

TÁCH OMEGA-3 TỪ MỠ CÁ BASA BẰNG DUNG MÔI SÂU TỰ NHIÊN TRÊN CƠ SỞ CHOLINE CHLORIDE-THIOUREA

● LÊ THỊ THANH XUÂN - NGUYỄN MINH THẢO - TÔ KIM THI
- LÊ THỊ HOA XUÂN - LÊ THỊ BẠCH - PHẠM THỊ KIM PHƯỢNG

TÓM TẮT:

Nghiên cứu tách chiết omega-3,6,9 từ mỡ cá basa bằng dung môi sâu tự nhiên đã tổng hợp. Kết quả nhận được hàm lượng omega-3 tăng từ 1,66% nguyên liệu ban đầu lên 7,47%, đặc biệt đối với hợp chất docosahexaenoic acid (DHA) tăng từ 0,63% nguyên liệu lên 4,33%. Dung môi sâu sau khi tổng hợp được không kết tinh sau 24 giờ, xác định một số tính chất vật lý và phân tích bằng các phương pháp phân tích hiện đại (FTIR, TGA).

Từ khóa: dung môi sâu, choline chloride, omega-3.

1. Đặt vấn đề:

Việt Nam là quốc gia có ngành thủy sản phát triển và là một trong những ngành kinh tế đem lại kim ngạch xuất khẩu cao, trong đó không thể nói đến cá basa, cá tra là loại cá rất phát triển và chiếm tỷ trọng cao trong xuất khẩu thủy sản. Tuy nhiên, cá basa, cá tra chủ yếu được sử dụng phần thịt (phile) cho xuất khẩu. Các phụ phẩm của quy trình chế biến, như: mỡ, đầu, xương, da... chưa được tận dụng một cách hiệu quả. Dạng phụ phẩm này nếu không có biện pháp xử lý không chỉ gây ô nhiễm môi trường, mà còn lãng phí nguồn dinh dưỡng chứa trong đó. Trên thế giới, có nhiều nghiên cứu tách và làm giàu omega-3,6,9 từ dầu cá bằng nhiều phương pháp khác nhau: Adlof và Emken sử dụng sắc ký nhựa trắng bạc vào việc cô lập các acid béo chưa bão hòa. Dudley và Anderson đã sử dụng sắc ký lớp mỏng trắng bạc

nitrat để tách riêng các acid béo chưa bão hòa [1]. Tùy thuộc vào sự khác nhau về điểm sôi hoặc nồng độ của các acid béo, chúng có thể tách ra bằng cách sử dụng phương pháp chưng cất hoặc thủy phân enzyme [2]. Ở nhiệt độ thấp các acid béo dễ kết tinh nên tách omega bằng phương pháp thủy phân và tạo tủa urea phức [3-4].

Dung môi sâu tự nhiên (NADES) dựa trên các hợp chất an toàn cho tiêu dùng của con người, mở ra nhiều khả năng cho các ứng dụng của chúng trong lĩnh vực khoa học đời sống. Một trong những ứng dụng của NADES là chiết xuất các hợp chất hoạt tính sinh học. Hơn nữa, các tính chất đặc biệt của NADES, như khả năng phân hủy sinh học và khả năng tương thích sinh học, cho thấy chúng là ứng cử viên thay thế cho các khái niệm và ứng dụng liên quan đến một số dung môi hữu cơ và chất lỏng ion. Tuy nhiên,

không giống như các dung môi hữu cơ, chúng là đơn vị cấu trúc cơ bản của môi trường. NADES chủ yếu phụ thuộc vào tương tác giữa các phân tử và các thành phần của chúng. Điều này làm cho ma trận NADES dễ bị ảnh hưởng bởi các yếu tố khác nhau, chẳng hạn như hàm lượng nước, nhiệt độ, thời gian và tỷ lệ thành phần các chất bị chiết... Do đó, cần có nhiều công trình nghiên cứu hơn nữa, đặc biệt trong việc chiết tách các hợp chất hữu cơ trong lipid động vật [5-7].

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất và nguyên liệu:

Choline chloride, thiourea có độ sạch PA của hãng Across, methyl ester được chuẩn bị theo công trình [8]

2.2. Tổng hợp dung môi sâu dạng choline chloride-thiourea và ứng dụng tách omega-3

Dung dịch choline chloride-thiourea (1:1): hỗn hợp choline chloride và thiourea theo tỷ lệ khối lượng là 1:1 được cho vào cốc thủy tinh chịu nhiệt, đun nóng ở 60-70°C trên bếp khuấy từ có gia nhiệt, đun và khuấy cho đến khi thu được một chất lỏng đồng nhất trong suốt, để nguội đến nhiệt độ phòng không có hiện tượng kết tinh, chất lỏng này được gọi là dung môi sâu tự nhiên (NADES) [9].

Tách chiết omega-3 bằng hệ choline chloride-thiourea: methyl ester của acid béo, methanol, NADES được cho vào bình thủy tinh hình cầu 500 ml có nối với ống sinh hàn, đặt trên máy khuấy từ có gia nhiệt (tốc độ khuấy 120 vòng/phút). Hỗn hợp phối trộn theo tỷ lệ gồm 20 gam methyl ester 15 gam hệ choline chloride- thiourea và 200 ml methanol. Bình phản ứng được khuấy liên tục và đun nóng ở nhiệt độ 45°C trong 1 giờ. Khi hỗn hợp trở nên đồng nhất, được làm nguội ở nhiệt độ phòng và tiếp tục làm lạnh ở 4°C trong 8 giờ. Sau khi làm lạnh hỗn hợp tạo thành hai lớp: lớp trên là phần lỏng, lớp dưới là phần rắn. Tách phần chất lỏng và phần rắn ra khỏi nhau. Phần rắn được rửa bằng methanol lạnh và kết hợp dung dịch rửa này với phần lỏng ban đầu, tiếp theo làm bay hơi methanol bằng thiết bị cô quay chân không, sau đó được làm khan bằng Na_2SO_4 và tiến hành phân tích bằng phương pháp GC/FID xác định thành phần hóa học các hợp chất thu được [9].

2.3. Phân tích sản phẩm

Các phương pháp phân tích sử dụng trong công trình này gồm: phổ FTIR của các hợp chất choline chloride-thiourea được đo trên máy Perkinelmer MIR/NIR Frontier, ép viên với KBr, dãy sóng từ 4000-400 cm^{-1} . Phổ TGAg được đo trên máy TGA TA-Q200, phân tích từ nhiệt độ phòng đến 800°C, gia nhiệt với tốc độ 10°C/phút và môi trường khí nitrogen. Độ nhớt được đo trên máy DV III ULTRA (Brookfield), hàm lượng nước được xác định bởi thiết bị schott Instruments Titroline KF trace. GC/FID gồm hệ thống sắc ký khí GC-Agilent 6890N có cấu tạo bao gồm: buồng tiêm mẫu bằng tay, lò cột, đầu dò ion hóa ngọn lửa FID, cột mao quản HP-INOWAX (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm).

3. Kết quả và thảo luận

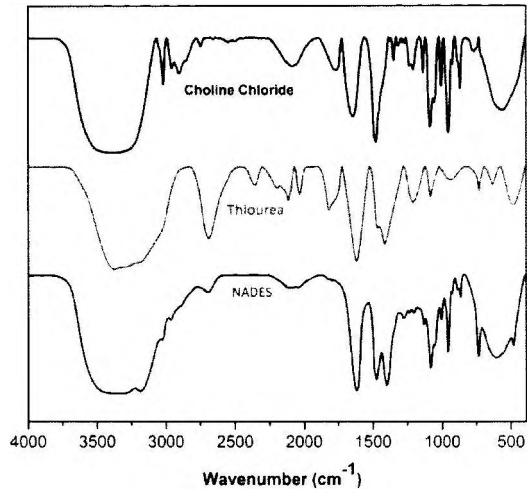
3.1. Kết quả tổng hợp dung môi sâu trên cơ sở choline chloride-thiourea

Hỗn hợp choline chloride và thiourea sau khi tổng hợp ở dạng lỏng có các tính chất vật lý sau: pH = 6,4; tỷ trọng (g/ml) = 1,29; độ nhớt (cP) = 63,7; độ dẫn điện (mS) = 0,82 và không kết tinh sau 24 giờ.

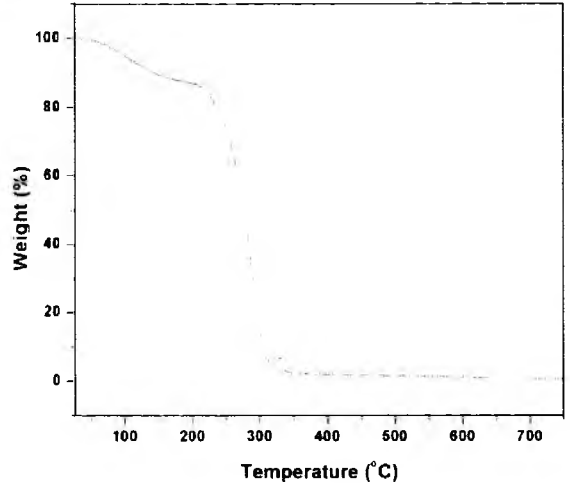
Phổ FTIR Hình 1 của choline chloride có các vân hấp thụ tại 3376 cm^{-1} của dao động nối O-H, 3019, 2956 và 2907 cm^{-1} của nối H-C_{sp^3} ($-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$), 1087 và 1347, 1478 cm^{-1} của nối C-O, 1643 và 1206 cm^{-1} của C-N. Trên phổ của thiourea có xuất hiện các vân hấp thụ tại 3376 và 1618 cm^{-1} của N-H, 1270 cm^{-1} là dao động của nối C=S (thiocarbonyl), 1413, 1084 cm^{-1} của dao động nối C-N. Tín hiệu mạnh tại 2686 cm^{-1} có thể do sự cộng hưởng trong thioamide tạo thành nhóm -SH. Phổ FTIR của hỗn hợp choline chloride với thiourea đều có các vân hấp thụ tương ứng của thiourea và choline chloride. Tuy nhiên, số sóng của nhóm O-H trong choline chloride ở 3376 cm^{-1} đã bị dịch chuyển về vùng thấp hơn tại 3361 cm^{-1} và cường độ tín hiệu tại 2694 cm^{-1} của nối S-H bị giảm mạnh. (Xem Hình 1)

Độ bền nhiệt của hỗn hợp choline chloride với thiourea cũng đã được kiểm tra bằng giản đồ phân tích nhiệt TGA. Dưới 200°C, có sự sụt giảm khối lượng khoảng 12,3%. Điều này được giải thích là do sự bay hơi của nước hoặc dung môi. Từ

Hình 1. Phổ hồng ngoại của hỗn hợp choline chloride-thiourea



Hình 2. Giảm đồ TGA của choline chloride với thiourea



228-333°C, có sự giảm 82% khối lượng tương ứng với choline chloride (317°C) và thiourea (214°C). Vì vậy, hỗn hợp choline chloride với thiourea có độ bền nhiệt dưới 214°C (Xem Hình 2).

3.2. Kết quả tách chiết omega-3 bằng hệ dung môi sâu đã tổng hợp

Sau khi phối trộn cho thấy acid béo bão hòa và acid béo chưa bão hòa giảm 0,36 gam, trong khi omega-3 tăng 0,26 gam, omega-6,9 không thay đổi đáng kể. Vì vậy tổng omega-3,6,9 của hệ dung môi này tăng từ 56% nguyên liệu lên

58% sau khi phối trộn. Sản phẩm lỏng sau tách cho hàm lượng omega-3,6,9 trong phần tách chỉ đạt 56%, hiệu quả tách omega-3,6,9 đạt 14% khối lượng các chất tách ra trong phần lỏng. Tuy nhiên, hàm lượng omega-3 tăng gấp 4,5 lần từ 1,66% nguyên liệu ban đầu lên 7,47%. (Bảng 1)

Thành phần các hợp chất sau khi phối trộn và trong phần lỏng cho thấy các acid béo bão hòa tăng, acid béo chưa bão hòa giảm. Tổng omega-3,6,9 không thay đổi đáng kể. Tuy nhiên, hàm lượng omega-3 trong phần lỏng sau khi tách tăng 4,5 lần.

Bảng 1. Khối lượng sản phẩm sau khi phối trộn và phần lỏng sau chiết tách

| Dạng acid | Methylester | | Sp sau phối trộn | | Sp lỏng sau chiết tách | |
|-------------------|-------------|-------|------------------|-------|------------------------|-------|
| | Gam | % | Gam | % | Gam | % |
| Acid bão hòa | 7,12 | 35,58 | 7,30 | 36,50 | 1,07 | 37,57 |
| Acid chưa bão hòa | 0,67 | 3,35 | 0,13 | 0,65 | 0,05 | 1,82 |
| Omega-3 | 0,37 | 1,66 | 0,63 | 3,15 | 0,22 | 7,47 |
| Omega-6 | 2,89 | 14,67 | 2,89 | 14,45 | 0,49 | 17,40 |
| Omega-9 | 8,13 | 40,63 | 8,23 | 41,15 | 0,90 | 31,79 |
| Kxd và tt | 0,82 | 4,11 | 0,82 | 4,10 | 0,11 | 3,95 |
| Tổng me | 20 | 100 | 20 | 100 | 2,84 | 100 |
| Tổng omega-3,6,9 | 11,39 | 56,96 | 11,75 | 58,75 | 1,61 | 56,66 |

Điều này chứng tỏ nguyên tử lưu huỳnh trong thiourea đã làm thay đổi thành phần của methyl ester ban đầu theo hướng tạo omega-3. (Bảng 2)

Omega-3 trong sản phẩm lỏng tách ra chủ yếu là các hợp chất eicosatrienoic acid (ETA), α -linolenic acid (ALA), eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA). Hàm lượng DHA tăng đáng kể 6,8 lần từ 0,63% lên 4,33%.

Tổng omega-3 tăng 7,47% gấp 4,5 lần so nguyên liệu ban đầu. So với công trình [9] hàm lượng omega-3 đạt 4,26%, DHA chiếm 2,1%. (Bảng 3)

4. Kết luận

Sử dụng dung môi sâu (NADES) đã tổng hợp trên cơ sở choline chloride và thiourea để tách chiết omega-3 từ mỡ cá basa. Kết quả cho thấy dung môi sau khi tổng hợp được là chất lỏng có nhiệt độ nóng

Bảng 2. Thành phần và hàm lượng các chất sau khi phối trộn và trong phân lỏng

| Dạng acid | Tên của các dạng acid béo | Methyl ester % | Sp sau phối trộn % | Sp lỏng sau tách % |
|------------------------------|--|----------------|--------------------|--------------------|
| Tổng acid béo bão hòa | | 35,58 | 36,50 | 37,57 |
| Tổng acid béo chưa bão hòa | | 3,35 | 0,65 | 1,82 |
| Omega-3 | Á-linolenic acid (ala) 18:3 (n-3) | 0,46 | 0,55 | 0,96 |
| | Eicosatrienoic acid 20:3 (n-3) | 0,15 | 0,60 | 1,26 |
| | Eicosapentaenoic acid (epa) 20:5 (n-3) | 0,42 | 0,55 | 0,92 |
| | Docosahexaenoic acid (DHA) 22:6 (n-3) +nervonic acid 24:1(n-9) | 0,63 | 1,45 | 4,33 |
| | Tổng omega-3 | 1,66 | 3,15 | 7,47 |
| Omega-6 | Linoleic acid (la) 18:2 (n-6) | 12,41 | 11,6 | 13,16 |
| | Á-linolenic acid (gla) 18:3 (n-6) | 1,05 | 0,80 | 2,74 |
| | Eicosadienoic acid 20:2 (n-6) | 0,55 | 0,25 | 0 |
| | Eicosatrienoic acid 20:3 (n-6) | 0,18 | 0,75 | 1,5 |
| | Arachidonic acid (aa) 20:4 (n-6) | 0,48 | 0 | 0 |
| | Docosadienoic acid 22:2 (n-6) | 0 | 1,05 | 0 |
| | Tổng omega-6 | 14,67 | 14,45 | 17,40 |
| Omega-9 | Oleic acid 18:1 (n-9) | 40,21 | 40,50 | 31,79 |
| | Eicosenoic acid 20:1(n-9) | 0,42 | 0,65 | 0 |
| | Erucic acid 22:1 (n-9) | 0 | 0 | 0 |
| | Tổng omega-9 | 40,63 | 41,15 | 31,79 |
| Thất thoát và không xác định | | 4,11 | 4,10 | 3,95 |
| Tổng | | 100 | 100 | 100 |
| Tổng omega-3,6,9 | | 56,96 | 58,75 | 56,66 |

Bảng 3. Thành phần omega-3 trong phần lỏng

| Omega-3 | Ala (%) | Eta (%) | Epa (%) | DHA (%) | Tổng (%) |
|--------------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Methyl ester | 0,46 | 0,15 | 0,42 | 0,63 | 1,66 |
| Nades | 0,96 | 1,26 | 0,92 | 4,33 | 7,47 |
| Tài liệu [9] | 0,42 | 0,94 | 0,79 | 2,11 | 4,26 |

chảy thấp hơn các chất ban đầu, hỗn hợp được xác định một số tính chất vật lý và phân tích bằng phương pháp hiện đại. Hàm lượng omega-3 tăng đáng kể từ 1,66% ban đầu lên 7,47% trong sản

phẩm lỏng, chủ yếu là α -linolenic acid 0,96%; eicosatrienoic acid 1,26%; eicosapentaenoic acid 0,92%; docosahexaenoic acid 4,33%, hợp chất DHA tăng 4,5 lần so với nguyên liệu ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. R. O. Adlof, E. A. Emken. (1985). The isolation of omega-3 polyunsaturated fatty acids and methyl esters of fish oils by silver resin chromatography. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 62, 1592-1595.
2. P. C. Rossi, C. Pramparo Mdel, et al. (2011). Optimization of molecular distillation to concentrate ethyl esters of eicosapentaenoic (20:5 ω -3) and docosahexaenoic acids (22:6 ω -3) using simplified phenomenological modeling. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 1452-1458.
3. V. T. Crexi, M. L. Monte, M.L.Monte, et al. (2012). Polyunsaturated fatty acid concentrates of carp oil: chemical hydrolysis and urea complexation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 329-334.
4. N. W. Suriani, H. J. Lawalata, A. Komansilan. (2014). Urea crystallization on the concentrate making of omega-3 fatty acid from oil of tuna fish (Thunnus Sp) canning byproduct. *International Journal of PharmTech Research*, 6, 1981-1990.
5. M. C. Bubalo, N. Curko, M. Tomasevie, et al. (2016). Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 200, 159-166.
6. M. A. Kareem, F. S. Mjalli, M. A. Hashim, et al. (2012). Liquid-liquid equilibria for the ternary system (phosphonium based deep eutectic solvent-benzene-hexane) at different temperatures: A new solvent introduced. *Fluid Phase Equilibria*, 314, 52-59.
7. A. Ciccì, G. Sed, M. Bravi. (2017). Potential of choline chloride - based natural deep eutectic solvents (nades) in the extraction of microalgal metabolites. *Italian Association Of Chemical Engineering*, 57, 61-66.
8. Le Thi Thanh Xuan, Nguyen Minh Thao, Cu Thanh Son, Ho Son Lam. (2017). Survey composition and content of omega-3,6,9, extracted from catfish at mekong delta vietnam by extraction method with the traditional solvents. *Vietnam Journal of Chemistry*, 5e34, 55, 551-556.
9. Lê Thị Thanh Xuân, Tô Kim Thi, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Lê Thị Hoa Xuân, Cù Thành Sơn, Hồ Sơn Lâm (2019). Làm giàu và tách epa, DHA, omega-3,6,9 bằng hệ dung môi sâu trên cơ sở methanol/urea khỏi hỗn hợp methyl ester acid béo của mỡ cá basa phế thải. *Tạp chí Công Thương*, 15, 191-195.

Ngày nhận bài: 5/10/2021

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 28/10/2021

Ngày chấp nhận đăng bài: 12/11/2021

Thông tin tác giả:

1. LÊ THỊ THANH XUÂN¹
2. NGUYỄN MINH THẢO¹
3. TÔ KIM THỊ¹
4. LÊ THỊ HOA XUÂN²
5. LÊ THỊ BẠCH³
6. PHẠM THỊ KIM PHƯƠNG⁴

¹Trường Đại học Đồng Tháp

²Trường Cao đẳng Cộng đồng Đồng Tháp

³Trường Đại học Cần Thơ

⁴Trường Đại học An Giang - Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

THE EXTRACTATION OF OMEGA-3,6,9 FROM CATFISH FAT BY USING NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS BASED ON CHOLINE CHLORIDE-THIOUREA

- LE THI THANH XUAN¹
- NGUYEN MINH THAO¹
- TO KIM THI¹
- LE THI HOA XUAN²
- LE THI BACH³
- PHAM THI KIM PHUONG⁴

¹ Dong Thap University

² Dong Thap Community College

³ Can Tho University

⁴ An Giang University - Vietnam National University Ho Chi Minh City

ABSTRACT:

This research studies the extractation of Omega-3,6,9 from catfish fat by using natural deep eutectic solvents (NADES). The researchs results show that the content of Omega-3 increased from 1.66% to 7.47% and the content of docosahexaenoic acid (DHA) increased from 0.63% to 4.33%. The synthesized NADES did not crystallize for 24 hours after the extraction completed and its physical properties were analyzed.

Keywords: NADES, Omega-3, choline chloride.