệt độ được khảo sát trong điều kiện: tỷ lệ nguyên liệu/nước là 1/2, alcalase 2% trong 2 giờ, tiếp theo bổ sung lipase 1% trong 1 giờ và khuấy gián đoạn, thay đổi các mức nhiệt độ 40 - 60°C.

Hình 3 cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi lipid từ nhộng tằm. Khi tăng nhiệt độ từ 40°C lên 50°C, hiệu suất tách chiết tăng từ 50,9% lên 60,2%. Sự gia tăng này có thể được giải thích do nhiệt độ thích hợp làm tăng động năng phân tử, giảm độ nhớt của hệ phản ứng và thúc đẩy quá trình khuếch tán giữa enzyme và cơ chất, từ đó nâng cao hiệu quả thủy phân lipid. Tuy nhiên, khi nhiệt độ tiếp tục tăng lên 55°C và 60°C, hiệu suất giảm đáng kể xuống

còn 50,5% và 34,7%. Nguyên nhân có thể do enzyme bị biến tính một phần ở nhiệt độ cao, làm giảm hoạt tính xúc tác và khả năng thủy phân các liên kết lipid - protein trong mô nhộng.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Wei và cộng sự (2009), trong đó nhiệt độ được xác định là một trong những yếu tố ảnh hưởng mạnh đến hiệu suất thu hồi dầu nhộng tằm bằng phương pháp CO₂ siêu tới hạn; hiệu suất chiết giảm khi nhiệt độ vượt quá ngưỡng tối ưu do ảnh hưởng đến tính ổn định của hệ chiết. Tương tự, Hu và cộng sự (2017) cũng ghi nhận việc gia tăng năng lượng xử lý giúp phá vỡ cấu trúc tế bào và thúc đẩy giải phóng dầu, tuy nhiên nhiệt độ quá cao có thể làm suy giảm chất lượng lipid do gia tăng các phản ứng oxy hóa. Do đó, nhiệt độ 50°C được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo vì vừa đảm bảo hiệu suất thu hồi lipid cao vừa hạn chế sự suy giảm hoạt tính enzyme.

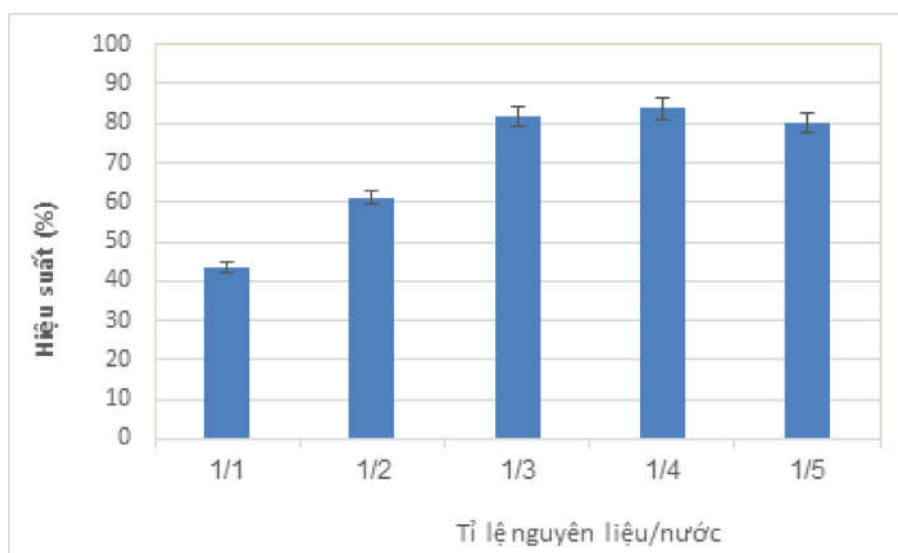


Hình 3: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chiết lipid bằng enzyme lipase

3.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu nước

Thí nghiệm tiến hành tách chiết dầu nhộng với tỷ lệ nguyên liệu và nước, lần lượt là 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 và 1:5, với 50g nguyên liệu nhộng tằm. Kết quả ở Hình 4 cho thấy tỷ lệ nguyên liệu/nước ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất thu hồi lipid. Khi tăng tỷ lệ nước từ 1:1 lên 1:4, hiệu suất tách chiết tăng đáng kể và đạt giá

trị cao nhất là 83,7%. Điều này cho thấy nước đóng vai trò là môi trường phân tán giúp enzyme tiếp xúc tốt hơn với cơ chất, đồng thời làm giảm độ nhớt của hệ phản ứng và tăng khả năng khuếch tán của các sản phẩm thủy phân. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng lượng nước đến tỷ lệ 1:5, hiệu suất giảm xuống còn 80,1%, có thể do hệ phản ứng bị pha loãng quá mức làm giảm tần suất va chạm giữa enzyme và cơ chất.



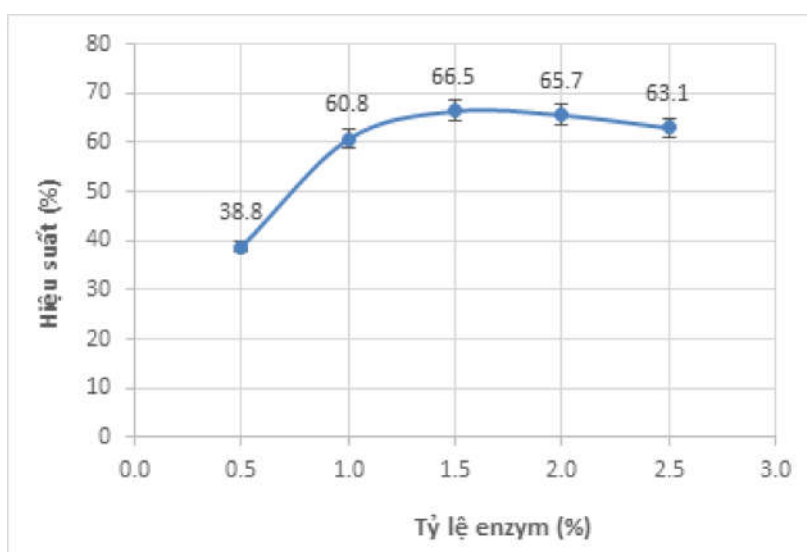
Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/nước đến hiệu suất chiết lipid

Xu hướng này tương đồng với nghiên cứu của Tangsanthakun và cộng sự (2022), khi tối ưu quá trình chiết dầu nhộng tằm bằng phương pháp nước muối. Các tác giả ghi nhận tỷ lệ dịch chiết/nguyên liệu khoảng 3,3 mL/g cho hiệu suất thu hồi dầu cao nhất, trong khi lượng nước quá lớn làm giảm hiệu quả tách dầu do hiện tượng pha loãng hệ phản ứng. Kết quả nghiên cứu hiện tại cũng cho thấy việc duy trì lượng nước ở mức thích hợp là cần thiết để cân bằng giữa khả năng thủy phân và hiệu quả thu hồi lipid.

3.2.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme bổ sung

Trong phản ứng thủy phân, dầu nhộng đóng vai trò cơ chất, được phân

giải bởi enzyme lipase xúc tác quá trình thủy phân nhộng giúp quá trình tách dầu nhộng đạt hiệu quả cao hơn. Do đó, tỷ lệ enzyme bổ sung là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất tách chiết dầu nhộng tằm. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzym lipase bổ sung thông qua các thí nghiệm được bố trí như sau: 50g dịch nhộng tằm bổ sung enzyme lipase với lượng enzyme tăng dần từ 0,5% - 2,5%, giữ các mẫu trong bể ổn nhiệt ở 50°C trong 1 giờ, khuấy gián đoạn, cách 15 phút khuấy 1 lần, mỗi lần 30 giây. Xác định trọng lượng dầu thu được sau ly tâm và tính hiệu suất tách dầu ở mỗi tỷ lệ enzym.



Hình 5: Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme bổ sung đến hiệu suất chiết lipid nhộng

Kết quả ở hình 5 cho thấy tỷ lệ enzyme bổ sung ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất tách chiết dầu nhộng. Khi tăng lượng enzyme từ 0,5% lên 1,0%, hiệu suất thu hồi lipid tăng rõ rệt và đạt 60,8%. Sự gia tăng này được giải thích bởi số lượng trung tâm hoạt động của enzyme tăng lên, thúc đẩy quá trình thủy phân và giải phóng

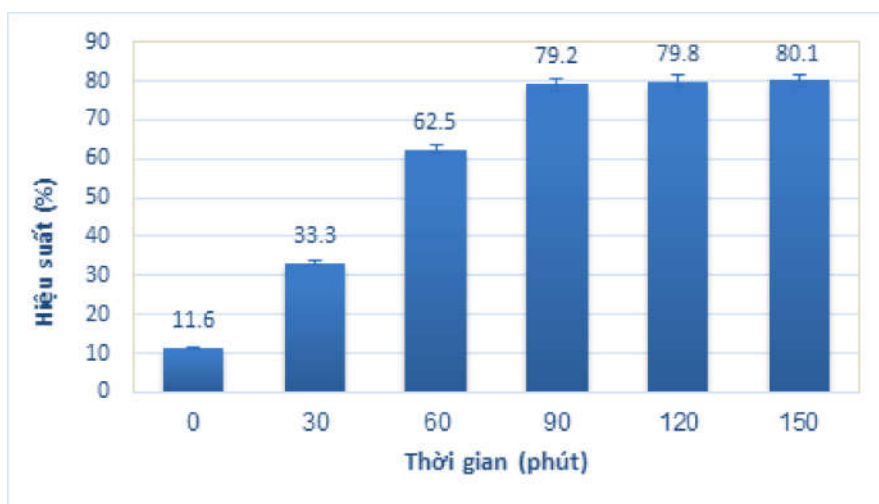
lipid khỏi cấu trúc mô nhộng. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng tỷ lệ enzyme từ 1,5% đến 2,5%, hiệu suất chỉ tăng nhẹ hoặc có xu hướng giảm. Hiện tượng này có thể do cơ chất dần đạt trạng thái bão hòa, trong khi sự tích lũy các sản phẩm thủy phân trong môi trường phản ứng làm giảm hiệu quả xúc tác của enzyme.

Kết quả thu được phù hợp với cơ chế thủy phân enzyme được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu về tách chiết dầu sinh học, trong đó hiệu suất phản ứng tăng theo nồng độ enzyme đến một giới hạn nhất định trước khi đạt trạng thái cân bằng. Ngoài ra, nghiên cứu của Susirirut và cộng sự (2023) về đồng tách chiết dầu và protein từ nhộng tằm cũng cho thấy việc tối ưu lượng tác nhân sinh học là yếu tố quan trọng quyết định khả năng giải phóng lipid từ cấu trúc mô nhộng. Tương tự, Hu và cộng sự (2017) ghi nhận sự phá vỡ cấu trúc tế bào là cơ chế chính làm tăng hiệu suất thu hồi dầu khi cường độ xử lý được tăng lên. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ enzyme 1,5% được lựa chọn vì cho hiệu

suất thu hồi lipid cao nhất và đảm bảo hiệu quả sử dụng enzyme.

3.2.4. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Thời gian có ảnh hưởng lớn đến hiệu quả tách dầu bằng enzyme, do enzyme bản chất là protein nên chúng có khả năng chịu đựng hay độ bền phụ thuộc vào cấu trúc của enzyme đó. Vì vậy, việc xác định thời gian phản ứng tối ưu và thích hợp của enzyme lipase là vô cùng cần thiết. Tiến hành tách chiết dầu nhộng bằng enzym lipase ở nhiệt độ 50°C, điều kiện khuấy gián đoạn). Sau mỗi 30 phút tiến hành xác định hiệu suất tách chiết lipid.



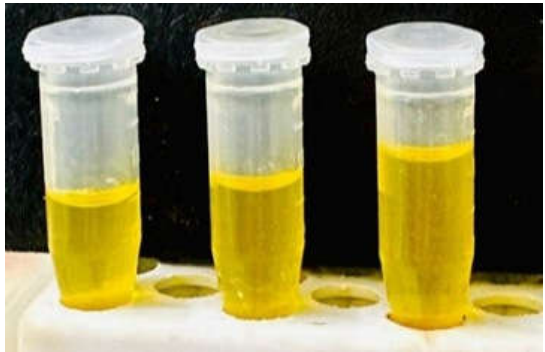
Hình 6: Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chiết lipid bằng enzyme lipase

Kết quả ở hình 6 cho thấy thời gian ảnh hưởng lớn đến hiệu suất tách chiết lipid từ nhộng. Khi tiến hành chiết ở các thời gian khác nhau, thời gian càng dài, hiệu suất chiết càng tăng. Hiệu suất thu hồi lipid tăng nhanh trong 90 phút đầu và đạt 79,2%, sau đó tốc độ tăng chậm lại. Khi kéo dài 120 - 150 phút, hiệu suất dao động nhẹ và gần như đạt trạng thái cân bằng. Điều này cho thấy

phần lớn liên kết lipid - protein trong mô nhộng đã được thủy phân trong khoảng thời gian này. Việc kéo dài thời gian phản ứng hơn nữa có thể không mang lại hiệu quả đáng kể nhưng làm tăng chi phí sản xuất. Vì vậy, thời gian thủy phân 90 phút được xem là phù hợp cho quá trình tách chiết lipid từ nhộng tằm bằng enzym lipase.

3.3. Đánh giá chất lượng lipid tách chiết từ nhộng tằm

3.3.1. Đánh giá cảm quan



Hình 7: Dầu tách chiết từ nhộng tằm bằng phương pháp enzym

Chỉ tiêu cảm quan của chất béo nhộng tách chiết bằng enzym lipase được thể hiện bằng màu sắc, mùi, vị, độ trong. Kết quả xác định chỉ tiêu cảm quan cho

thấy, chất béo tách chiết từ nhộng có màu vàng rơm, mùi thơm đặc trưng, vị béo ngậy, trạng thái trong suốt. Không lẫn các tạp chất, không bị vẩn đục và không bị kết tủa.

3.3.2. Các chỉ số của dầu nhộng

Để đánh giá chất lượng của một loại chất béo, người ta thường xác định các chỉ số hóa học đặc trưng. Các chỉ số thường dùng bao gồm chỉ số iod, peroxide, chỉ số acid, chỉ số xà phòng và chỉ số ester. Các chỉ số này của mỗi loại dầu mỡ được quy định nằm trong một giới hạn nhất định. Chỉ số peroxide, chỉ số acid và chỉ số iod của dầu nhộng tằm trong thí nghiệm này được xác định và trình bày ở bảng 2.

Bảng 2: Các chỉ số của lipid nhộng tằm tách chiết bằng enzym lipase

Các chỉ số	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình $\pm$ SD
Chỉ số peroxide (meq/kg)	1,55	1,62	1,54	$1,57 \pm 0,04$
Chỉ số acid (mgKOH/g)	4,66	4,63	4,72	$4,67 \pm 0,05$
Chỉ số iod (g/100g)	116,5	118,2	115,8	$116,8 \pm 1,2$

Bảng 3: Chỉ số peroxide, chỉ số acid và chỉ số iod của một số loại nguyên liệu

Chỉ tiêu	Dầu nhộng tằm tách chiết bằng lipase	Dầu nhộng tằm tách chiết bằng NaCl (Tangsanthatkun & cộng sự, 2022)	Dầu hạt chia (Vi & cộng sự, 2023)	Dầu mắc ca (Ma & cộng sự, 2022)
Chỉ số peroxide (meq/kg)	1,57	1,55	3,22	0,48
Chỉ số acid (mgKOH/g)	4,67	0,67	0,02	0,18
Chỉ số iod (g/100g)	116,8	-	146	69

Giá trị peroxide của dầu nhộng tách chiết là 1,57 meq/kg, nằm trong giới hạn xác định chất lượng tốt của chất béo. Chỉ số iod cũng được tiến hành với 3 lần thử cho kết quả trung bình là 116,8 g/100g dầu.

Chỉ số acid của dầu nhộng tằm thu được là 4,67 mg KOH/g, phản ánh sự hiện

diện của acid béo tự do hình thành trong quá trình thủy phân bằng enzyme. Giá trị này cao hơn giới hạn áp dụng cho nhiều loại dầu thực vật thương mại theo Codex Stan 210 sau tinh luyện. Tuy nhiên, do dầu nhộng tằm là dầu côn trùng chưa tinh luyện và hiện chưa có tiêu chuẩn Codex riêng, việc so sánh chỉ mang tính tham

khảo. Để sử dụng làm dầu thực phẩm, sản phẩm cần được tinh luyện nhằm giảm hàm lượng acid béo tự do và nâng cao chất lượng.

IV. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp thủy phân bằng enzym cho hiệu suất thu hồi lipid cao hơn đáng kể so với phương pháp chiết bằng nước hoặc dung dịch muối. Nguyên nhân là do enzyme protease và lipase có khả năng phá vỡ cấu trúc tế bào cũng như các phức hợp lipid - protein trong mô nhộng, tạo điều kiện giải phóng lipid tự do vào môi trường phản ứng. Bên cạnh đó, quá trình thủy phân được thực hiện ở nhiệt độ tương đối thấp (50°C) nên hạn chế hiện tượng oxy hóa và biến tính các thành phần lipid không no. Các thông số tối ưu thu được trong nghiên cứu gồm nhiệt độ 50°C, tỷ lệ nguyên liệu/nước 1:4, tỷ lệ enzyme 1,5% và thời gian thủy phân 90 phút, cho hiệu suất thu hồi lipid đạt 79,2%. Hiệu suất này cao hơn đáng kể so với hiệu suất thu được trong giai đoạn khảo sát ban đầu và cho thấy tiềm năng ứng dụng của phương pháp enzym trong khai thác dầu nhộng tằm quy mô sản xuất.

Tài liệu tham khảo

- American Oil Chemists' Society. (2017). *Official methods and recommended practices of the AOCS* (7th ed.). AOCS Press.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. (2023). *Báo cáo thực trạng và giải pháp phát triển bền vững ngành dâu tằm tơ Việt Nam*. Trung tâm Khuyến nông Quốc gia.
- Hirunyophat, P., Chalermchaiwat, P., Onnom, N., và Prinyawiwatkul, W. (2021). Selected nutritional quality and physicochemical properties of silkworm pupae (frozen or powdered) from two species. *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 3578-3587. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14985>
- Hu, B., Li, C., Zhang, Z., Zhao, Q., Zhu, Y., Su, Z., và Chen, Y. (2017). Microwave-assisted extraction of silkworm pupal oil and evaluation of its fatty acid composition, physicochemical properties and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 231, 348-355. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.152>
- Ma, F.-Y., Zhang, M., Shuai, X.-X., Du, L.-Q., và Wei, Z.-F. (2022). Optimization of aqueous enzymatic microwave-assisted extraction of macadamia oil and evaluation of its chemical composition, physicochemical properties, and antioxidant activities. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 124, 2100079. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202100079>
- Nongonierma, A. B., và FitzGerald, R. J. (2023). Unlocking the potential of silkworm pupae (*Bombyx mori*) as a sustainable source of bioactive proteins and essential fatty acids. *Nutrients*, 15(5), 1144. <https://doi.org/10.3390/nu15051144>
- Sadat, A., và cộng sự. (2022). Silkworm pupae: A functional food with health benefits for humans. *Foods*, 11(11), 1632. <https://doi.org/10.3390/foods11111632>
- Saviane, A., Tassoni, L., Naviglio, D., Lupi, D., Savoldelli, S., Bianchi, G., Bondioli, P., Folegatti, L., và Casartelli, M. (2021). Mechanical processing of *Hermetia illucens* larvae and *Bombyx mori* pupae produces oils with antimicrobial activity. *Animals*, 11(3), 783. <https://doi.org/10.3390/ani11030783>

- Srinivas, G., Nidoni, U., Ramachandra, C. T., Ramappa, K. T., và Ashoka, J. (2019). Supercritical fluid extraction of pupae oil from mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8, 4507-4513.
- Susirirut, P., Thitipramote, N., và Chaiwut, P. (2023). Simultaneous extraction of oil and protein from silkworm (*Bombyx mori* L.) pupae and their *in vitro* skin moisturization. *Molecules*, 28(20), 7032. <https://doi.org/10.3390/molecules28207032>
- Tangsanthatkun, J., Peanparkdee, M., Katekhong, W., Harnsilawat, T., Tan, C. P., và Klinkesorn, U. (2022). Application of aqueous saline process to extract silkworm pupae oil (*Bombyx mori*): Process optimization and composition analysis. *Foods*, 11(3), 291. <https://doi.org/10.3390/foods11030291>
- Vi Nhã Trân, và Nguyễn Phúc Huy. (2023). Tách chiết acid béo và làm giàu omega-3 từ hạt chia (*Salvia hispanica* L.). *Tạp chí Khoa học Yersin - Chuyên đề Khoa học Công nghệ*, 14, 31-42.
- Wei, Z. J., Liao, A. M., Zhang, H. X., Liu, J., và Jiang, S. T. (2009). Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of silkworm pupal oil applying the response surface methodology. *Bioresource Technology*, 100(18), 4214-4219. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.04.010>

ENZYME ASSISTED EXTRACTION OF LIPIDS FROM SILKWORM PUPAE

Le Thanh Hai Ha¹, Vu Thi Hong Chinh², Phan Ngoc Nhi³,
Nguyen Thi Thanh Tra³, Vu Kim Thoa¹

Abstract: *This study was conducted to develop an enzymatic process for lipid extraction from silkworm pupae (*Bombyx mori* L.). The extraction efficiencies of water, 1% NaCl solution, and enzyme-assisted methods were investigated. In addition, the effects of processing parameters, including temperature, material-to-water ratio, enzyme concentration, and hydrolysis time, on lipid recovery were evaluated. The results showed that the enzyme-assisted extraction method achieved the highest lipid recovery, reaching 50,5% under intermittent stirring conditions. The optimal hydrolysis conditions were determined to be a temperature of 50°C, a material-to-water ratio of 1:4 (w/v), a lipase concentration of 1,5%, and a hydrolysis time of 90 min. Under these conditions, the lipid recovery yield reached approximately 79,2%. The extracted silkworm pupa oil exhibited a clear straw-yellow color and a characteristic pleasant aroma. The quality indices of the oil were as follows: peroxide value of 1,57 meq/kg, acid value of 4,67 mg KOH/g oil, and iodine value of 116,8 g I₂/100 g oil. These findings demonstrate that enzymatic hydrolysis is an efficient and environmentally friendly approach for silkworm pupa oil extraction, with promising potential for applications in the food and animal feed industries.*

Keywords: *silkworm pupae, *Bombyx mori*, lipid, lipase, enzymatic hydrolysis*

¹ Hanoi Open University, Hanoi, Vietnam

² Vinmec International Hospital, Hanoi, Vietnam

³ Student, Institute of Biological and Food Technology, Hanoi Open University, Hanoi, Vietnam