

TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN TÁCH VÀ XÁC ĐỊNH CÁC AXIT BÉO TRONG MỠ CÁ BASA VIỆT NAM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ ION HÓA NGỌN LỬA

Võ Thị Việt Dung⁽¹⁾, Nguyễn Xuân Trung⁽²⁾, Lưu Văn Bôi⁽²⁾,
Yasuaki Maeda⁽³⁾

(1) Trường Đại học Phạm Văn Đồng, (2) Trường Đại học Khoa học
Tự nhiên Hà Nội, (3) Trường Đại học Osaka Prefecture (Nhật Bản)

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, sử dụng phương pháp sắc ký khí ion hóa ngọn lửa (GC/FID) để tách và xác định các axit béo có trong mỡ cá basa Việt Nam. Ảnh hưởng của chương trình nhiệt độ lò cột (nhiệt độ ban đầu, nhiệt độ tăng nhiệt của cột tách), tốc độ pha động và tỷ lệ bơm chia dòng đến khả năng tách các methyl este axit béo (FAME) và độ lặp lại của tỷ lệ diện tích pic FAME/IS đã được nghiên cứu. Mô hình hóa thực nghiệm đối với GC/FID tìm được điều kiện tối ưu: nhiệt độ ban đầu của cột tách: 140^oC, tốc độ tăng nhiệt của cột tách: 2.4^oC/phút; tốc độ pha động: 20.5cm/s và tỷ lệ bơm chia dòng là 30:1. Kết quả phân tích các axit béo có trong mỡ cá basa Việt Nam bao gồm 25 axit béo trong đó hàm lượng axit béo no, axit béo không no một nối đôi và axit béo không no nhiều nối đôi chiếm lần lượt là 42,84%, 38,44% và 18,48%.

Từ khóa: hồ hình, hóa thực nghiệm, tối ưu hóa,
mỡ cá, UFLC, GC/FID, FAME

1. MỞ ĐẦU

Nguyên nhân chủ yếu gây ra sự biến đổi khí hậu toàn cầu là sự phát thải khí CO₂ do sử dụng nhiên liệu hóa thạch. Vì vậy phát triển các nguồn năng lượng thay thế năng lượng hóa thạch có ý nghĩa chiến lược đối với sự tồn tại và phát triển bền vững của mọi quốc gia. Biodiesel được sản xuất từ dầu thực vật và mỡ động vật là một trong những lựa chọn tốt nhất để thay thế diesel dầu mỏ. Một mặt, biodiesel là nguồn nhiên liệu tái tạo được sẽ góp phần đảm bảo an ninh năng lượng. Mặt khác, khí CO₂ thải ra từ các động cơ sử dụng biodiesel tham gia vào vòng tuần

hoàn sinh trưởng của thực vật nên không làm tăng hiệu ứng nhà kính.

Hiện nay ở Việt Nam nguyên liệu sản xuất biodiesel có ưu thế hơn cả là mỡ cá basa do đây là sản phẩm phụ có sẵn, rẻ tiền, sản lượng tăng nhanh trong những năm gần đây do tình hình xuất khẩu phile cá phát triển mạnh, đồng thời tận dụng được nguồn phế thải, hạn chế gây ô nhiễm môi trường.

Để sản xuất biodiesel, hàm lượng axit béo no và không no có ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng nhiên liệu. Nếu hàm lượng axit béo no cao, diesel sinh học sản xuất ra có nhiệt độ bắt cháy và nhiệt độ đóng rắn cao. Để sử dụng

nhiên liệu này cho động cơ đốt trong ở các vùng lạnh, cần phải có phụ gia hạ nhiệt độ đông đặc. Ngược lại nếu hàm lượng axit béo không no trong mỡ cá cao, nhiên liệu thu được có nhiệt độ đông đặc thấp, thuận lợi hơn cho động cơ [3-5]. Do tầm quan trọng của nguyên liệu đầu vào là mỡ cá basa đối với sản xuất biodiesel, việc xác định chính xác thành phần axit béo trong mỡ cá có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

Đã có nhiều công trình nghiên cứu tìm điều kiện để tách, xác định thành phần axit béo trong mỡ cá basa nhưng chủ yếu tập trung theo hướng nghiên cứu tối ưu luân phiên từng điều kiện. Mục tiêu của nghiên cứu này là tối ưu hóa đồng thời các yếu tố khảo sát, đánh giá mức độ ảnh hưởng của các yếu tố và tìm điều kiện tối ưu cho quá trình tách, xác định thành phần axit béo trong mỡ cá basa bằng phương pháp sắc ký khí ion hóa ngọn lửa (GC/FID). Chúng tôi sử dụng phương pháp mặt mục tiêu theo mô hình hồi quy bậc hai tâm trực giao với sự hỗ trợ của phần mềm Modde 5.0 để thực hiện mục tiêu nêu trên.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất

Mỡ cá basa (Công ty cổ phần xuất nhập khẩu thủy sản Agifish An Giang, Việt Nam). Metanol, axeton, axetonitril, diclometan (Merck, Đức). Kalihiđroxit, axit photphoric, natri sunfat khan (Trung Quốc). Metanol công nghiệp 90% (Malaysia). Chất chuẩn hỗn hợp 37 metyl este axit béo (FAME) (Supelco, Mỹ). Chất nội chuẩn (IS) n - hexadecan (Sigma - Aldrich, Mỹ).

2.2. Thiết bị

Máy sắc ký lỏng UFLC của hãng Shimadzu (Nhật), detector chỉ số khúc xạ RID-10A, hệ sắc ký lỏng: LC-20AD, degasser: DGU-20A₃, lò cột: CTO-20A, cột sắc ký: Cadenzal CD-C18 (250 mm × 4,6 mm ID × 3 μm) của Imtakt (Mỹ). Máy sắc ký khí Shimadzu GC-2010 (Nhật), detector ion hóa ngọn lửa (FID), cột mao quản phân cực mạnh SPTM-2560 (100m × 0,25mm ID × 0,2 μm) của Supelco (Mỹ). Máy khuấy từ gia nhiệt Velp 1200 rmp (Italia), lò vi sóng Sanyo 1200W (Nhật), bơm chân không IKA (Đức), máy rung siêu âm Telsonic 750W (Thụy Sĩ),...

2.3. Xác định chỉ số axit béo tự do và chuyển hóa mỡ cá basa thành metyl este axit béo

Theo quy trình xác định chỉ số axit béo tự do trong dầu mỡ động thực vật ở công trình nghiên cứu [7], chúng tôi xác định phần trăm axit béo tự do có trong mỡ cá basa là $1,26\% < 2,5\%$, thích hợp tiến hành chuyển hóa thành FAME bằng phương pháp chuyển vị transester hóa xúc tác kiềm [7].

Quy trình chuyển hóa mỡ cá basa thành FAME qua phản ứng chuyển vị transester hóa xúc tác kiềm như [7]. Mức độ chuyển hóa được xác định trên hệ thống UFLC. Kết quả phân tích cho thấy độ chuyển hóa mỡ cá basa thành FAME trên 99%.

2.4. Khảo sát điều kiện phân tích sắc ký khí

Với mục đích tách và xác định các FAME chuyển hóa từ mỡ cá basa, bốn điều kiện tách sắc ký khí đã được khảo sát bao gồm: Tốc độ pha động (tốc độ

khí mang), nhiệt độ ban đầu của cột tách, tốc độ tăng nhiệt của cột tách, tỉ lệ bơm chia dòng. Các điều kiện phân tích của GC-FID được chỉ ra ở bảng 1.

Bảng 1. Các điều kiện phân tích sắc ký khí

Thông số	Điều kiện
Nhiệt độ buồng bơm	260 (°C)
Thể tích bơm mẫu	1 μ L
Cột tách	Cột mao quản SP TM -2560 (100 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,2 μ m)
Detector	FID, nhiệt độ: 260°C, tốc độ khí H ₂ : 40 mL/phút, tốc độ không khí: 400 mL/phút.
Tỉ lệ bơm chia dòng	10:1; 50:1; 100:1; 150:1; 200:1
Tốc độ khí mang He	18; 20; 22; 24; 25(cm/giây)
Chương trình nhiệt độ cột tách	– Nhiệt độ đầu 60°C (80°C, 100°C, 120°C) giữ 3 phút. – Tăng 10°C/phút lên 140°C, giữ 5 phút. – Tăng 2; 2.5; 3; 3.5; 4°C/phút lên 240°C. – Nhiệt độ đầu 140°C, giữ 5 phút. – Tăng 2; 2.5; 3; 3.5; 4°C/phút lên 240°C.

*Ghi chú: các thông số in nghiêng là các thông số khảo sát.

2.5. Thiết kế mô hình thực nghiệm

Để nghiên cứu ảnh hưởng đồng thời của bốn nhân tố khảo sát của phương pháp GC/FID: tốc độ pha động, tỉ lệ bơm chia dòng, nhiệt độ ban đầu và tốc độ tăng nhiệt của cột tách tới hai hàm mục tiêu là khả năng tách các FAME và độ lệch chuẩn

tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS cũng như tìm điều kiện tối ưu cho quá trình tách và xác định các FAME, chúng tôi chọn mô hình thực nghiệm tối ưu hóa bậc 2 các nhân tố (D-Optimal quadratic), mức cơ sở và khoảng biến thiên của các nhân tố được cho ở bảng 2.

Bảng 2. Phạm vi biến đổi các nhân tố độc lập của mô hình thực nghiệm

Nhân tố	Nhân tố mã hóa	Các mức			Khoảng biến thiên (λ)
		Mức trên (+1)	Mức gốc (0)	Mức dưới (-1)	
Nhiệt độ ban đầu của cột tách (x_1 , °C)	X_1	140	100	60	40
Tốc độ pha động (x_2 , cm/giây)	X_2	25	21.5	18	3.5
Tỉ lệ bơm chia dòng (x_3)	X_3	200	105	10	95
Tốc độ tăng nhiệt của cột tách (x_4 , °C/phút)	X_4	4	3	2	1

$$\text{Với } x_i = \frac{X_i - X_i^0}{\lambda_i}.$$

Trong đó: X_i : các giá trị dạng thực của nhân tố khảo sát, X_i^0 : mức gốc của X_i , λ_i : khoảng biến thiên của các nhân tố khảo sát X_i . Các hàm mục tiêu y được tính theo phương trình (1) và phương trình (2):

$$y_1 = \frac{2(t_{RB} - t_{RA})}{W_A + W_B} \quad (1)$$

$$y_2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (a_i - \bar{a})^2}{N-1}} \times 100\% \quad (2)$$

Trong đó y_1 là khả năng tách các FAME (độ phân giải R), t_{RA} , t_{RB} , W_A , W_B là thời gian lưu và độ rộng pic của 2 cấu tử A và B; y_2 là độ lệch chuẩn tương đối (RSD %) của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS, a_i , $\bar{a}$ là tỉ lệ diện tích pic FAME_{*i*}/IS và giá trị trung bình của nó,

N là số lần thí nghiệm lặp lại, $N-1 = f$ là số bậc tự do. Ở đây mục tiêu y_1 chọn giá trị nhỏ nhất, y_2 chọn giá trị lớn nhất.

Quan hệ giữa hàm mục tiêu và các nhân tố khảo sát được mô tả theo phương trình bậc hai: $y = b_0x_0 + b_1x_1 + \dots + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + \dots + b_{11}(x_1^2 - \varphi) + b_{22}(x_2^2 - \varphi) + \dots$. Với tham số hồi quy φ và cánh tay đòn sao d được tính sẵn cho mô hình hồi quy bậc hai tâm trục giao khi $n = 4$ là: $\varphi = 0,8000$, $d = 1,4142$.

2.6. Phân tích thống kê

Quy hoạch hóa thực nghiệm theo mô hình tối ưu bậc 2, đánh giá tính có nghĩa của các hệ số hồi quy theo chuẩn Student, đánh giá tính phù hợp của phương trình hồi quy theo chuẩn Fisher [3]. Phần mềm Modde 5.0 được sử dụng để tính toán các số liệu trong quy hoạch và phân tích phương sai, phân tích hồi quy các kết quả thực nghiệm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Mẫu mỡ cá basa sau khi đã chuyển hóa hoàn toàn thành FAME, chúng tôi nghiên cứu tìm điều kiện tối ưu của GC/FID để phân tích thành phần sản phẩm chuyển hóa.

3.1. Tối ưu hóa điều kiện GC/FID theo phương pháp đơn biến

Trước hết chúng tôi khảo sát, so sánh khả năng tách các FAME và độ lặp lại về tỉ lệ diện tích pic các FAME/IS để xác định khoảng biến thiên các điều kiện phân tích của GC/FID nhằm tách xác định các FAME (bảng 1). Kết quả khảo sát đơn biến tìm khoảng biến thiên các điều kiện phân tích GC/FID thu được: tốc độ pha động (tốc độ khí mang) He: 18 – 25 cm/s; tốc độ tăng nhiệt của cột tách: 2 – 4⁰C/phút; nhiệt độ ban đầu của cột tách: 60 – 140⁰C; tỉ lệ bơm chia dòng: 10:1 – 200:1.

3.2. Tối ưu hóa điều kiện GC/FID theo phương pháp đa biến

Xây dựng mô hình hồi quy bậc hai tâm trục giao

Sử dụng mô hình hồi quy bậc hai tâm trục giao để xây dựng phương trình hồi quy (PTHQ) và đánh giá ảnh hưởng đồng thời của 4 nhân tố khảo sát đến khả năng tách các FAME và độ lệch chuẩn tương đối (RSD%) của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS. Kết quả thực nghiệm được trình bày trên bảng 3.

Bảng 3. Kết quả thực nghiệm tìm điều kiện GC/FID tách và xác định các FAME theo mô hình hồi quy bậc hai tâm trục giao

TT	Biến mã hóa				Biến số thực				Kết quả	
	x_1	x_2	x_3	x_4	x_1	x_2	x_3	x_4	y_1	y_2
1	-1	-1	-1	-1	18	60	2	10	0,59	1,76
2	1	-1	-1	-1	25	60	2	10	0,6	1,88
3	-1	1	-1	-1	18	140	2	10	1,02	1,75
4	1	1	-1	-1	25	140	2	10	0,21	1,79
5	-1	-1	1	-1	18	60	4	10	0	1,92
6	1	-1	1	-1	25	60	4	10	0	1,79
7	-1	1	1	-1	18	140	4	10	0,43	1,69
8	1	1	1	-1	25	140	4	10	0	1,75
9	-1	-1	-1	1	18	60	2	200	0,62	3,85
10	1	-1	-1	1	25	60	2	200	0,17	3,92
11	-1	1	-1	1	18	140	2	200	1,09	3,82

12	1	1	-1	1	25	140	2	200	0,24	3,88
13	-1	-1	1	1	18	60	4	200	0	3,84
14	1	-1	1	1	25	60	4	200	0	3,87
15	-1	1	1	1	18	140	4	200	0,47	3,84
16	1	1	1	1	25	140	4	200	0	3,92
17	-1,4142	0	0	0	16,6	100	3	105	0,78	3,23
18	1,4142	0	0	0	26,4	100	3	105	0,15	3,18
19	0	-1,4142	0	0	21,5	43,4	3	105	0,68	3,2
20	0	1,4142	0	0	21,5	156,6	3	105	0,99	3,23
21	0	0	-1,4142	0	21,5	100	1,6	105	0,66	3,16
22	0	0	1,4142	0	21,5	100	4,4	105	0	3,19
23	0	0	0	-1,4142	21,5	100	3	-29,3	-	-
24	0	0	0	1,4142	21,5	100	3	239,3	0,86	4,07
25 ₁	0	0	0	0	21,5	100	3	105	0,96	3,24
25 ₂	0	0	0	0	21,5	100	3	105	0,96	3,19
25 ₃	0	0	0	0	21,5	100	3	105	0,97	3,23

Ở đây, cần tiến hành $N = 27$ thí nghiệm để xác định các hệ số trong PTHQ. Thí nghiệm thứ 25 là thí nghiệm ở tâm được tiến hành 3 lần. Phương sai của các thí nghiệm được xác định theo thí nghiệm bổ sung ở tâm là $S_{0(R)}^2 = 7,43 \cdot 10^{-5}$, $S_{0(RSD)}^2 = 7 \cdot 10^{-5}$

⁴. Từ kết quả thí nghiệm, sử dụng phần mềm Modde 5.0 loại bỏ các hệ số hồi quy không phù hợp, tức là các hệ số có $t_{i_{TN}} = |b_i|/S_{b_i} < t_p(f)$ hay $t_{i_{TN}} < t_{(0,05)}(2) = 4,3$. Kết quả được chỉ ra trên bảng 4.

Bảng 4. Kết quả phân tích ảnh hưởng của các nhân tố khảo sát đến khả năng tách các FAME (I) và độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS (II) của GC/FID theo mô hình hồi quy bậc hai tâm trực giao

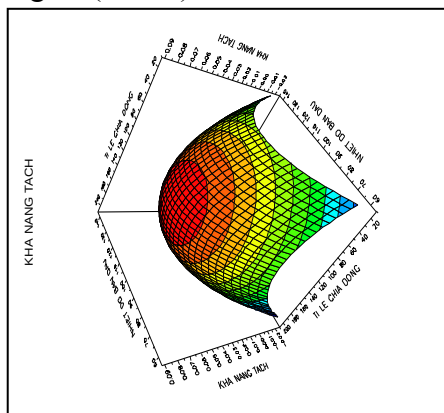
Y	Hệ số hồi quy		Phương sai mẫu		Chuẩn t		Độ tin cậy (±)	
	I	II	I	II	I	II	I	II
b ₀	0,95	3,24	1,42.10 ⁻¹⁶	8,01.10 ⁻¹⁹	8,0.10 ⁷	3,6.10 ⁹	0,03	0,06
x ₁	-0,22	0,01	3,89.10 ⁻¹³	0,30	3,7.10 ⁵	0,018	0,01	0,03
x ₂	0,12	-0,02	2,84.10 ⁻¹⁰	0,17	7,0.10 ³	0,049	0,01	0,03
x ₃	-0,21	6,00.10⁻⁴	6,10.10 ⁻¹³	0,96	2,7.10 ⁵	6,1.10⁻⁴	0,01	0,03
x ₄	0,01	1,04	0,12	1,45.10 ⁻¹⁶	0,024	8,6.10 ⁷	0,01	0,03
x ₁ .x ₁	-0,24	-0,02	2,36.10 ⁻¹¹	0,29	4,9.10 ⁴	0,037	0,02	0,04
x ₂ .x ₂	-0,05	-0,02	8,71.10 ⁻⁵	0,41	5,7	0,031	0,02	0,04
x ₃ .x ₃	-0,31	-0,04	1,50.10 ⁻¹²	0,08	2,5.10 ⁵	0,14	0,02	0,04
x ₄ .x ₄	-0,05	-0,33	1,19.10 ⁻⁵	1,15.10 ⁻⁸	13	3,1.10 ⁻³	0,02	0,05
x ₁ .x ₂	-0,11	0,01	3,17.10 ⁻⁹	0,49	1,9.10 ³	0,014	0,01	0,03
x ₁ .x ₃	0,10	-0,02	3,99.10 ⁻⁹	0,26	1,6.10 ³	0,039	0,01	0,03
x ₁ .x ₄	-0,01	0,01	0,30	0,49	0,013	0,014	0,01	0,03
x ₂ .x ₃	-0,01	3,10.10⁻³	0,20	0,82	0,02	3,4.10⁻³	0,01	0,03
x ₂ .x ₄	0,01	0,02	0,38	0,13	9,7.10⁻³	0,056	0,01	0,03
x ₃ .x ₄	-0,01	1,90.10⁻³	0,31	0,89	0,013	2,0.10⁻³	0,01	0,03
N = 26			R ² _I = 0,9983		RSD _I = 0,025		P̄ = 0,95	
			R ² _{II} = 0,9984		RSD _{II} = 0,053			

*Ghi chú: Những hệ số in nghiêng, đậm là hệ số không có ý nghĩa trong PTHQ.

Những kết quả thu được ở bảng 4 cho thấy có ảnh hưởng bậc nhất tới khả năng tách các FAME - y_1 là tốc độ pha

động x_1 (tiêu cực), nhiệt độ ban đầu x_2 (tích cực) và tốc độ tăng nhiệt của cột tách x_3 (tiêu cực), còn tỉ lệ bơm chia

dòng x_4 thì ảnh hưởng không đáng kể. Ngược lại tỉ lệ bơm chia dòng lại là nhân tố bậc nhất ảnh hưởng chủ yếu (tích cực) đến độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS - y_2 , ba nhân tố còn lại thì ít ảnh hưởng. Khả năng tách các FAME chịu ảnh hưởng tiêu cực ở bậc hai của cả bốn nhân tố khảo sát và ảnh hưởng đồng thời của tốc độ pha động và nhiệt độ ban đầu của cột tách, x_1x_2 (tiêu cực), tốc độ pha động và tốc độ tăng nhiệt của cột tách, x_1x_3 (tích cực). Trong khi đó độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS chỉ chịu ảnh hưởng bậc hai của tỉ lệ bơm chia dòng, x_4^2 (tiêu cực), ảnh hưởng bậc hai và ảnh hưởng đồng thời của các nhân tố khác là không đáng kể (hình 1).



Hình 1. Sự biến thiên khả năng tách các FAME của GC/FID theo nhiệt độ ban đầu của cột tách ($60\text{--}140^\circ\text{C}$) và tỉ lệ bơm chia dòng ($10:1\text{--}200:1$) khi cố định tốc độ pha động (25 cm/s) và tốc độ tăng nhiệt của cột tách (4°C/phút).

Từ kết quả thu được trên bảng 4, sau khi loại những nhân tố không phù hợp, có thể viết được PTHQ dạng mã hóa mô tả sự phụ thuộc của y_1 , y_2 vào các nhân tố x_i như sau: $y_1 = 0,95 - 0,22x_1 + 0,12x_2 - 0,21x_3 - 0,11x_1x_2 +$

$$0,10x_1x_3 - 0,24(x_1^2 - 0,800) - 0,05(x_2^2 - 0,800) - 0,31(x_3^2 - 0,800) - 0,05(x_4^2 - 0,800) \quad (3); \quad y_2 = 3,24 + 1,04x_4 - 0,33(x_4^2 - 0,800) \quad (4).$$

Sử dụng chuẩn Fisher để kiểm tra sự phù hợp của mô hình:

$$F_{\text{mô hình I}} = \frac{S_{\text{phù hợp I}}^2}{S_{0_I}^2} =$$

$$\frac{4,53.10^{-4}}{7,43.10^{-5}} = 6,09 < F_{\text{bảng}} = F_{0,95}(15, 2) = 19,43.$$

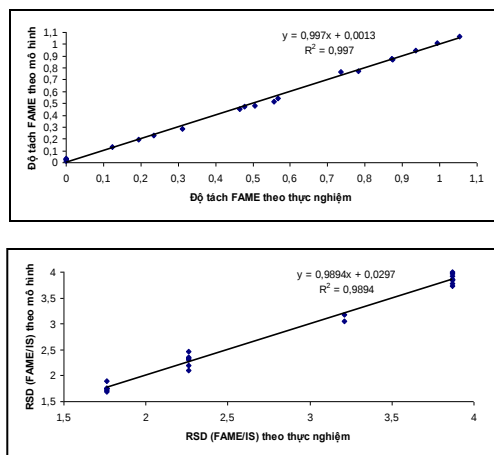
$$F_{\text{mô hình II}} = \frac{S_{\text{phù hợp II}}^2}{S_{0_{II}}^2} =$$

$$\frac{1,33.10^{-3}}{7.10^{-4}} = 1,91 < F_{\text{bảng}} = F_{0,95}(23, 2) = 19,45.$$

$F_{\text{mô hình}} < F_{\text{bảng}}$: mô hình thống kê mô tả đúng thực nghiệm.

Do đó mô hình toán học mô tả quan hệ giữa khả năng tách các FAME và độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS theo các biến thực: $Y_1 = -8,67 + 0,76X_1 + 0,03X_2 + 0,99X_3 + 0,01.10^{-1}X_4 - 0,75.10^{-3}X_1X_2 + 0,03X_1X_3 - 0,02X_1^2 - 0,33.10^{-4}X_2^2 - 0,31X_3^2 - 0,05.10^{-4}X_4^2 \quad (5); \quad Y_2 = 1,95 + 0,02X_4 - 3,65.10^{-5}X_4^2 \quad (6).$

Hai PTHQ ở trên phản ánh khá chính xác mô hình thực nghiệm, điều này được khẳng định qua các giá trị độ lệch chuẩn R^2 của mô hình (bảng 4). Mô hình có thể dự đoán khả năng tách các FAME và độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS với độ chính xác cao, tương ứng là 99,85% và 99,47%, giữa giá trị thu được từ mô hình dự đoán và giá trị thực nghiệm chỉ có một sự sai khác nhỏ (hình 2).



Hình 2. Tương quan giữa giá trị thực nghiệm khả năng tách FAME (trên), độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS (dưới) và giá trị dự đoán từ mô hình

Bảng 5. Điều kiện tối ưu tách và xác định các FAME điều chế từ mỡ cá basa bằng GC/FID

Nhiệt độ ban đầu (°C)	Tốc độ pha động (cm/s)	Tỉ lệ bơm chia dòng	Tốc độ tăng nhiệt (°C/phút)	R _{đđ}	RSD _{đđ} (%)	R _{tn}	RSD _{tn} (%)
140	20,5	30:1	2,4	1,08	2,11	1.08	2,12

Ghi chú: tn: thực nghiệm; đđ: dự đoán (từ mô hình).

Ở điều kiện tối ưu trên, khả năng tách các FAME và độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS có giá trị dự đoán theo mô hình tối ưu hóa lần lượt là 1,08 và 2,11%. Các giá trị trung bình tương ứng thu được khi tiến hành thực nghiệm 3 lần với chất chuẩn FAME 20–40–60 ppm là 1,08 và 2,12%.

Giá trị các phương sai thực nghiệm theo điều kiện tối ưu thu được: $S_{tu_I}^2 = 6,43 \cdot 10^{-5}$, $S_{tu_{II}}^2 = 5,33 \cdot 10^{-4}$ và của mô hình tương ứng là: $S_{0_I}^2 = 7,43 \cdot 10^{-5}$, $S_{0_{II}}^2 = 7,00 \cdot 10^{-4}$. Có $F_{tính I} = 7,43 \cdot 10^{-5} / 6,43 \cdot 10^{-5} = 1,16$; $F_{tính II} = 7,00 \cdot 10^{-4} / 5,33 \cdot 10^{-4} = 1,31 < F_{bảng} (0,95; 2; 2) = 19$.

Xác định điều kiện tối ưu của phương pháp GC/FID

Dựa trên PTHQ bậc hai tâm trực giao xây dựng được khi thực nghiệm khảo sát ảnh hưởng đồng thời của các nhân tố của GC/FID đến khả năng tách các FAME và độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS để xác định điều kiện tối ưu. Bằng cách lấy đạo hàm của hàm hồi quy theo từng biến và cho bằng 0 để tìm ra cực trị của hàm tìm được điều kiện tối ưu để tách và xác định các FAME (thông qua phần mềm Modde 5.0) như bảng 5.

Như vậy độ chính xác của các số liệu theo mô hình và theo thực nghiệm ở điều kiện tối ưu là giống nhau. Kết quả này cho thấy mô hình dự đoán có độ chính xác cao, đảm bảo độ tin cậy. Đây là một công cụ hữu ích trong việc tiên đoán kết quả cũng như tối ưu hóa các điều kiện thực nghiệm.

3.3. Tách và xác định FAME trong các mẫu mỡ cá basa Việt Nam

Áp dụng điều kiện tối ưu tìm được, chúng tôi tiến hành tách và xác định các axit béo trong các mẫu mỡ cá basa, kết quả được trình bày trên các bảng 6 và trên hình 3.

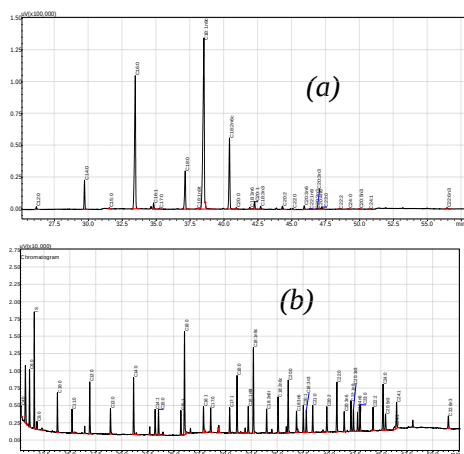
Bảng 6. Kết quả phân tích mẫu mỡ cá basa Việt Nam

TT	Axit béo	f (FAi)	f (TG _i)	Mỡ cá basa				RSD% (n=6)
				mg/g (FAME)	mg/g (TG)	mg/g (FA)	%	
2	C14:0	0,942	0,994	43,79±0,90	43,53±0,89	41,25±0,85	5,03	2,11
3	C15:0	0,945	0,995	1,40±0,01	1,39±0,01	1,32±0,01	0,16	1,02
4	C16:0	0,948	0,995	239,82±11,00	238,62±10,95	227,35±10,43	27,53	4,65
5	C17:0	0,951	0,995	1,70±0,03	1,69±0,03	1,62±0,03	0,20	2,06
6	C18:0	0,953	0,995	70,00±1,16	69,65±1,16	66,71±1,11	8,04	1,76
7	C20:0	0,957	0,996	2,29±0,05	2,28±0,05	2,19±0,05	0,26	2,28
8	C22:0	0,960	0,996	2,40±0,04	2,39±0,04	2,30±0,03	0,28	1,39
9	C23:0	0,962	0,996	6,31±0,17	6,28±0,17	6,07±0,16	0,72	2,66
10	C24:0	0,963	0,996	1,33±0,02	1,33±0,02	1,28±0,02	0,15	1,27
Tổng cộng				373,16±13,47	371,23±13,40	353,92±12,77	42,84	
Axit béo không no 1 nối đôi								
11	C16:1	0,948	0,995	12,14±0,29	12,07±0,29	11,50±0,28	1,39	2,44
12	C17:1	0,950	0,995	1,04±0,02	1,03±0,02	0,99±0,02	0,12	1,89
13	C18:1n9c	0,953	0,995	320,36±9,18	318,76±9,13	305,30±8,75	36,78	2,81
14	C22:1n9	0,960	0,996	0,71±0,02	0,70±0,02	0,68±0,02	0,08	3,23
15	C24:1n9	0,963	0,996	0,62±0,02	0,62±0,02	0,60±0,02	0,07	2,62
Tổng cộng				334,86±9,52	333,19±9,48	319,07±9,08	38,44	
Axit béo không no nhiều nối đôi								
16	C18:2n6c	0,952	0,995	121,65±5,25	121,05±5,26	117,81±5,00	13,97	4,50
17	C18:3n3	0,952	0,995	7,55±0,10	7,51±0,09	7,19±0,09	0,87	1,25
18	C18:3n6	0,952	0,995	6,28±0,09	6,25±0,09	5,98±0,08	0,72	1,35
19	C20:2n6	0,957	0,996	7,73±0,12	7,69±0,12	7,36±0,11	0,89	1,49
20	C20:3n3	0,956	0,996	0,53±0,01	0,53±0,01	0,51±0,01	0,06	2,12
21	C20:3n6	0,956	0,996	8,13±0,14	8,10±0,14	7,77±0,14	0,93	1,80
22	C20:4n6	0,956	0,996	0,62±0,01	0,62±0,01	0,60±0,01	0,07	1,85
23	C20:5n3	0,956	0,996	1,60±0,03	1,59±0,03	1,53±0,02	0,18	1,63
24	C22:2n6	0,960	0,996	1,16±0,02	1,15±0,02	1,11±0,02	0,13	1,62
25	C22:6n3	0,959	0,996	5,75±0,16	5,73±0,16	5,52±0,16	0,66	2,87
Tổng cộng				161,00±5,92	160,22±5,89	155,37±5,54	18,48	
Khác		0,954	0,996	2,01±0,04	2,00±0,04	1,92±0,03	0,23	2,05
Tổng cộng				871,03±28,95	866,63±28,81	830,27±27,42	100	

Kết quả phân tích trên bảng 6 cho thấy trong mỡ cá basa có chứa đến 25 axit béo trong đó axit béo chiếm hàm lượng cao nhất là axit oleic C18:1n-9c (37%), tiếp đến là axit palmitic C16:0 (28%), axit linoleic C18:2n-6c (14%),

axit stearic C18:0 (8%), axit myristic C14:0 (5%), axit palmitoleic C16:1 (1,4%), các axit béo khác đều có hàm lượng thấp, dưới 1%, trong đó có hàm lượng thấp nhất là axit eicosatrienoic C20:3n-3 (0,06%). Tổng các axit béo

no chiếm hàm lượng cao nhất (43%), tiếp đến là axit béo không no một nối đôi (38%) – cao hơn 2 lần các axit béo không no nhiều nối đôi (18%). Hàm lượng các axit béo ω -3 và ω -6 trong mỡ cá basa là 155 mg trong 1g chất béo trong đó có 15 mg/g axit béo ω -3 và 140 mg/g axit béo ω -6, đặc biệt có thành phần của DHA C22:6n-3 (5,52 mg/g) và EPA C20:5n-3 (1,53 mg/g) rất tốt cho sức khỏe.



Hình 3. Sắc đồ GC-FID của mẫu chuẩn 37 FAME (a) và mẫu mỡ cá basa Việt Nam (b)

4. KẾT LUẬN

– Xác định axit béo trong mỡ cá basa bằng GC/FID sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng cho thấy khả năng tách các FAME chịu ảnh hưởng bậc 1 của tốc độ khí mang, nhiệt độ ban đầu và tốc độ tăng nhiệt của cột tách, chịu ảnh hưởng bậc 2 của cả bốn nhân tố khảo sát và ảnh hưởng đồng thời của tốc độ pha động và nhiệt độ ban đầu của cột tách, tốc độ pha động

và tốc độ tăng nhiệt của cột tách. Trong khi đó độ lệch chuẩn tương đối của tỉ lệ diện tích pic FAME/IS chỉ chịu ảnh hưởng bậc 1 và bậc 2 của tỉ lệ bơm chia dòng, ảnh hưởng của các nhân tố khác là không đáng kể.

– Tối ưu hóa điều kiện tách và xác định đồng thời 37 axit béo bằng phương pháp GC/FID với khả năng tách tốt, độ lặp lại cao, điều kiện tối ưu thu được: chương trình nhiệt độ: nhiệt độ đầu 140^oC, giữ 5 phút, tăng 2,4^oC/phút lên 240^oC, giữ 8 phút; khí mang He tốc độ 20,5 cm/s; bơm chia dòng tỉ lệ 30:1.

– Áp dụng điều kiện tối ưu tách và xác định các axit béo trong mỡ cá basa Việt Nam. Thành phần mỡ cá chứa 42,84% axit béo no; 34,44% axit béo không no một nối đôi và 18,48% axit béo không no nhiều nối đôi, trong đó chủ yếu là các axit béo oleic, palmitic, linoleic và stearic.

– Sử dụng các kết quả nghiên cứu để xây dựng thành phương pháp tiêu chuẩn tách, xác định thành phần axit béo trong dầu mỡ động thực vật Việt Nam.

– Áp dụng phương pháp nghiên cứu để mở rộng xác định axit béo trong nhiều đối tượng dầu mỡ động, thực vật khác nhằm cung cấp thêm số liệu phục vụ cho các nghiên cứu về dinh dưỡng, kiểm nghiệm thực phẩm, dược liệu, thức ăn gia súc, nhiên liệu sinh học...

**OPTIMIZE CONDITIONS FOR SEPARATION AND DETERMINATION
OF FATTY ACIDS IN VIETNAMESE CATFISH FAT BY GC/FID**

Vo Thi Viet Dung⁽¹⁾, Nguyen Xuan Trung⁽³⁾, Luu Van Boi⁽²⁾, Yasuaki Maeda⁽³⁾

(1) Pham Van Dong University, (2) VNU University Of Science,

(3) Osaka Prefecture University

ABSTRACT

In this study, gas chromatography - flame ionization detector (GC/FID) method was applied to separate and determine fatty acids in Vietnamese catfish fat. Effect of temperature column program (initial temperature, growth temperature), speed of phase motion and split pumping rate on separation ability of fatty acid methyl ester (FAME) and repetition of area peak rate FAME/IS were investigated. Experiment planning method for GC/FID showed that initial temperature column is 140°C; speed of phase motion is 20.5cm/s; split pumping rate is 30:1 and growth temperature column is 2.4°C/min which are optimum conditions. Results of analysis of fatty acids in catfish fat of Vietnam including: saturated fatty acids, monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids are 42.84%, 38.44% and 18.48% respectively.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Võ Thị Việt Dung, Nguyễn Xuân Trung, Lưu Văn Bôi, *Tạp chí Khoa học & Công nghệ*, Viện Khoa học & Công nghệ Việt Nam, **T.49** (3A), tr. 164–172, (2011).
- [2] Võ Thị Việt Dung, Nguyễn Xuân Trung, Lưu Văn Bôi, *Tạp chí Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, Đại học Quốc gia Hà Nội, **T.28** (1S), tr. 35–41, (2012).
- [3] Lê Thị Thanh Hương, *Tạp chí phát triển KH&CN*, **T.9** (7), Tr. 49–56, (2006).
- [4] Lê Đức Ngọc, *Xử lý số liệu và kế hoạch hóa thực nghiệm*, Hà Nội, (2001).
- [5] Jon H. Van Gerpen, Lawrence A Johnson, Earl J. Hammond, *The Iowa Soybean Promotion Board*, Iowa, US, (1995).
- [6] Maeda, Yasuaki Kawachinaganoshi Osaka, *European patent Application 1411042 A1*, (2003).
- [7] Seppänen–Laakso T., Laakso I., Hiltunen R., *Analytica Chimica Acta*, **465**, pp. 39–62, (2002).