

BƯỚC ĐẦU THỬ NGHIỆM LY TRÍCH OMEGA-3 TỪ MỠ CÁ TRA (*Pangasianodon hypophthalmus*)

PRELIMINARY STUDY FOR EXTRACTING OMEGA-3 FROM CATFISH FAT

(*Pangasianodon hypophthalmus*)

Phạm Thị Lệ Thu*, Phạm Thị Lan Phương

Bộ môn Chế Biến Thủy Sản, khoa Thủy Sản, trường Đại Học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.

Email: thupham.nl@gmail.com

ABSTRACT

In recent years, the catfish processing industry for export has been drastically developing in Vietnam. However, catfish processing industry also induced many by-products which badly affected to the environment. These by-products need to be treated before discarding to environment. Among them, catfish fat still has many components with high nutrition value such as unsaturated fat. One of the remarkable unsaturated fat in catfish fat is Omega-3. This research was carried out to test the ability of extracting Omega-3 from catfish fat by-product. This by-product was cleaned by removing impurities. Then, it was hydrolyzed to extract free fatty acid. Free fatty acid was precipitated by cacbamua (ure) to eliminate saturated fatty acid and reclaim unsaturated fatty acid. The Omega-3 content was 19.523 gram in 100 gram catfish fat by-product.

Key words: Omega-3, catfish fat by-product

ĐẶT VẤN ĐỀ:

Cùng với sự phát triển mạnh mẽ về kinh tế, đời sống con người ngày càng được cải thiện và nâng cao. Con người luôn tìm kiếm nguồn dinh dưỡng “sạch” để cung cấp cho bản thân và gia đình. Protein, Glucid, Lipid, Vitamin và Khoáng Chất là những nhóm chất dinh dưỡng cần thiết đối với con người. Hiện nay, nghề nuôi cá, đặc biệt là cá tra phát triển mạnh ở khu vực Đồng Bằng Sông Cửu Long, đáp ứng được nhu cầu tiêu thụ trong nước và làm nguyên liệu cho chế biến xuất khẩu, thúc đẩy sự phát triển của ngành công nghiệp thủy sản Việt Nam. Tuy nhiên, cá tra chủ yếu được sử dụng phần thịt, các phụ phẩm như: đầu, xương, mỡ, da...chưa được tận dụng một cách hiệu quả. Đặc biệt là mỡ cá, loại phụ phẩm này nếu không có biện pháp xử lý phù hợp thì không chỉ gây ô nhiễm môi trường mà còn làm lãng phí nguồn dinh dưỡng thiết yếu cho con người – Omega-3. Do đó mục tiêu của nhóm nghiên cứu là để tìm ra phương pháp hiệu quả để trích ly Omega -3 có trong mỡ cá tra phụ phẩm nhằm tận dụng một cách có hiệu quả nguồn phụ phẩm này. Điều này vừa có ý nghĩa về mặt kinh tế vừa góp phần vào công cuộc bảo vệ môi trường.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP:

Chuẩn bị hóa chất:

Eter dầu hỏa (Trung Quốc)
Chloroform (Trung Quốc)
Ethanol 70⁰, Ethanol 95⁰ (Trung Quốc)
H₂SO₄ 98.08% (Trung Quốc)
NaOH (Trung Quốc)
Na₂SO₄ khan (Trung Quốc)
Urê (Trung Quốc)
NaCl (Trung Quốc)

Phương pháp thí nghiệm:

Tách chiết mỡ lỏng từ mỡ cá tra ban đầu

Mỡ cá được rửa sạch và được bảo quản lạnh ở -18°C . Khi tiến hành thí nghiệm, mỡ cá tra được rã đông tự nhiên. Mỡ cá sau khi được rã đông, đem rửa sạch với nước, dùng dao cắt mỡ cá thành từng miếng nhỏ, sau đó xay nhỏ.

Sau khi xay, tiến hành gia nhiệt gián tiếp mỡ cá ở 80°C , dùng đũa thủy tinh khuấy liên tục cho mỡ nóng chảy đều. Đổ dung dịch ra phễu lọc để loại bỏ phần cặn

Rửa mỡ cá lỏng thu được bằng dung dịch nước muối 10% (NaCl 10%). Lắng tách nước ta thu được mỡ lỏng sạch. Bảo quản mỡ cá thu được trong tủ mát.

Thủy giải để chiết tách các acid béo tự do ra khỏi mỡ cá.

Cho 5g mỡ cá thu được vào bình cầu, thêm vào 100ml NaOH 0,5M trong ethanol 70°C . Tiến hành siêu âm hóa trong 1 giờ 30 phút để mỡ cá tan hoàn toàn vào dung môi.

Sau đó, đổ dung dịch trên vào 1 becher 250ml, gia nhiệt gián tiếp ở 80°C đến khi cạn khô thu được sản phẩm là xà phòng. Tiếp theo cho 100ml nước cất, thêm vào dung dịch H_2SO_4 6M sao cho pH = 1-2. Lúc này dung dịch trở nên đục.

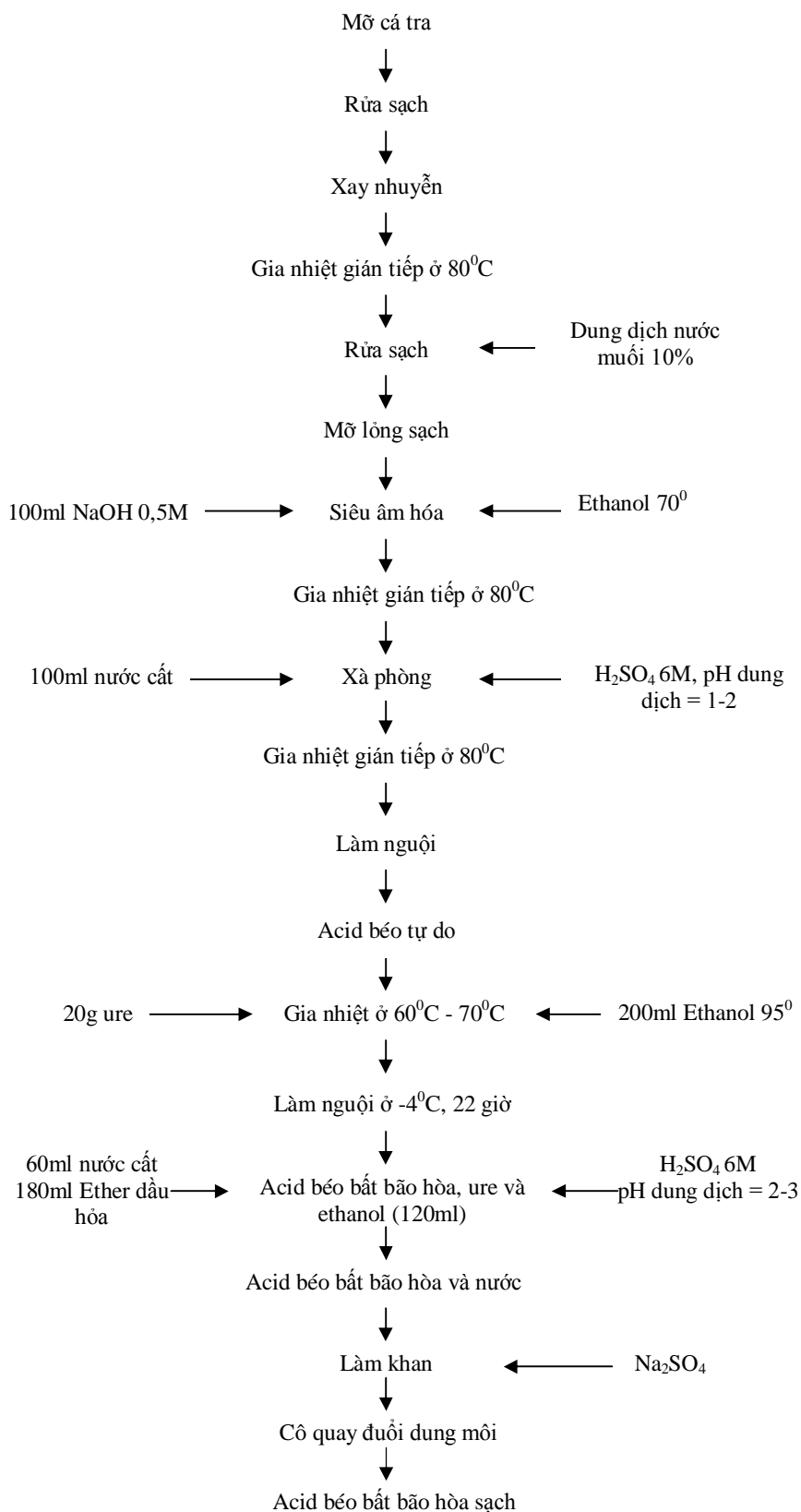
Gia nhiệt gián tiếp ở 80°C thì acid béo nổi lên, không sử dụng nhiệt độ quá cao vì sẽ làm biến tính tính chất của mỡ cá. Nhấc becher ra khỏi bếp, để nguội thì acid béo đông lại, hỗn hợp được để qua đêm (có thể cho becher vào tủ lạnh để acid béo mau đông hơn nhằm giảm thời gian tiến hành).

Tủa ure để loại bỏ các acid béo bão hòa, thu hồi các acid béo bất bão hòa.

Cho 5g acid béo thu được từ quá trình thủy giải ở trên vào 1 erlen 500ml. Sau đó cho tiếp vào 20g urê và 200ml ethanol 95° . Đun erlen ở 60°C - 70°C và khuấy kỹ để urê có thể tan hết vào dung dịch. Khi dung dịch đã trở nên đồng nhất, cho erlen vào tủ đông ở -4°C trong 22 giờ để urê có thể tạo kết tinh với các acid béo bão hòa.

Sau khoảng thời gian tạo tủa trên, lấy erlen ra và lọc loại bỏ tủa, thu được 120ml dung dịch, bổ sung vào 60ml nước cất và dung dịch H_2SO_4 6M sao cho pH = 2-3. Tiếp tục bổ sung thêm vào dung dịch 180ml eter dầu hỏa và lắc kỹ. Sau 15 phút dung dịch sẽ tách làm hai pha: pha eter chứa acid béo bất bão hòa nằm phía trên và pha nước chứa urê, ethanol và H_2SO_4 nằm phía dưới. Thu lấy pha eter, làm khan với Na_2SO_4 rồi đem cô quay đuổi dung môi. Cuối cùng thu được 1,5 ml acid béo bất bão hòa.

Quy trình tiến hành thí nghiệm



KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hàm lượng Omega-3 thu được trong mỡ cá tra.

Mẫu thí nghiệm được phân tích hàm lượng Omega-3 bằng phương pháp GC-ISO/CD 5509 :94 tại trung tâm Dịch Vụ Phân Tích thí nghiệm thành phố Hồ Chí Minh

Bảng 1: Kết quả kiểm nghiệm.

STT	Chỉ tiêu kiểm nghiệm	Đơn vị tính	Kết quả
1	Omega3	g/100g	19,523 (C _{18:3} +C _{20:5} +C _{22:6})

So sánh kết quả thí nghiệm với kết quả của các tác giả khác:

Bảng 2: Bảng so sánh hàm lượng Omega-3 thu được của mẫu thí nghiệm với kết quả thí nghiệm của các tác giả khác

Tên tác giả	Hàm lượng omega-3 (%)
Huỳnh Kiến Thành	--
Nguyễn Thị Bích Liên	20,89
Mai Thị Diệu Thảo	24,03
Lê Hoàng Anh	5,87
Mẫu thí nghiệm	19,52

Huỳnh Kiến Thành thực hiện việc thu nhận các phân đoạn khác nhau của acid béo trong mỡ cá basa bằng sắc ký cột.

Nguyễn Thị Bích Liên phân tích các thành phần các acid béo trong mỡ cá basa bằng phương pháp ứng dụng phổ hồng ngoại và sắc ký khí.

Mai Thị Diệu Thảo tiến hành hòa tan các acid béo trong mỡ cá basa vào trong dung môi hữu cơ (hexan hoặc acetone), sau đó dung môi này được hạ nhiệt độ xuống -20°C đến -70°C , để kết tinh trong 1 ngày để thu nhận các phân đoạn khác nhau của acid béo.

Lê Hoàng Anh đã ly trích, thu nhận và làm giàu acid docosahexaenoic (DHA) từ mỡ cá basa (*Pangasius bocourti* Sauvage) bằng phương pháp thủy phân acid béo trong môi trường kiềm kết hợp với đun hoàn lưu và khuấy từ.

Nhận xét

Dựa vào Bảng 2 chúng tôi nhận thấy rằng kết quả của mẫu thí nghiệm khá tốt, hàm lượng Omega-3 đạt được là 19,523%. Mẫu thí nghiệm tuy sử dụng phương pháp đơn giản: phản ứng thủy phân acid béo trong môi trường kiềm và phản ứng tủa urê, nhưng đó là những tiền đề tốt để hạn chế sự thất thoát acid béo bất bão hòa. Bên cạnh đó, thay vì sử dụng phương pháp khuấy từ truyền thống như đề tài của Lê Hoàng Anh chúng tôi sử dụng phương pháp siêu âm hóa, giúp tiết kiệm thời gian cho phản ứng thủy giải và quá trình đun cạn để thu và phòng. Hàm lượng Omega-3 thu được trong thí nghiệm của Lê Hoàng Anh chỉ đạt 5,87% thấp hơn so với kết quả mẫu thí nghiệm.

Hoàng Đức Như và Nguyễn Thị Bích Liên cùng tiến hành nghiên cứu thành phần các acid béo trong mỡ cá basa và nhận thấy rằng mỡ cá basa có chứa Omega-3 với một hàm lượng từ khoảng 13,22% đến 20,89%. Phương pháp ứng dụng phổ hồng ngoại và sắc ký khí để phân tích các thành phần trong mỡ cá basa mà Nguyễn Thị Bích Liên áp dụng cũng mang lại một kết quả khá tốt. Tuy nhiên, phương pháp này lại khá phức tạp và đòi hỏi người thực hiện phải có thao tác chuyên nghiệp và chi phí cao.

Với phương pháp thí nghiệm khác hoàn toàn, Huỳnh Kiến Thành sử dụng phương pháp sắc ký cột để tách DHA từ mỡ cá basa. Tuy nhiên kết quả đạt được vẫn chưa tốt, nguyên nhân có thể là vì các acid béo trong mỡ cá basa có độ phân cực tương đối gần bằng nhau, nên nếu như

dùng phương pháp sắc kí cột để thu nhận và cô lập DHA thì tương đối khó khăn do khó xác định được phân đoạn chính xác có chứa DHA.

Mai Thị Diệu Thảo đã tiến hành thí nghiệm với phương pháp phức tạp hơn, hòa tan các acid béo trong mỡ cá basa vào trong dung môi hữu cơ (hexan hoặc acetone), sau đó dung môi này được hạ nhiệt độ xuống -20°C đến -70°C , để kết tinh trong một ngày rồi thu nhận các phân đoạn khác nhau của acid béo. Mặc dù phương pháp này cho kết quả rất tốt, hàm lượng Omega-3 thu được lên tới 24,03%. Nhưng điểm khó của phương pháp này là phải tiến hành ở một nhiệt độ quá thấp do đó cần phải có một thiết bị làm lạnh chuyên dụng.

Vì vậy, chúng tôi nhận thấy rằng phương pháp thí nghiệm đang tiến hành là rất phù hợp. Vừa đơn giản lại tiết kiệm chi phí, tuy nhiên cần phải hoàn thiện và giảm thiểu hơn nữa các nhân tố khách quan ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

Sử dụng phương pháp thủy giải lipid trong môi trường kiềm đã thu được các acid béo tự do gồm acid béo bão hòa và bất bão hòa.

Tiến hành chiết tách Omega-3 khỏi acid béo tự do thu được từ phản ứng trên bằng phương pháp tủa urê (tỷ lệ khối lượng urê/ acid béo tự do là 4/1 và tỷ lệ khối lượng urê/ thể tích ethanol 95⁰ là 10%). Sản phẩm thu được từ quá trình trên là acid béo bất bão hòa. Cơ sở của phương pháp này là sự liên kết tạo thành phức ở nhiệt độ thấp giữa urê với các acid béo bão hòa.

Phương pháp tủa urê để loại bỏ các acid béo bão hòa trong hỗn hợp acid béo tự do là một phương pháp khá hiệu quả trong việc làm giàu Omega-3 trong mỡ cá tra.

Đề nghị

Omega-3 là một chất dễ bị oxy hóa bởi nhiệt độ trong quá trình thí nghiệm nên có thể bổ sung thêm chất bảo quản Omega-3 vào mỡ cá tra để giảm lượng hao hụt Omega-3 trong quá trình thí nghiệm.

Trong phản ứng thủy giải acid béo có thể sử dụng dung môi methanol. Do đó, có thể tiến hành thí nghiệm dùng dung môi methanol thay thế cho ethanol và so sánh hiệu quả của việc sử dụng ethanol và methanol.

Có thể tủa urê ở những nhiệt độ thấp hơn để tinh sạch Omega-3 tốt hơn.

Tiến hành tủa urê với những tỷ lệ urê/ acid béo khác nhau để loại bỏ tốt hơn lượng acid béo bão hòa.

Kéo dài thời gian tạo tủa trong phản ứng tủa urê.

Sử dụng những hóa chất đạt độ tinh sạch cao hơn.

Mỡ cá đem đi thủy phân để thu nhận các acid béo tự do sau đó mới tiến hành tủa urê thì cho hàm lượng Omega-3 cũng như hàm lượng các acid béo bất bão hòa cao hơn trường hợp *trans*-ester hóa rồi mới đem tủa urê.

Sử dụng phương pháp siêu âm hóa tiết kiệm được nhiều thời gian hơn (7 giờ) so với phương pháp đun hoàn lưu kết hợp với khuấy từ truyền thống. Và rút ngắn được thời gian đun cạn dung dịch sau phản ứng thủy phân để thu được xà phòng. Giảm phản ứng phụ và tăng hiệu suất phản ứng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

Phạm Thị Anh, 2006. *Phương pháp ly trích, thu nhận và làm giàu acid docosahexaenoic (DHA) từ mỡ cá basa (pangasius bocourti sauvage)*. Luận văn tốt nghiệp, Đại học Khoa Học Tự Nhiên, TP. Hồ Chí Minh.

Trần Thị Áng, 2001. *Hóa sinh học*. Nhà xuất bản giáo dục.

Nguyễn Trọng Cần và Đỗ Minh Phụng, 1990. *Nguyên liệu chế biến sản phẩm thủy sản*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp Hà Nội.

Nguyễn Thị Lê Diệu, 2000. *Tìm hiểu về loài cá tra và sản xuất thử một số sản phẩm từ loại cá này*. Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ, Đại học Bách Khoa, TP. Hồ Chí Minh.

Lê Thanh Hùng, 2008. *Thực ăn và dinh dưỡng thủy sản*. Nhà xuất bản nông nghiệp.

Phạm Văn Khánh, 2000. *Kỹ thuật nuôi một số loài cá xuất khẩu*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp Hà Nội.

Nguyễn Anh Khoa, 2010. *Sản xuất biodiesel từ nguyên liệu có nguồn gốc động thực vật*. Đồ án môn học chuyên ngành, bộ môn Công Nghệ Sinh Học, Đại học Khoa Học Tự Nhiên, TP. Hồ Chí Minh.

Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. Đại học Khoa Học Tự Nhiên.

Đoàn Ngọc Đan Thanh và Lê Ngọc Thạch, 2010. *Tổng hợp biodiesel từ mỡ cá tra*. Bộ môn hóa học hữu cơ, khoa Hóa Học, Đại học Khoa Học Tự Nhiên TP. Hồ Chí Minh.

Nguyễn Hồng Thanh, Nguyễn Trần Tú Nguyên và Nguyễn Thị Phương Thoa, 2009. Điều chế biodiesel từ mỡ cá basa bằng phương pháp hóa siêu âm. *Tạp chí phát triển Khoa Học và Công Nghệ*, 12, 03.

Huỳnh Trang Thanh và Lê Thị Thanh Hương, 2011. *Điều chế biodiesel từ mỡ cá tra sử dụng xúc tác $K_2CO_3/\gamma - Al_2O_3$* . Đại học Công Nghiệp thành phố HCM.

Mai Thị Diệu Thảo, 2006. *Nghiên cứu thu nhận docosahexaenoic acid (DHA) từ dầu cá ba sa*. Luận văn tốt nghiệp, Đại học Bách Khoa, TP. Hồ Chí Minh.

Lê Ngọc Tú, La Văn Chứ, Đặng Thị Thu, Phạm Quốc Thăng, Nguyễn Thị Thịnh, Bùi Đức Hợi, Lưu Duẩn và Lê Doãn Diên, 1998. *Hóa sinh công nghiệp*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội.

Văn Thị Bích Thùy, Nguyễn Thùy Trang, Phạm Tấn Lộc và Trương Thanh Phụng, 2009. *Ứng dụng gây biến đổi các đặc tính chức năng của các thành phần cơ bản (protein, lipid, nước, vitamin...) trong việc tận dụng các phụ phẩm của quá trình chế biến thủy sản*. Tiểu luận, Đại học Cần Thơ.

Tài liệu tiếng nước ngoài

Nguyen Thi Thuy, 2010. *Eluvation of Catfish (Pangasius hypophthalmus) by- products of Protein Source for the Pigs in the Mekong Delta of Viet Nam*. Dotoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.