

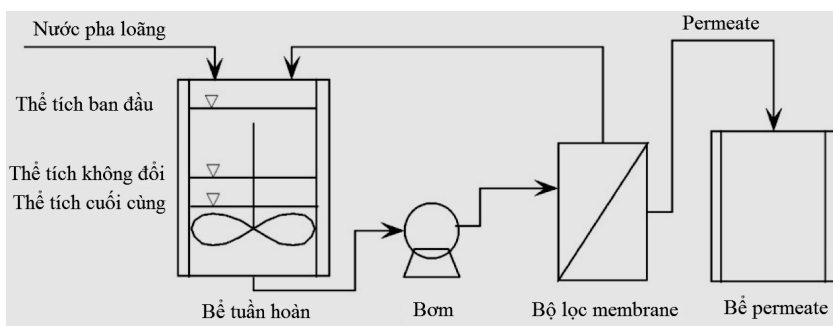
## NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG KỸ THUẬT DIAFILTRATION ĐỂ NÂNG CAO ĐỘ TINH KHIẾT CỦA FRUCTOOLIGOSACCHARIDES (FOS) BẰNG MEMBRANE DS-5-DL

LÊ THỊ HỒNG ÁNH, ĐỒNG THỊ ANH ĐÀO, NGUYỄN ĐÌNH THỊ NHƯ' NGUYỄN

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

FOS là hỗn hợp của 1-kestose ( $GF_2$ ), nystose ( $GF_3$ ) và  $1^F$ -fructosylnystose ( $GF_4$ ) [2]. Quá trình tổng hợp FOS với xúc tác là enzym fructosyltransferase đạt hiệu suất 50 – 60% so với nồng độ saccharose ban đầu. FOS cao độ được sản xuất bằng cách tách glucose, fructose và saccharose dư [10] bằng các phương pháp membrane, sắc kí, lên men hoặc enzym. Phương pháp lọc nano có nhiều tiềm năng trong tinh sạch oligosaccharides ở quy mô công nghiệp [7, 13].

Trong phương pháp lọc nano, sau khi đi qua membrane, dung dịch nhập liệu được phân riêng thành hai dòng riêng biệt, retentate (dòng không qua membrane) và permeate (dòng qua membrane). Để nâng cao độ tinh khiết của sản phẩm, người ta áp dụng kỹ thuật diafiltration trong quá trình lọc. Diafiltration là quá trình bổ sung dung môi (chất pha loãng) vào retentate và tách nó ra như permeate cùng với chất tan. Mục tiêu có thể là tăng khả năng thu hồi chất tan hoặc thu nhận retentate với độ tinh khiết cao hơn. Diafiltration có thể được tiến hành gián đoạn hay liên tục. Diafiltration gián đoạn là quá trình tách chất tan thấm qua membrane theo dòng permeate, sau đó pha loãng retentate lại bằng nước và tiến hành lọc lại [5]. Tiếp tục quá trình cho tới khi chất tan phân tử lượng nhỏ đạt nồng độ mong muốn, khi đó ngưng thêm nước và cô đặc retentate tới nồng độ cuối cùng [8]. Khi thể tích permeate thu được bằng với thể tích retentate lúc bắt đầu quá trình diafiltration, tiến hành được một bước diafiltration [11]. Khi không pha loãng, quá trình lọc sẽ dừng lại khi hiện tượng fouling xảy ra hoặc khi áp suất thẩm thấu tăng quá cao.



Hình 1. Hệ thống lọc membrane có diafiltration

Có hai phương thức diafiltration: CVD và VVD.

- CVD (Constant volume diafiltration): quá trình diafiltration được tiến hành trong điều kiện lưu lượng nước pha loãng bằng lưu lượng permeate tạo thành.

- VVD (Variable volume diafiltration): quá trình diafiltration được tiến hành trong điều kiện lưu lượng nước pha loãng khác lưu lượng permeate tạo thành, thường là nhỏ hơn [6].

Nghiên cứu này tập trung vào trình bày và phân tích mối quan hệ giữa nồng độ của các đường khác nhau và số bước diafiltration cũng như mối quan hệ giữa hiệu suất thu hồi và độ tinh khiết của FOS, từ đó xác định điều kiện tinh chế FOS có áp dụng diafiltration. Các thí nghiệm được tiến hành tại các giá trị thông số công nghệ đã được xác lập khi tiến hành tối ưu các điều kiện tinh sạch FOS bằng phương pháp lọc nano sử dụng membrane DS-5-DL như sau: nồng độ dung dịch FOS 5% (w/v), nhiệt độ 45°C, lưu lượng nhập liệu 6 lít/phút và áp suất nhập liệu 25 bar [1].

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu – Hóa chất – Thiết bị

- FOS: gồm GF<sub>2</sub>, GF<sub>3</sub> và GF<sub>4</sub> (55–65%), glucose, fructose và saccharose.

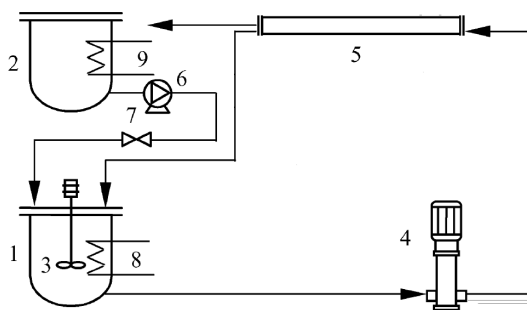
- Nước: sử dụng nước đã qua xử lý lọc thẩm thấu ngược.

- Hóa chất: FOS chuẩn (GF<sub>2</sub>, GF<sub>3</sub> và GF<sub>4</sub>) (Wako, Nhật); saccharose, glucose, fructose, acetonitrile và nước để phân tích HPLC (Merck, Đức).

- Hệ thống lọc nano có hệ thống diafiltration bán tự động, sử dụng membrane dạng cuộn xoắn DS-5-DL (hãng GE Osmonics, Mỹ).

Bảng 1. Thông số kỹ thuật của membrane DS-5-DL

Thông số kỹ thuật	Giá trị
Diện tích lọc	0,325m <sup>2</sup>
pH	3 - 10
Nhiệt độ tối đa	50°C
Khả năng chịu chlorine	500ppm
Kích thước (đường kính x chiều dài)	30,48 × 457,2mm
Giới hạn khối lượng phân tử	300Da
Lưu lượng tối đa	9,46 lít/phút
Áp suất tối đa	41 bar



Hình 2. Sơ đồ hệ thống lọc nano

- |                       |   |
|-----------------------|---|
| 1. Bể nhập liệu.      | 6. Bơm nước pha loãng.                      |
| 2. Bể nước pha loãng. | 7. Van điều chỉnh lưu lượng nước pha loãng. |
| 3. Cánh khuấy.        | 8. Thiết bị gia nhiệt bể nhập liệu.         |
| 4. Bơm cao áp.        | 9. Thiết bị gia nhiệt bể nước pha loãng.    |
| 5. Bộ lọc cuộn xoắn.  |   |

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp xác định tốc độ dòng permeate

Tốc độ dòng permeate được xác định là thể tích permeate chảy qua một đơn vị diện tích membrane trong một đơn vị thời gian.

$$J = \frac{V}{A \times t}$$

Với: J là tốc độ dòng permeate, tính bằng lít/m<sup>2</sup>.giờ; t là thời gian, tính bằng giờ; V là thể tích permeate thu được trong thời gian t, tính bằng lít; A là diện tích lọc của membrane, tính bằng m<sup>2</sup>.

- Phương pháp phân tích hóa lí: xác định thành phần fructose, glucose, saccharose, FOS (GF<sub>2</sub>, GF<sub>3</sub>, GF<sub>4</sub>) của mẫu nhập liệu và permeate bằng phương pháp sắc kí lỏng cao áp trên máy HPLC Shimadzu, với cột phân tích NH<sub>2</sub> và đầu dò khúc xạ RID (Reflective index detector), chạy ở nhiệt độ 40°C, pha động là hỗn hợp acetonitrile : nước (75 : 25) với vận tốc 0,6 ml/phút.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

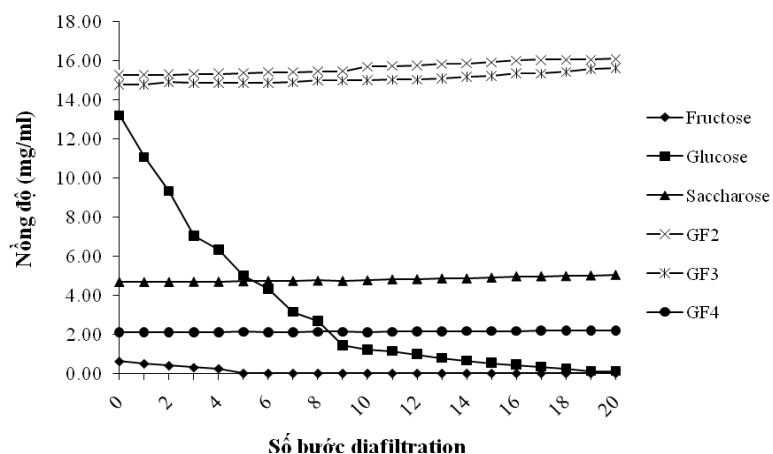
Dung dịch FOS có nồng độ 5% (w/v) ở nhiệt độ 45°C được bơm qua hệ thống lọc với lưu lượng 6 lít/phút và áp suất 25 bar. Trong quá trình diafiltration, nước pha loãng có nhiệt độ bằng với nhiệt độ dung dịch nhập liệu (45°C) được bơm vào bể nhập liệu. Hệ thống diafiltration có thể điều chỉnh lưu lượng nước pha loãng, qua đó có thể đạt được tỉ lệ lưu lượng nước pha loãng và lưu lượng permeate cho trước (CVD 1 : 1; VVD 0,95 : 1; VVD 0,90 : 1).

### 3.1. CVD (Lưu lượng nước pha loãng : lưu lượng permeate = 1 : 1)

Vì saccharose và FOS có phân tử lượng cao không thấm qua membrane DS-5-DL nên khi tiến hành quá trình diafiltration, chỉ có các monosaccharides như fructose và glucose được tách ra theo dòng permeate, các đường khác nằm lại trong retentate. Do đó độ tinh khiết của FOS tăng dần theo số bước diafiltration.

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm diafiltration CVD

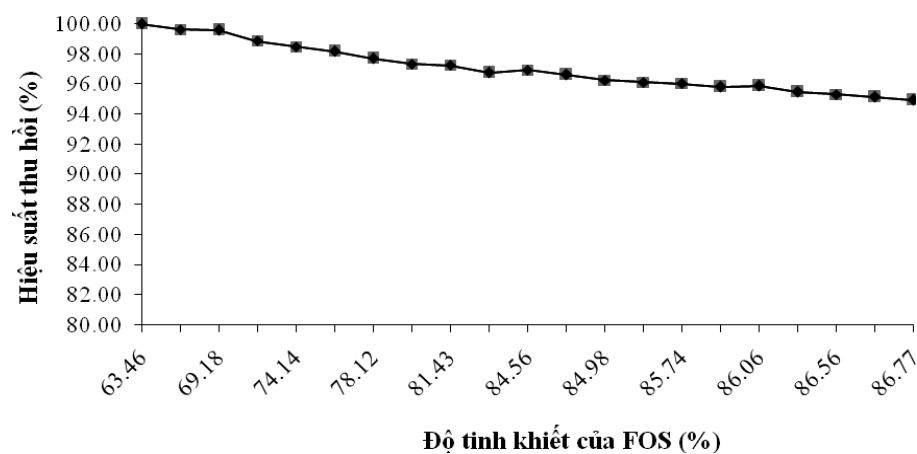
Số bước diafiltration	Nồng độ (mg/ml)						Độ tinh khiết của FOS (%)	Hiệu suất thu hồi FOS Y (%)
	F	G	S	GF <sub>2</sub>	GF <sub>3</sub>	GF <sub>4</sub>		
0	0,62	13,20	4,69	15,28	14,76	2,11	63,46	100,00
1	0,50	11,06	4,69	15,29	14,78	2,12	66,45	99,63
2	0,40	9,32	4,69	15,30	14,91	2,13	69,18	99,57
3	0,30	7,03	4,71	15,32	14,83	2,12	72,83	98,87
4	0,24	6,32	4,71	15,34	14,85	2,12	74,14	98,49
5	0,00	5,01	4,73	15,38	14,85	2,14	76,87	98,17
6	0,00	4,32	4,75	15,40	14,85	2,13	78,12	97,69
7	0,00	3,15	4,75	15,41	14,89	2,13	80,41	97,34
8	0,00	2,67	4,76	15,45	14,98	2,14	81,43	97,25
9	0,00	1,43	4,75	15,46	14,98	2,14	84,06	96,78
10	0,00	1,21	4,78	15,69	15,00	2,11	84,56	96,92
11	0,00	1,14	4,82	15,72	15,01	2,14	84,65	96,62
12	0,00	0,98	4,84	15,75	15,01	2,16	84,98	96,25
13	0,00	0,78	4,87	15,82	15,08	2,15	85,40	96,12
14	0,00	0,65	4,87	15,85	15,17	2,18	85,74	96,04
15	0,00	0,53	4,91	15,91	15,21	2,18	85,96	95,81
16	0,00	0,45	4,98	15,99	15,34	2,18	86,06	95,89
17	0,00	0,34	4,98	16,03	15,33	2,19	86,31	95,48
18	0,00	0,24	4,99	16,06	15,42	2,19	86,56	95,30
19	0,00	0,12	5,02	16,05	15,56	2,19	86,80	95,14
20	0,00	0,12	5,05	16,09	15,62	2,21	86,77	94,95



Hình 3. Sự thay đổi nồng độ các đường trong dung dịch FOS theo số bước diafiltration (CVD)

Khi sử dụng phương thức CVD, lưu lượng nước pha loãng bằng với lưu lượng permeate tạo thành, do đó thể tích dung dịch xem như không đổi trong quá trình diafiltration. Vì vậy nồng độ các đường không thấm qua membrane (saccharose, FOS) không đổi.

Độ tinh khiết của FOS tăng mạnh sau 7 bước diafiltration, sau đó bắt đầu tăng ít dần. Sau 12 bước, độ tinh khiết của FOS đạt xấp xỉ 85% với hiệu suất thu hồi 96%. Sau đó độ tinh khiết FOS thay đổi rất ít, đạt 86,77% sau 20 bước diafiltration, hiệu suất thu hồi đạt 95%.



Hình 4. Sự thay đổi hiệu suất thu hồi FOS theo độ tinh khiết của FOS (CVD)

Hình 4 cho thấy trong quá trình CVD, hiệu suất thu hồi FOS giảm ít khi tăng độ tinh khiết (tức là tăng số bước diafiltration), chủ yếu do không có tổn thất FOS qua dòng permeate. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Feng và cộng sự (2009) [3].

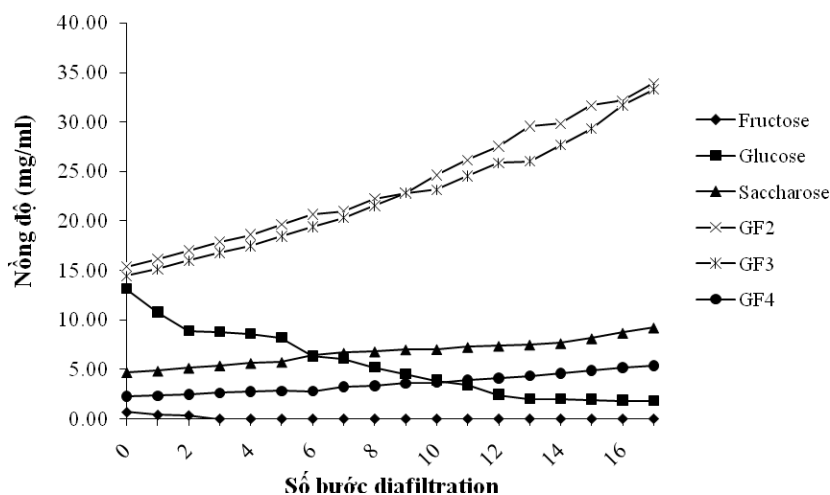
### 3.2. VVD 0,95: 1 (Lưu lượng nước pha loãng : lưu lượng permeate = 0,95 : 1)

Bảng 3. Kết quả thí nghiệm diafiltration VVD 0,95 : 1

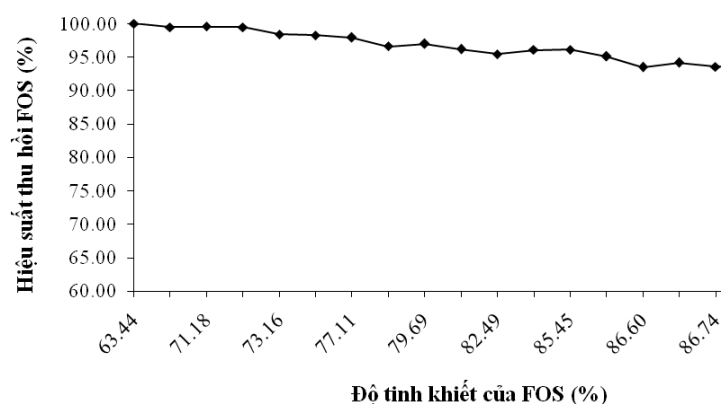
Số bước diafiltration	Nồng độ (mg/ml)						Độ tinh khiết của FOS (%)	Hiệu suất thu hồi FOS Y (%)
	F	G	S	GF <sub>2</sub>	GF <sub>3</sub>	GF <sub>4</sub>		
0	0,68	13,16	4,66	15,37	14,47	2,26	63,44	100
1	0,4	10,8	4,81	16,15	15,15	2,32	67,74	99,46
2	0,35	8,88	5,12	16,98	15,98	2,49	71,18	99,58
3	0	8,79	5,35	17,87	16,81	2,63	72,52	99,52
4	0	8,64	5,61	18,6	17,5	2,75	73,16	98,4
5	0	8,25	5,71	19,61	18,44	2,82	74,54	98,29
6	0	6,34	6,39	20,66	19,43	2,79	77,11	97,91
7	0	6,07	6,65	21,01	20,32	3,24	77,8	96,63

8	0	5,23	6,78	22,25	21,56	3,32	79,69	97,01
9	0	4,51	6,98	22,79	22,84	3,6	81,08	96,20
10	0	3,9	7,02	24,62	23,15	3,67	82,49	95,43
11	0	3,44	7,23	26,13	24,53	3,9	83,64	96,09
12	0	2,44	7,35	27,53	25,85	4,1	85,45	96,10
13	0	2	7,48	29,58	26,01	4,33	86,34	95,10
14	0	1,99	7,62	29,85	27,66	4,57	86,6	93,52
15	0	1,96	8,12	31,68	29,32	4,88	86,73	94,20
16	0	1,86	8,68	32,12	31,68	5,16	86,74	93,59
17	0	1,84	9,21	33,89	33,25	5,38	86,78	93,41

Trong quá trình diafiltration với phương thức VVD, sản phẩm vừa được tinh sạch vừa được cô đặc do thể tích dung dịch giảm. Về cơ bản, đây là quá trình có ưu điểm hơn so với quá trình CVD do lượng nước pha loãng sẽ ít hơn. Tuy nhiên, cần phải lưu ý rằng nếu tỉ lệ lưu lượng nước pha loãng/lưu lượng permeate quá thấp, hiện tượng tập trung nồng độ và hiện tượng fouling có thể xảy ra chỉ trong một thời gian ngắn sau khi lọc, khi đó phải ngừng quá trình lọc và tiến hành vệ sinh phục hồi membrane.



Hình 5. Sự thay đổi nồng độ các đường trong dung dịch FOS theo số bước diafiltration (VVD 0,95 : 1)



Hình 6. Sự thay đổi hiệu suất thu hồi FOS theo độ tinh khiết của FOS (VVD 0,95 : 1)

Với tỉ lệ lưu lượng nước pha loãng/lưu lượng permeate 0,95 : 1, dung dịch FOS vừa được tinh sạch vừa được cô đặc, nồng độ các đường không thấm qua membrane tăng lên. Độ tinh khiết của FOS đạt 86,78% sau 17 bước diafiltration, hiệu suất thu hồi đạt 93%.

### 3.3. VVD 0,90:1 (Lưu lượng nước pha loãng: lưu lượng permeate = 0,90 : 1)

Bảng 4. Kết quả thí nghiệm diafiltration VVD 0,90:1

Số bước diafiltration	Nồng độ (mg/ml)						Độ tinh khiết của FOS (%)	Hiệu suất thu hồi FOS Y (%)
	F	G	S	GF <sub>2</sub>	GF <sub>3</sub>	GF <sub>4</sub>		
0	0,70	13,23	4,63	15,72	14,55	2,24	63,65	100,00
1	0,51	10,26	5,13	17,32	16,02	2,48	69,26	99,09
2	0,00	7,70	5,68	19,30	17,69	2,67	74,77	98,67
3	0,00	5,39	6,17	21,05	19,87	3,06	79,19	98,39
4	0,00	3,50	6,78	23,78	21,89	3,23	82,63	98,36
5	0,00	2,10	7,68	26,43	23,75	3,21	84,52	96,55
6	0,00	1,57	7,76	28,74	26,53	4,24	86,45	96,74
7	0,00	1,40	8,75	32,09	29,63	3,72	86,57	95,62
8	0,00	1,38	9,85	35,82	33,08	4,25	86,69	96,06
9	0,00	1,32	11,07	39,98	36,93	4,84	86,84	96,46

Tương tự như khi áp dụng phương thức VVD 0,95 : 1, dung dịch FOS vừa được tinh sạch vừa được cô đặc, nồng độ các đường không thấm qua membrane tăng lên, tuy nhiên mức độ tăng rõ rệt hơn do lượng nước pha loãng được bổ sung với tỉ lệ thấp hơn. Độ tinh khiết của FOS đạt 86,84% sau 9 bước diafiltration, hiệu suất thu hồi 96,46% (bảng 4).

Khi so sánh các phương thức diafiltration CVD và VVD (tỉ lệ lưu lượng nước pha loãng/lưu lượng nước pha loãng là 0,95 : 1; 0,9 : 1), phương thức VVD tỉ lệ 0,9 : 1 cho kết quả tốt nhất, độ tinh khiết của FOS đạt 86,84% chỉ sau 9 bước diafiltration và hiệu suất thu hồi cũng cao hơn so với các phương thức khác. Tuy nhiên, không thể tiếp tục tăng số bước diafiltration để đạt được độ tinh khiết của FOS cao hơn do hiện tượng tập trung nồng độ hoặc hiện tượng fouling xảy làm ngăn cản các chất tan và nước đi qua membrane. Có thể nói với membrane DS-5-DL, không thể đạt được độ tinh khiết FOS 90% và 95%.

Bảng 5 mô tả tóm tắt số bước diafiltration và hiệu suất thu hồi FOS trong các phương thức diafiltration khác nhau với membrane DS-5-DL và G5.

*Bảng 5. Số bước diafiltration và hiệu suất thu hồi FOS trong các phương thức diafiltration*

<i>Phương thức</i>	<i>Số bước diafiltration</i>	<i>Hiệu suất thu hồi FOS (%)</i>
CVD	12 - 13	96,24
VVD 0,95 : 1	11– 12	96,10
VVD 0,90 : 1	5 - 6	96,60

Như vậy, cả CVD và VVD đều có thể được dùng để tinh sạch FOS một cách thành công, và độ tinh khiết của FOS cao nhất đạt 86,84% với membrane DS-5-DL.

#### 4. KẾT LUẬN

Kĩ thuật diafiltration trong quá trình lọc nano thực sự có hiệu quả trong việc nâng cao độ tinh khiết của FOS.

Cả phương thức CVD và VVD đều có thể được dùng để tinh sạch FOS với membrane DS-5-DL một cách thành công. Độ tinh khiết của FOS cao nhất đạt 86,84% sau 9 bước diafiltration và hiệu suất thu hồi cao (96,46%).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Hồng Ánh, Đồng Thị Anh Đào, Nguyễn Đình Thị Như Nguyễn - Nghiên cứu nâng cao độ tinh khiết FOS bằng công nghệ lọc nano, Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu cấp Thành phố, 2010.
2. Biedrzycka E., Bielecka M. - Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization, Trends in Food Science & Technology **15** (3 - 4) (2004) 170-175.
3. Feng Y. M., Chang X. L., Wang W. H., Ma R. Y. - Separation of galacto-oligosaccharides mixture by nanofiltration, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers **40** (3) (2009) 326-332.
4. Goulas A. K., Kapasakalidis P. G., Sinclair H. R., Rastall R. A., Grandison A. S. - Purification of oligosaccharides by nanofiltration, Journal of Membrane Science **209** (1) (2002) 321-335.
5. Goulas A. K., Grandison A. S., Rastall R. A. - Fractionation of oligosaccharides by nanofiltration, J. Sci. Food Agric **83** (7) (2003) 675-680.



6. Li W., Chen T., Chen C. - Study on nanofiltration for purifying fructooligosaccharide. I. Operation models, *Journal of Membrane Science* **245** (1 - 2) (2004) 123-129.
7. Lin T. J., Lee Y. C. - High-content fructooligosaccharides production using two immobilized microorganisms in an internal-loop airlift bioreactor, *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers* **39** (3) (2008) 211-217.
8. Lipnizki F., Boelsmand J., Madsen R. F. - Concepts of industrial-scale diafiltration systems, *Desalination* **144** (1 - 3) (2002) 179-184.
9. Martinez-Ferez A., Guadix A., Guadix E. M. - Recovery of caprine milk oligosaccharides with ceramic membranes, *Journal of Membrane Science* **276** (1 - 2) (2006) 23-30.
10. Nishizawa K., Nakajima M., Nabetani H. - Kinetic study on transfructosylation by  $\beta$  - Fructofuranosidase from *Aspergillus niger* ATCC 20611 and availability of a membrane reactor for fructooligosaccharide production, *Food Sci. Technol. Res.* **7** (1) (2001) 39-44.
11. Schwartz L. - Diafiltration: A fast, efficient method for desalting, or buffer exchange of biological samples, Scientific & Technical Report PN 33289, Pall Life Sciences, 2003.
12. Valentas K. J., Rotstein E., Singh R. B. - Handbook of food engineering practice, CRC Press, LLC, Boca Raton, Florida, 1997.
13. Wagner J. - Membrane filtration handbook – Practical tips and hints, Osmonics Inc., 2001.
14. Wang L., Yang G., Xing W., Xu N. - Mathematic model of the yield for diafiltration processes, *Separation and Purification Technology* **59** (2) (2008) 206-213.

## SUMMARY

### APPLICATION OF DIAFILTRATION TO INCREASE FRUCTOOLIGOSACCHARIDES' PURITY BY MEMBRANE DS-5-DL

This article presented results of application of diafiltration in fructooligosaccharides by membrane DS-5-DL. Under conditions of temperature of 45°C, feed concentration of 5% (w/v), flow rate of 6 l/min and pressure of 25 bar, applying diafiltration of CVD and VVD, the relationship between FOS's concentration and diafiltration step as well as the correlation between FOS's yield and purity were determined. The highest purity was 86.84% in VVD mode with ratio of flow rate of dilution water/permeate of 0.90/1.

*Địa chỉ:*

*Nhận bài ngày 2 tháng 10 năm 2009*

Lê Thị Hồng Ánh,  
 Trường Đại học Công nghiệp thực phẩm TP. HCM.  
 Đồng Thị Anh Đào,  
 Trường Đại học Bách khoa TP. HCM.  
 Nguyễn Đình Thị Như Nguyệt,  
 AgroParisTech UMR GENIAL.