

TÁCH AXIT BÉO KHÔNG NO ĐA NỐI ĐÔI TỪ DẦU CÁ NGỪ BẰNG PHƯƠNG PHÁP TẠO PHỨC VỚI URE

Đến Tòa soạn 13-11-2006

LẠI MAI HƯƠNG

Khoa Công nghệ Hóa Học, Đại học Bách Khoa Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

Free fatty acids (FFA) from tuna oil were separated by urea complexation. Influences of temperature, FFA to urea ratios and urea to solvent ratios were investigated. The optimal condition to obtained high purity and recovery yield of polyunsaturated fatty acids including eicosaheptaenoic acid and docosapentaenoic acid was at 4°C and the ratios of FFA : urea = 1 : 3 and urea : methanol = 3 : 16.

I - GIỚI THIỆU

Ure là một chất có cấu trúc mạng tinh thể đặc biệt, có khả năng tạo phức với các mạch hydrocarbon thẳng và dài. Tuy nhiên, nếu mạch hydrocarbon không phải là mạch thẳng do có các mạch nhánh hay do sự có mặt của các nối đôi thì khả năng tạo phức với ure trở nên rất khó khăn. Dựa trên khả năng tạo phức với các gốc alkyl no mà ure đã được ứng dụng rất nhiều để phân tách các hỗn hợp khác nhau trong đó có hỗn hợp của các axit béo. Đây là một phương pháp đơn giản, sử dụng dung môi rẻ tiền (metanol hay etanol), và chỉ cần thay đổi hàm lượng urea, lượng dung môi sử dụng hay nhiệt độ kết tinh là có thể điều chỉnh được chất lượng sản phẩm tạo thành. Nhiều tác giả đã sử dụng khả năng tạo phức của ure để phân tách PUFA ra khỏi hỗn hợp các axit béo tự do được lấy từ nhiều nguồn nguyên liệu khác nhau như từ dầu lạnh, dầu "borage", dầu thu được từ vi sinh vật hay dầu cá (Bengtsson et al., 1998, Giménez et al. 1998, Robles Medina et al., 1995). Tuy nhiên điều kiện tối ưu của phương pháp cũng như kết quả mà các tác giả khác nhau đạt được là khác nhau chủ yếu là do sự khác nhau về thành phần các axit béo có mặt trong nguyên liệu ban đầu và do mục tiêu mà các tác giả chọn là khác

nhau. Hầu hết các tác giả khác khi nghiên cứu về vấn đề này đều chọn phương pháp tối ưu hóa sao cho hàm lượng PUFA thu được là cao nhất mà trong nhiều trường hợp chấp nhận một hiệu suất thu hồi không phải là tối ưu.

Trong phần này, khả năng phân tách PUFA, trong đó chủ yếu bao gồm EPA và DHA ra khỏi hỗn hợp các axit béo tự do được lấy từ dầu cá ngừ được nghiên cứu bằng phương pháp tạo phức với urea. Mục đích của nghiên cứu này là nhằm thu được hỗn hợp có hàm lượng PUFA (trong đó có chú trọng tới hàm lượng EPA và DHA) cao nhất với hiệu suất thu hồi chấp nhận được. Thường trong các phương pháp phân tách, độ tinh sạch thu được và hiệu suất thu hồi hay đi ngược chiều nhau có nghĩa là độ tinh sạch càng cao thì hiệu suất thu hồi càng giảm và ngược lại. Do đó khó có thể đạt được cùng lúc cả 2 yêu cầu trên đều tối ưu. Trong phần nghiên cứu này độ tinh sạch của các PUFA thu được có tầm quan trọng lớn hơn so với hiệu suất thu hồi. Tuy nhiên, nếu hiệu suất thu hồi quá thấp thì phương pháp cũng khó có khả năng được ứng dụng trong thực tế. Bởi vậy, để dung hoà cả hai yêu cầu trên, hàm mục tiêu trong nghiên cứu này (y) được chọn là tổng của 2 lần hàm lượng của PUFA trong hỗn hợp thu được cộng với hiệu suất thu hồi PUFA.

Như trên đã đề cập tới, hiệu quả của phương pháp này phụ thuộc vào 3 yếu tố bao gồm nhiệt độ kết tinh, lượng ure và lượng metanol sử dụng. Ba yếu tố này sẽ lần lượt được khảo sát với nguyên liệu là dầu cá ngừ.

II - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Dầu cá được thủy phân thành các axit béo bằng NaOH. Axit béo tự do được hoà tan với ure và methanol theo những tỷ lệ nhất định sau đó được để ở nhiệt độ thấp trong thời gian 18 - 20 giờ. Hỗn hợp 2 pha thu được được ly tâm ở nhiệt độ kết tinh để tách pha. Pha rắn và pha lỏng tạo thành được trích ly bằng hexan để thu hồi các axit béo.

Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ FFA:ure

Tỷ lệ FFA:ure (w/w) được thay đổi từ 1:1 đến 1:4. Tỷ lệ ure:metanol (w/v) được giữ nguyên là 1:4, nhiệt độ kết tinh là 4°C.

Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ ure:metanol

Tỷ lệ ure:metanol (w/v) được thay đổi từ 3:8 đến 3:16. Tỷ lệ FFA:ure (w/w) được giữ nguyên là 1:3, nhiệt độ kết tinh là 4°C.

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ kết tinh là 4°C và 25°C. Tỷ lệ FFA:ure (w/w) được giữ nguyên 1:3. Tỷ lệ ure:metanol (w/v) được giữ nguyên là 3:16.

Các chỉ tiêu theo dõi

- Hiệu suất thu hồi PUFA, DHA, EPA: $H_i(\%) = (\text{khối lượng chất } i \text{ trong pha lỏng} / \text{khối lượng chất } i \text{ trong nguyên liệu trước khi kết tinh}) \times 100$ với $i = \text{PUFA, DHA hay EPA}$

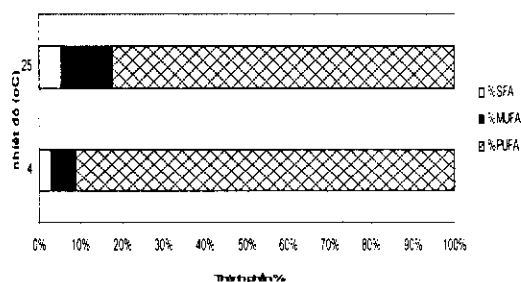
- Thành phần % các axit béo trong pha lỏng: được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí.

III - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

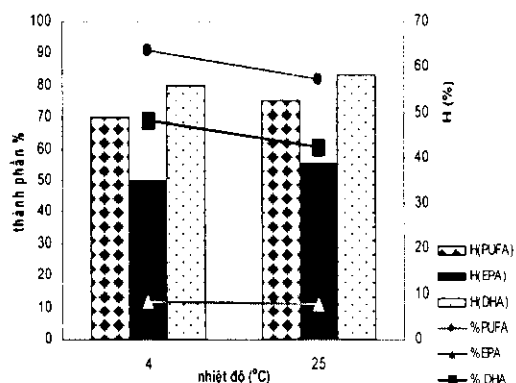
Ảnh hưởng của nhiệt độ kết tinh

Nhiệt độ kết tinh có ảnh hưởng đến độ tinh sạch cũng như hiệu suất thu hồi của chế phẩm thu được. Hơn thế nữa, nó còn ảnh hưởng tới tính kinh tế của quá trình kết tinh. Robles Medina et al. (1995) khảo sát nhiệt độ kết tinh

dao động từ -36°C đến 36°C và nhận thấy 4°C là nhiệt độ tối ưu cho quá trình thu nhận EPA và DHA từ dầu cá tuyết. Tuy nhiên, Giménez et al. (1998) nhận thấy ở nhiệt độ 28°C, quá trình thu nhận EPA và AA từ vi tảo đạt hiệu suất thu hồi cao hơn trong khi độ tinh sạch giảm không đáng kể. Ngược lại, Hayes et al. (1998) lại cho rằng nhiệt độ tạo phức của ure không nên cao hơn 25°C. Phần nghiên cứu này sẽ khảo sát 2 nhiệt độ kết tinh là 4°C và 25°C. Kết quả được trình bày trên hình 1, 2 và 3.



Hình 1: thành phần % của SFA, MUFA và PUFA trong phần lỏng theo ảnh hưởng của nhiệt độ tạo phức



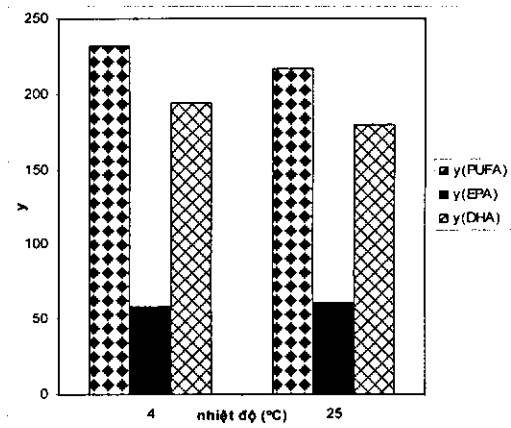
Hình 2: Thành phần % và hiệu suất thu hồi của PUFA, EPA và DHA trong phần lỏng theo nhiệt độ tạo phức

Hình 1 cho thấy hàm lượng PUFA trong phần không tạo phức tăng khi nhiệt độ giảm. Ngược lại, %SFA và MUFA tăng khi nhiệt độ tăng. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả của các tác giả khác (Robles Medina et al. 1995, Hayes et al., 1998) và có thể được giải thích theo Robles Medina et al. (1995) khi cho rằng

tại 4°C, ure tạo phức với các SFA và MUFA bền vững nhất. ở nhiệt độ cao hơn, các phức này kém bền vững hơn dẫn đến hàm lượng SFA và MUFA trong phần không tạp phức tăng, %PUFA giảm.

Tương tự như PUFA, độ tinh sạch của DHA đều giảm nhưng hiệu suất thu hồi thì tăng khi tăng nhiệt độ tạo phức. Đối với EPA, nhiệt độ 25°C có hiệu suất thu hồi cao hơn nhưng độ tinh sạch không ít hơn so với nhiệt độ 4°C. Điều đó cho thấy nhiệt độ 4°C thích hợp cho việc làm giàu DHA và tổng PUFA, tuy nhiên EPA cần nhiệt độ là 25°C, tại đó khả năng làm giàu EPA sẽ cao hơn. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận bởi Robles Medina et al. (1995) và Giménez et al. (1998). Theo họ, EPA có khả năng tạo phức với ure ở 4°C, do đó tại nhiệt độ này, khả năng làm giàu EPA trong phần lỏng không cao. Ngược lại, tại 28°C khả năng tạo phức của EPA giảm xuống, do đó nó có mặt trong phần lỏng nhiều hơn.

Kết quả trên hình 2 cũng cho thấy, hiệu suất thu hồi và độ tinh sạch của DHA và tổng PUFA đều đi ngược chiều nhau khi thay đổi nhiệt độ tạo phức. Điều đó cho thấy không thể tối ưu cùng lúc cả 2 chỉ tiêu trên. Do độ tinh sạch có ý nghĩa quan trọng hơn so với hiệu suất thu hồi, ở đây hàm mục tiêu sẽ được chọn là $y=2 \times \text{thành phần \%} + \text{hiệu suất thu hồi}$. Sự thay đổi của y theo nhiệt độ được biểu diễn trên hình 3.



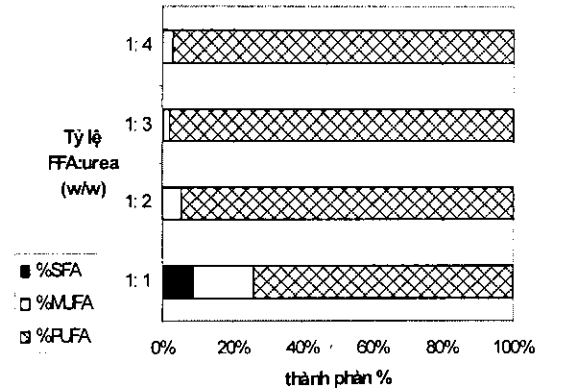
Hình 3: hàm mục tiêu $y=2 \times \text{thành phần \%} + \text{hiệu suất thu hồi}$ theo nhiệt độ tạo phức

Từ đồ thị trên hình 3 có thể thấy, đối với

EPA, nhiệt độ 25°C cho y cao hơn nhưng sự khác biệt không lớn lắm khi so sánh với 4°C. Tuy nhiên đối với DHA và tổng PUFA, nhiệt độ 4°C đạt được giá trị y cao hơn nhiều so với ở 25°C. Bởi DHA là một PUFA chính trong dầu cá ngừ và cũng có một giá trị kinh tế đáng kể hiện nay, do đó ở đây sẽ chọn điều kiện sao cho giá trị y_{DHA} là lớn nhất. Với tiêu chí đó, nhiệt độ 4°C là nhiệt độ thích hợp hơn và sẽ được sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo.

Ảnh hưởng của tỷ lệ FFA:ure

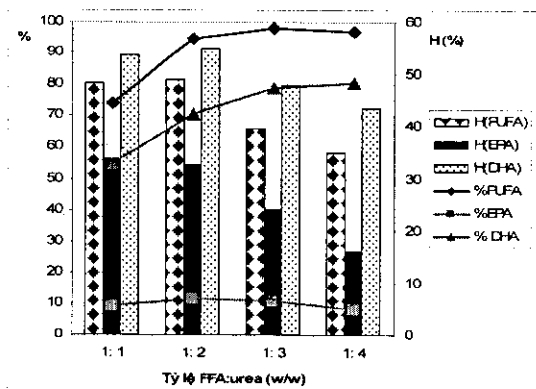
Trong phương pháp tạo phức với ure, tỷ lệ giữa axit béo với ure là một yếu tố quan trọng quyết định tới độ tinh sạch thu được và hiệu suất thu hồi của PUFA mong muốn. Nếu tỷ lệ này quá lớn thì ure sẽ không đủ khả năng tạo phức với tất cả các axit béo no và ít nối đôi, do đó độ tinh sạch thu được sẽ không cao. Tuy nhiên nếu tỷ lệ này quá nhỏ thì ure sẽ có khả năng tạo phức với cả một số PUFA nhiều nối đôi do đó sẽ làm cho hiệu suất thu hồi PUFA thấp. Trong thí nghiệm này tỷ lệ FFA:ure được thay đổi từ 1:1 tới 1:4. Tỷ lệ ure:dung môi được giữ không đổi là 1:4 và nhiệt độ kết tinh là 4°C. Kết quả được thể hiện trên hình 4 và 5.



Hình 4: Thành phần % của SFA, MUFA và PUFA trong phần lỏng theo ảnh hưởng của tỷ lệ FFA:ure (w/w)

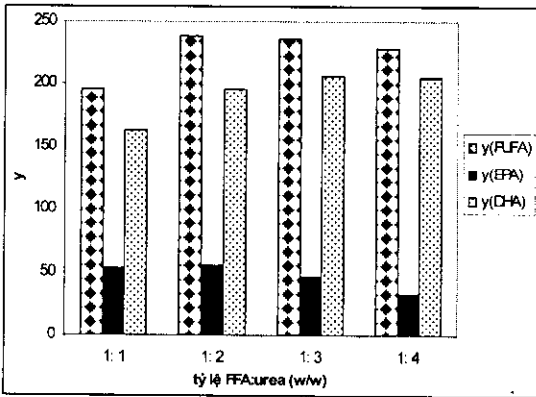
Hình 4 cho thấy % của SFA và MUFA giảm khi giảm tỷ lệ FFA:ure. Tại tỷ lệ 1:3, và 1:4 trong phần lỏng đã không còn SFA. %PUFA tăng khi giảm tỷ lệ FFA:ure và đạt giá trị cực đại tại tỷ lệ 1:3. Khi giảm thêm tỷ lệ này, %PUFA không tăng thêm nữa. Tương tự, %DHA cũng tăng khi tỷ lệ FFA:ure giảm từ 1:1

tới 1:4, tuy nhiên giữa tỷ lệ 1:3 và 1:4 không có sự khác nhau đáng kể (hình 5). %EPA đạt cực đại tại tỷ lệ 1:3 và bắt đầu giảm ở tỷ lệ 1:4, chứng tỏ, nếu tăng thêm lượng ure thì EPA sẽ có khuynh hướng tạo phức với ure rõ rệt làm thành phần % của nó giảm. Hiệu suất thu hồi của EPA, DHA và PUFA tổng đều có xu hướng giảm khi giảm tỷ lệ FFA:ure chứng tỏ lượng ure sử dụng càng nhiều thì càng làm tăng khả năng tạo phức với các axit béo (kể cả các PUFA). Khi làm giàu n-3PUFA từ dầu cá tuyết, Robles Medina et al. (1995) thu được kết quả hoàn toàn tương tự. Nhóm tác giả này giải thích rằng ure tạo phức với FFA theo tỷ lệ 3:1 (w/w). Khi tỷ lệ này tăng lên ure bắt đầu có khả năng tạo phức với tất cả các axit béo (không ngoại trừ PUFA).



Hình 5: Thành phần % và hiệu suất thu hồi của PUFA, EPA và DHA trong phần lỏng theo tỷ lệ FFA:ure

Hàm mục tiêu y của PUFA, EPA và DHA được thể hiện trong hình 6.

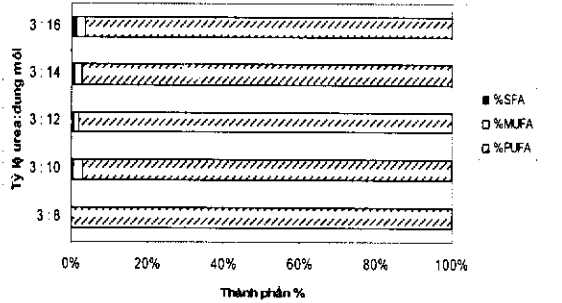


Hình 6: Hàm mục tiêu $y=2*\text{thành phần \%} + \text{hiệu suất thu hồi}$ theo tỷ lệ FFA:ure

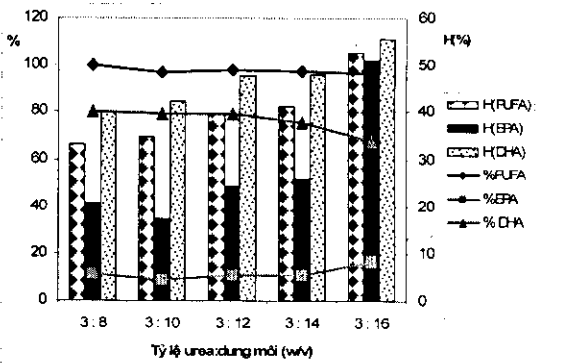
Giá trị y_{DHA} đạt cực đại tại tỷ lệ FFA:ure = 1:3, tuy nhiên giá trị y_{EPA} đạt cực đại tại tỷ lệ 1:2. Do DHA chiếm ưu thế hơn so với EPA nên ở đây sẽ chọn tỷ lệ 1:3 là tỷ lệ tối ưu. Tại tỷ lệ này %DHA tăng từ 32% lên 79% tức là tăng 2,46 lần trong khi EPA tăng từ 8,9% lên 10,8% tức là chỉ tăng 1,2 lần.

Ảnh hưởng của lượng dung môi

Tỷ lệ urea: dung môi cũng có khả năng ảnh hưởng tới khả năng làm giàu PUFA của phương pháp. Trong thí nghiệm này tỷ lệ ure:dung môi được thay đổi từ 3:8 tới 3:16. Tỷ lệ FFA:ure được giữ không đổi là 1:3 và nhiệt độ kết tinh là 4°C. Kết quả được thể hiện trên hình 7 và 8.



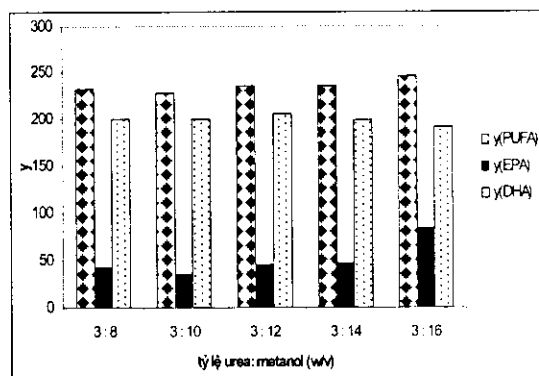
Hình 7: Thành phần % SFA, MUFA và PUFA trong phần lỏng theo tỷ lệ ure:metanol



Hình 8: Thành phần % và hiệu suất thu hồi của PUFA, EPA và DHA trong phần lỏng theo tỷ lệ ure:metanol

Kết quả ở hình 7 cho thấy % SFA và MUFA tăng khi tăng lượng metanol sử dụng. ở tỷ lệ ure:metanol là 3:8, cả SFA và MUFA đều không có mặt trong phần lỏng, chứng tỏ chúng đã bị

tạo phức hoàn toàn với ure. %PUFA giảm nhẹ khi tăng hàm lượng metanol và dao động từ 100%-96,5%, chứng tỏ, với phương pháp này có khả năng loại gần như hoàn toàn SFA và MUFA. %DHA trong phân lỏng bắt đầu giảm khi giảm tỷ lệ ure:dung môi tới 3:12 (hình 8). Nếu giảm thêm tỷ lệ này, %DHA sẽ giảm đáng kể. %EPA tăng nhẹ khi tăng tỷ lệ ure:metanol, có thể do %DHA giảm đã dẫn đến sự tăng này. Hiệu suất thu hồi của cả EPA, DHA và PUFA tổng đều tăng khi tăng lượng metanol sử dụng. Những kết quả trên chứng tỏ khi sử dụng nhiều metanol sẽ có khả năng rửa phân lỏng khỏi phần rắn (là phần tạo phức với ure) tốt hơn, tuy nhiên phức tạo thành có thể kém bền hơn, do đó sẽ giải phóng một phần SFA và MUFA vào phân lỏng, làm cho độ tinh sạch của PUFA trong pha lỏng giảm. Khi xét tới hàm mục tiêu y được biểu diễn trên hình 8, có thể nhận thấy y_{PUFA} và y_{EPA} lớn nhất khi tỷ lệ ure:dung môi là 3:16, trong khi y_{DHA} lớn nhất khi tỷ lệ đó là 3:12. Trong trường hợp này, có thể chọn tỷ lệ 3: 12 hay 3: 16 tùy thuộc vào yêu cầu về sản phẩm. Những tác giả khác (Robles Medina et al., 1995 và Giménez et al., 1998) đều chọn tỷ lệ urea:metanol thấp để đạt được độ tinh sạch của các PUFAs cao nhất. Với những kết quả trong nghiên cứu này, ở tỷ lệ urea:metanol là 3:12 có thể thu được trong phân lỏng 79,1% DHA, 10,9% EPA trong tổng số 98,1% PUFA tăng tương ứng so với hỗn hợp trước khi tạo phức là 2,4; 1,2 và 2 lần. Hiệu suất thu hồi của DHA, EPA và PUFA lần lượt là 47,8; 24,2 và 39,5. ở tỷ lệ 3:16 có thể đạt được hiệu suất thu hồi của DHA, EPA và PUFA lần lượt là 55,5%, 51,1% và 52,7% với độ tinh sạch tương ứng là 67,8%; 16,9% và 96,5%, gấp 2,1; 1,9 và 2 lần so với mẫu chưa xử lý.



Hình 9: Hàm mục tiêu $y=2$ *thành phần % + hiệu suất thu hồi theo tỷ lệ ure:metanol

IV - KẾT LUẬN

Điều kiện tối ưu để tách PUFA bằng phương pháp tạo phức với ure là: Dầu cá ngừ: tỷ lệ FFA: ure = 1:3, tỷ lệ ure:metanol = 3:16, nhiệt độ tạo phức = 4°C.

Lời cảm ơn: Cảm ơn KS. Nguyễn Thị Thanh Thủy đã giúp đỡ trong quá trình thực hiện các thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Giménez Giménez, MJ. Ibáñez González, A. Robles Medina, E. Molina Grima, S. García Salas and L. Esteban Cerdán. *Bioseparation*, 7, 89 - 99 (1998).
2. D. G. Hayes, Y. Bengtsson, J. M. Van Alstine and F. J. Setterwal. *Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 1403 - 1409 (1998).
3. A. Robles Medina, A. Gimnez Gimnez, F. Garcia Camacho, JA. Sanchez Perez, E. Molina Grima, A. Contreras Gimez. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72, 575 - 583 (1995).