

TÁCH VÀ LÀM GIÀU HỖN HỢP AXÍT BÉO ω -3 VÀ ω -6 TỪ DẦU TẢO *Schizochytrium mangrovei* PQ6 BẰNG PHƯƠNG PHÁP TẠO PHỨC VỚI URÊ

Lê Thị Thom, Lưu Thị Tâm, Nguyễn Cẩm Hà, Hoàng Thị Lan Anh,
Ngô Thị Hoài Thu, Hoàng Thị Minh Hiền, Đặng Diễm Hồng*

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *ddhong60vn@yahoo.com

TÓM TẮT: Axit béo không bão hòa đa nối đôi thuộc nhóm omega-3 và omega-6 (ω -3/ ω -6-PUFA) như EPA, DHA, DPA có vai trò quan trọng trong sự phát triển toàn diện của trẻ nhỏ, sức khỏe đối với hệ tim mạch, hệ thần kinh và trong nhiều biện pháp điều trị các bệnh ung thư, mất trí nhớ, trầm cảm.... Hiện nay, vi tảo được coi là một ứng cử viên tiềm năng thay thế nguồn sản xuất ω -3 và ω -6 PUFA truyền thống từ dầu cá. Bài báo trình bày kết quả tối ưu hóa điều kiện tách và làm giàu hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 từ dầu tảo *Schizochytrium mangrovei* PQ6 bằng phương pháp tạo phức với urê. Ba yếu tố được sử dụng để nghiên cứu ảnh hưởng là tỷ lệ axit béo tự do (FFA)/urê, tỷ lệ urê/EtOH và nhiệt độ kết tinh. Kết quả thu được cho thấy, hàm lượng axit béo ω -3 và ω -6 (99,29% so với tổng số axit béo) và DHA và EPA (87,83% so với tổng số axit béo) đạt được cao nhất ở tỷ lệ FFA/urê là 1: 4; tỷ lệ urê/EtOH là 1: 9 và nhiệt độ kết tinh tạo phức với urê là 4°C. Các chỉ số hóa lý như axit, peroxyl và iot của hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 thu được trong nghiên cứu cho thấy sản phẩm đảm bảo được yêu cầu về chất lượng cho nguyên liệu dùng để sản xuất thực phẩm, thực phẩm chức năng và dược phẩm.

Từ khóa: Axit béo ω -3, ω -6, tạo phức urê, thực phẩm chức năng.

MỞ ĐẦU

Thành phần quan trọng của cấu trúc và chức năng tế bào ở rất nhiều sinh vật là các axit béo không bão hòa mạch dài đa nối đôi (long chain polyunsaturated fatty acids-LCPUFAs). Hơn hai thập kỷ qua nhiều nghiên cứu lâm sàng đã chứng minh việc tiêu thụ lượng thấp các PUFA thuộc nhóm ω -3 làm gia tăng tỷ lệ mắc các bệnh tim mạch, ung thư, đột quỵ, tiểu đường, bệnh thần kinh [15, 17]. Trong các ω -3 LCPUFA, DHA (docosahexaenoic acid, C22:6 ω -3) và EPA (eicosapentaenoic acid, C20:5 ω -3) có một vai trò quan trọng đặc biệt đối với sự phát triển của não và mắt người, hỗ trợ điều trị ung thư ruột, ung thư tiền liệt tuyến, bệnh trầm cảm, giảm hàm lượng cholesterol trong máu; giảm triglyceride (TG), tăng cường chỉ số thông minh IQ ở trẻ nhỏ. Vì vậy, tổ chức Y tế thế giới đã khuyến cáo việc bổ sung các axit béo này vào sữa cho trẻ nhỏ cũng như đưa ra mức yêu cầu tiêu thụ đối với người trưởng thành [11, 19].

Hiện nay, dầu cá là nguồn cung cấp chính các axit béo ω -3 và ω -6. Tuy nhiên, việc sử dụng dầu cá làm nguồn thức ăn bổ sung bị giới hạn bởi các vấn đề liên quan đến mùi vị, cũng như mức độ ổn định oxi hóa thấp hoặc có thể bị nhiễm các

kim loại nặng và các chất độc khác [14]. Ngoài ra, nguồn cung cấp này khó có thể đáp ứng nhu cầu về LCPUFAs ngày càng tăng do sự suy giảm của quần thể cá ở nhiều đại dương. Các loài vi tảo biển dị dưỡng có thể chứa một lượng lớn các PUFA và chúng được xem là nguồn sản xuất DHA đầy tiềm năng [11, 14]. Trong các nghiên cứu gần đây của chúng tôi đã cho thấy, *Schizochytrium mangrovei* PQ6 là đối tượng tiềm năng cho sản xuất axit béo ω -3 và ω -6 bởi hàm lượng lipit của chúng chiếm trên 70% sinh khối khô, trong đó hàm lượng axit béo ω -3 và ω -6 chiếm đến 60,94% so với tổng số axit béo có trong thành phần axit béo tự do, và hàm lượng DHA và EPA chiếm đến 22,44% và 14,30% so với tổng số axit béo [8]. Thêm vào đó, sinh khối vi tảo này đặc biệt thích hợp cho quá trình tách chiết và tinh sạch LCPUFA, do chúng có thành phần rất ổn định; LCPUFA từ vi tảo nuôi cấy không có cholesterol, không bị nhiễm kim loại nặng hay polychlorobiphenyl và có mùi vị dễ chịu [11, 14].

Có rất nhiều phương pháp khác nhau có thể áp dụng để tách và làm giàu axit béo ω -3 và ω -6 từ dầu cá, dầu thực vật và dầu tảo, trong đó, phương pháp tạo phức với urê được sử dụng

nhiều nhất [16]. Đây là một phương pháp đơn giản, sử dụng dung môi chi phí thấp như methanol hay cồn và chỉ cần thay đổi hàm lượng urê, dung môi sử dụng hay nhiệt độ kết tinh là có thể điều chỉnh được chất lượng sản phẩm tạo thành. Bên cạnh đó, phương pháp tạo phức với urê cũng bảo vệ sản phẩm axit béo ω -3 và ω -6 khỏi quá trình tự oxi hóa. Nhiều tác giả đã sử dụng khả năng tạo phức của urê để tách PUFA ra khỏi hỗn hợp các axit béo tự do được lấy từ dầu thu được từ vi sinh vật, dầu tảo hay dầu cá [9, 12]. Tuy nhiên, điều kiện tối ưu của phương pháp cũng như các kết quả khác nhau mà một số tác giả đạt được, nguyên nhân chủ yếu là do sự khác nhau về thành phần các axit béo có mặt trong nguyên liệu ban đầu và do mục tiêu khác nhau mà các tác giả lựa chọn. Hầu hết các tác giả khác khi nghiên cứu về vấn đề này đều chọn phương pháp tối ưu hóa sao cho LCPUFAs thu được có độ tinh sạch cao nhất mà trong nhiều trường hợp chấp nhận một hiệu suất thu hồi không phải là tối ưu [9, 12].

Trong bài báo này, chúng tôi xác định các điều kiện tối ưu cho quá trình tách và làm giàu axit béo ω -3 và ω -6 từ dầu tảo *S. mangrovei* PQ6 của Việt Nam bằng phương pháp tạo với urê. Các kết quả nghiên cứu đạt được trong công bố này là cơ sở khoa học cho việc mở rộng quy mô tách chiết và làm giàu axit béo ω -3 và ω -6 từ dầu tảo *S. mangrovei* PQ6 theo định hướng ứng dụng làm thực phẩm chức năng và dược phẩm.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng *S. mangrovei* PQ6 được phân lập tại Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang vào năm 2008 do phòng Công nghệ Tảo (Viện Công nghệ Sinh học) cung cấp. Chủng *S. mangrovei* PQ6 thuộc loài *Schizochytrium mangrovei* Raghukumar, chi *Schizochytrium*, ngành Labyrinthulomycota, lớp Labyrinthulea, bộ Labyrinthulida, họ Thraustochytriidae (Hong et al. (2011) [6]; Raghkuma (2008) [14]). Tảo được giữ trên đĩa môi trường GPY theo công bố của Hong et al. (2011) [6]. Giống cấp 1 cho lên men được nuôi cấy trong các bình tam giác 1 lít chứa 350 ml môi trường M1 theo công bố của Hong et al. (2011) [6]. Môi trường lên men (M12) sử dụng cho nuôi trồng ở bình 150 lít có thành phần gồm

glucose 9%, cao nấm men công nghiệp 1% (do Viện Công nghệ Thực phẩm cung cấp), muối biển nhân tạo có hàm lượng NaCl là 1,5%.

Vi tảo *S. mangrovei* PQ6 được nuôi trồng trong bình lên men 150 lít với dịch nuôi là 100 lít môi trường M12 ở nhiệt độ 28°C; pH từ 6,5-7,5, khuấy sục với tốc độ 350-400 vòng/phút. Sau 96 h lên men, dịch tảo được ly tâm ở 4.000 vòng/phút (v/p) trong 10 phút để thu sinh khối. Sinh khối tảo tươi được sấy khô ở nhiệt độ 70-80°C, đóng gói trong các túi nylon được hàn kín và đặt trong bình hút ẩm, tránh ánh sáng trực tiếp hoặc cất giữ trong tủ -20°C cho đến khi được sử dụng làm nguyên liệu để tách chiết dầu tảo.

Dầu tảo được tách chiết từ *Schizochytrium mangrovei* PQ6 bằng phương pháp của Bligh & Dyer (1959) [1] có một số cải tiến phù hợp với điều kiện của Việt Nam [6].

Tách và làm giàu hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 trong dầu tảo bằng phương pháp tạo phức với urê. Dầu tảo được thủy phân thành các axit béo tự do (FFA) theo mô tả trong công trình của Hoàng Thị Minh Hiền và nnk. (2013) [8]. Hòa tan 10 g FFA với urê và cồn theo những tỷ lệ nhất định, hỗn hợp phản ứng được đảo trộn và đun nóng ở 60°C trong 15 phút bằng máy khuấy từ gia nhiệt sau đó được để kết tinh ở nhiệt độ thấp trong thời gian 12-15 giờ. Hỗn hợp thu được gồm 2 pha: pha rắn (chủ yếu chứa các axit béo không no -SFA, saturated fatty acids và các axit béo không no một nối đôi -MUFA, monounsaturated fatty acid) và pha lỏng (chứa các axit béo không no đa nối đôi - PUFA) được lọc bằng giấy lọc để tách pha, Hỗn hợp axit béo thu được được lọc qua muối Na_2SO_4 khan để loại nước dư, tiến hành cất quay chân không ở 70°C để loại bỏ hexane và thu được hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6. Sau đó, hỗn hợp axit béo được rửa bằng nước ấm để loại bỏ EtOH và urea dư thừa. Quá trình này được tiến hành lặp lại 3 lần để bảo đảm loại bỏ hoàn toàn urea dư thừa trong hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 thu được.

Tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ FFA/urê, urê/EtOH, và nhiệt độ kết tinh lên hiệu suất tách và làm giàu hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6. Tỷ lệ hỗn hợp FFA và urê được lựa chọn cho thí nghiệm là 1:1, 1:2, 1:3 và 1:4; tỷ lệ urê và EtOH được khảo sát là 1:6, 1:8, 1:9 và

1:10. Dải nhiệt độ kết tinh được nghiên cứu là 4, 15 và 25°C. Hỗn hợp phản ứng được thực hiện với 10 g FFA và theo nguyên tắc khi nghiên cứu ảnh hưởng của một yếu tố nào đó thì thí nghiệm đều được tiến hành với tất cả các thông số còn lại được giữ nguyên. Sau khi đã lựa chọn được giá trị thích hợp của yếu tố đã được nghiên cứu, giá trị đó được cố định trong các thí nghiệm tiếp theo để khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố còn lại.

Hiệu suất tách các axit béo ω -3 và ω -6 được tính theo công thức sau: $H (\%) = (m1 \times 100)/m^2$. Trong đó, H là hiệu suất tách axit béo ω -3 và ω -6 (%); m1 là khối lượng các axit béo ω -3 và ω -6 thu được sau khi tạo phức với urê (g); m2 là khối lượng axit béo tự do đem phân tách.

Thành phần và hàm lượng axit béo được phân tích bằng máy sắc kí khí HP-6890, ghép nối với Mass Selective Detector Agilent 5973; Cột: HP-5MS (0,25 m \times 30 m \times 0,25 mm); khí mang He; chương trình nhiệt độ: bắt đầu ở 80°C trong 1 phút; tăng lên 150°C với tốc độ tăng

4°C/phút; tiếp theo tăng nhiệt độ lên đến 260°C và giữ trong 10 phút với tốc độ tăng nhiệt độ 10°C/phút. Thư viện phổ khối: WILEY275.L và NIST98.L theo tiêu chuẩn ISO/FDIS 5590: 1998, LB Đức và theo mô tả trong công trình của Đặng Diễm Hồng và nkk. (2007) [7] được tiến hành tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam.

Các đặc tính hóa lý chính của hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 thu được như màu sắc cảm quan, chỉ số axit, peroxyt và iot được xác định, tương ứng, theo TCVN 6127:2010 [18], Nguyễn Văn Mùi (2007) [13] và Phạm Thị Trân Châu và nkk. (1997) [2].

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel và xử lý thống kê ANOVA ở mức ý nghĩa $p \leq 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân tích thành phần axit béo trong dầu tảo *S. mangrovei* PQ6 sau quá trình thủy phân bằng NaOH

Bảng 1. Thành phần và hàm lượng axit béo của dầu tảo *Schizochytrium mangrovei* PQ6 sau quá trình thủy phân bằng phương pháp hóa học

STT	Axit béo	Tên khoa học	Tên thường	Hàm lượng (% so với tổng số axit béo)
1	C14:0	Tetradecanoic acid (14:0)	Myristic	5,085
2	C16:0	Hexadecanoic acid (16:0)	Palmitic	20,478
3	C18:1(ω -9)	Cis-9-Octadecanoic acid	Oleic	3,821
4	C18:2 (ω -6)-t	Trans-9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic	19,441
5	C20:4 ω -6	Arachidonic acid	AA	4,754
6	C20:5 ω -3	Eicosapentaenoic acid	EPA	14,304
7	C22:6 ω -3	Docosahexaenoic acid	DHA	22,438
Tổng số axit béo không bão hòa đa nối đôi ω -3 và ω -6				60,937

Thành phần axit béo là một trong những chỉ tiêu quan trọng nhất đối với các nguyên liệu được sử dụng để sản xuất hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6. Vì vậy, chúng tôi tiến hành phân tích thành phần axit béo trong dầu tảo sau quá trình thủy phân bằng NaOH (bảng 1).

Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy, dầu tảo sau quá trình thủy phân bằng phương pháp hóa học có chất lượng rất tốt vì tổng hàm lượng axit béo ω -3 và ω -6 chiếm 60,94% so với tổng số axit béo-TFA, trong đó, hàm lượng DHA và EPA chiếm 22,44% và 14,30% so với TFA,

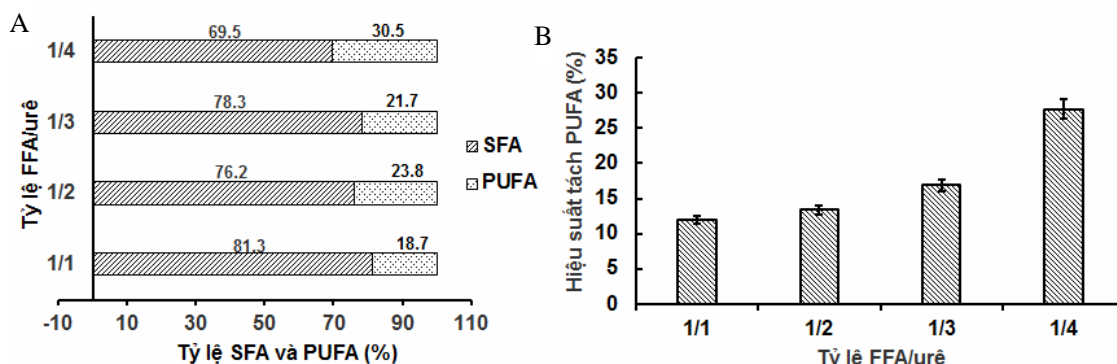
tương ứng.

Ảnh hưởng của tỷ lệ hỗn hợp FFA: urê trong quá trình tách và làm giàu hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6

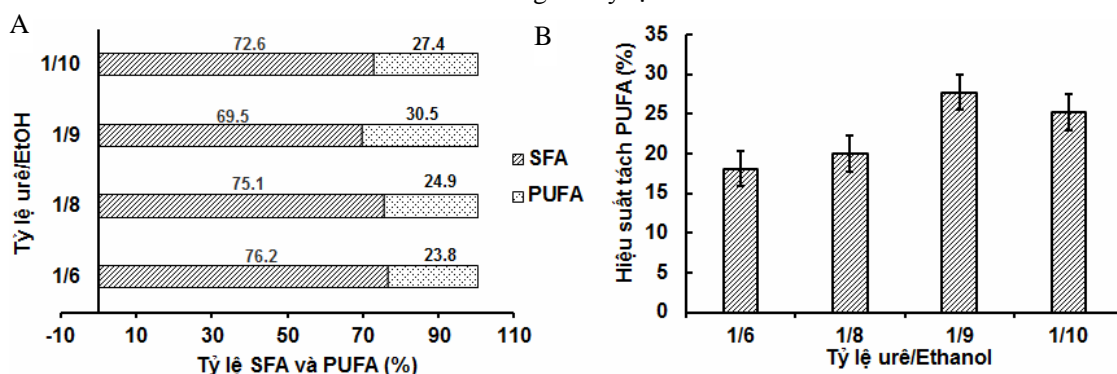
Trong phương pháp tạo phức với urê, tỷ lệ giữa FFA và urê là yếu tố quan trọng quyết định tới độ tinh sạch và hiệu suất thu hồi của PUFA mong muốn. Nếu tỷ lệ này quá nhỏ thì urê sẽ không đủ khả năng tạo phức với tất cả các axit béo no và một nối đôi, do đó độ tinh sạch sẽ không cao. Tuy nhiên, nếu tỷ lệ này quá lớn thì

urê sẽ có khả năng tạo phức với cả một số PUFA, do đó sẽ làm cho hiệu suất thu hồi PUFA thấp và gây lãng phí đối với urê dư thừa, đẩy giá thành sản xuất dầu ω -3 và ω -6 lên cao. Trong thí nghiệm này tỷ lệ FFA và urê được thay đổi từ 1:1 tới 1:4 (hình 1), kết quả ở hình 1 cho thấy, thành phần của SFA trong pha rắn giảm khi giảm tỷ lệ FFA/urê. Ngược lại, thành

phần và hiệu suất tách PUFA tăng khi tăng tỷ lệ FFA/urê từ 1:1 đến 1:4 và đạt giá trị cực đại tại tỷ lệ 1:4. Hiệu suất tách PUFA đạt cao nhất là 27,7% với tỷ lệ 1:4. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả công bố của Grima et al. (1995) [4] khi làm giàu PUFA từ tảo *Isochrysis galbana*. Vì vậy, trong các thí nghiệm tiếp theo chúng tôi lựa chọn tỷ lệ FFA: urê là 1: 4.



Hình 1. Thành phần % SFA và PUFA (A) và hiệu suất tách PUFA (B) theo ảnh hưởng của tỷ lệ FFA : urê



Hình 2. Thành phần % SFA và PUFA (A) và hiệu suất tách PUFA (B) theo ảnh hưởng của tỷ lệ urê : EtOH

Ảnh hưởng của tỷ lệ urê: EtOH trong quá trình tách và làm giàu hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6

Tỷ lệ urê/EtOH cũng có thể ảnh hưởng tới khả năng làm giàu PUFA của phương pháp đã sử dụng. Trong thí nghiệm này, tỷ lệ urê: EtOH được thay đổi từ 1:6 tới 1:10 (hình 2). Kết quả ở hình 2 cho thấy thành phần SFA trong pha rắn giảm khi tăng lượng EtOH sử dụng, tuy nhiên, giữa tỷ lệ 1:9 và 1:10 không có sự khác nhau đáng kể ($p > 0,05$). Thành phần và hiệu suất tách

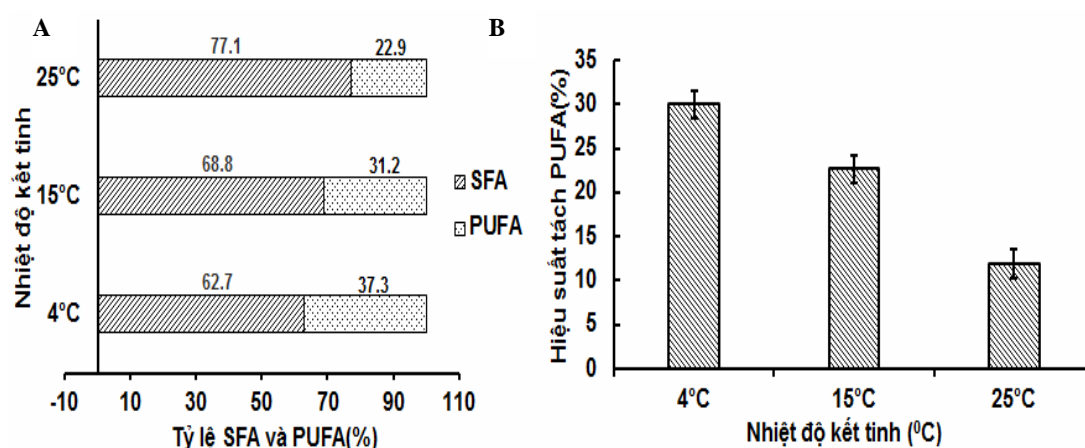
PUFA đạt cực đại tại tỷ lệ 1:9 và bắt đầu có xu hướng giảm ở tỷ lệ 1:10, chứng tỏ, nếu tăng thêm hàm lượng EtOH thì PUFA có khuynh hướng tạo phức với urê làm cho thành phần và hiệu suất tách của nó giảm. Vì vậy, để thu được hàm lượng PUFA cao nhất chúng tôi chọn tỷ lệ urê và EtOH là 1:9.

Ảnh hưởng của nhiệt độ kết tinh trong quá trình tách và làm giàu hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6

Nhiệt độ kết tinh có ảnh hưởng lớn đến độ

tinh sạch và hiệu suất thu hồi PUFA, hơn nữa, nó còn ảnh hưởng tới hiệu quả kinh tế trong quá trình kết tinh. Medina et al. (1995) [10] khảo sát nhiệt độ kết tinh từ -36°C đến 36°C và nhận thấy rằng 4°C là nhiệt độ kết tinh tối ưu cho quá trình thu nhận EPA và DPA từ dầu cá tuyết. Tuy nhiên, Gimenez et al. (1998) [3] 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) [5] lại cho rằng nhiệt độ tạo phức của urê không nên cao hơn 25°C . Chính vì vậy, tham khảo kết quả nghiên cứu của các tác giả đã công bố trên thế giới và điều kiện ở Việt Nam, trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa

chọn 3 ngưỡng nhiệt độ kết tinh là 4 , 15 và 25°C (hình 3). Kết quả ở hình 3 đã cho thấy thành phần SFA tăng khi nhiệt độ tăng, ngược lại, thành phần và hiệu suất tách PUFA tăng khi nhiệt độ giảm. Ở 4°C , hiệu suất tách PUFA đạt mức cao nhất là 30%, điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả của các tác giả khác [5, 9, 10, 12] và có thể được giải thích theo Medina et al. (1995) [10] là urê tạo phức với các SFA bền vững nhất tại 4°C , ở nhiệt độ cao hơn các phức này kém bền vững hơn dẫn đến hàm lượng SFA trong phần không tạo phức tăng, thành phần PUFA giảm. Chính vì vậy, chúng tôi lựa chọn nhiệt độ kết tinh cho quá trình tạo phức với tinh thể urê là 4°C .



Hình 3. Thành phần % SFA và PUFA (A) và hiệu suất tách PUFA (B) theo ảnh hưởng nhiệt độ kết tinh

Phân tích thành phần và hàm lượng axit béo của sản phẩm hỗn hợp ω -3 và ω -6 từ dầu tảo *S. mangrovei* PQ6

Sau khi tối ưu các thông số của quá trình tách và làm giàu các axit béo ω -3 và ω -6, chúng tôi tiến hành phân tích thành phần và hàm lượng axit béo trong sản phẩm hỗn hợp ω -3 và ω -6 từ dầu tảo *S. mangrovei* PQ6 bằng phương pháp sắc ký khí ở điều kiện thí nghiệm là: tỷ lệ FFA/urê là 1:4; tỷ lệ urê/EtOH là 1:9; nhiệt độ kết tinh là 4°C .

Kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy, sản phẩm hỗn hợp axit béo PUFA thu được từ pha lỏng hoàn toàn chỉ chứa các axit béo không bão hòa có số carbon từ 18 đến 22 với tổng hàm

lượng axit béo ω -3 và ω -6 chiếm 99,29% so với tổng số axit béo tự do (bảng 2). Trong đó, hàm lượng (%) DHA và EPA có chứa trong sản phẩm này chiếm đến 87,83 % với hiệu suất thu hồi đạt trên 50%. Kết quả này cho thấy, quá trình tách và làm giàu PUFAs bằng phương pháp tạo phức với urê cho hiệu quả rất cao. Đồng thời, qui trình làm giàu hỗn hợp axit béo theo các điều kiện tối ưu ở trên đảm bảo được yêu cầu về chất lượng cũng như giá thành của dầu sinh học giàu hỗn hợp các axit béo ω -3 và ω -6 (với hàm lượng DHA và EPA trong dầu chiếm hơn 80% so với tổng số axit béo tự do) phục vụ cho mục đích làm thực phẩm chức năng cho người và dược phẩm sau này.

Bảng 2. Thành phần và hàm lượng axit béo trong sản phẩm hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 sau phản ứng tạo phức với urê của dầu *S. mangrovei* PQ6

STT	Axit béo	Tên khoa học	Tên thường	Hàm lượng (% so với FFA)
1	C18:1 (ω -9)	Cis-9-Octadecanoic acid	Oleic	0,714
2	C18:2 (ω -6) -t	Trans-9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic	7,844
3	C18:2 (ω -6) -t	Cis-9,12-Octadecadienoic acid		0,362
4	C18:4 ω -3	Octadecatetraenoate		0,818
5	C20:4 ω -6	Arachidonic acid	AA	0,639
6	C20:3 ω -6	Di homo- γ -Linoleic acid	DGLA	0,719
7	C20:4 ω -3	Eicosatetraenoic acid		1,073
8	C20:5 ω -3	Eicosapentaenoic acid	EPA	2,072
9	C20:5 ω -6	Eicosapentaenoate		14,304
10	C22:6 ω -3	Docosahexaenoic acid	DHA	71,456
Tổng số axit béo không bão hòa đa nối đôi ω -3 và ω -6				99,287
Tổng hàm lượng DHA+EPA				87,832

FFA (free fatty acids): axit béo tự do.

Bảng 3. Kết quả phân tích chất lượng hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 sau phản ứng tạo phức với urê của dầu *S. mangrovei* PQ6

STT	Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Kết quả	
			Dầu Neptune	<i>S. mangrovei</i> PQ6
1	Cảm quan	Màu sắc	Màu vàng sáng	Màu vàng sáng- da cam
2	Chỉ số axit	AV (mg KOH/g)	0,27	143,01
3	Chỉ số peroxyt	PV (meq O ₂ /kg)	1,95	2,82
4	Chỉ số iot	IV (I ₂ /100g)	61,26	83,86

Phân tích chất lượng của sản phẩm hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 từ dầu tảo *S. mangrovei* PQ6

Hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 thu được sau quá trình tạo phức với urê của dầu tảo *S. mangrovei* PQ6 được phân tích chất lượng thông qua các chỉ số như màu sắc cảm quan, chỉ số axit, peroxyt và iot.

Kết quả thu được ở bảng 3 cho thấy hỗn hợp axit béo thu được có màu vàng sáng; chỉ số axit, peroxyt và iot đạt 143,01 mg KOH/g, 2,82 meq O₂/kg và 83,86 I₂/100g, tương ứng, đảm bảo được yêu cầu chất lượng hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 thu được chủ yếu ở dưới dạng tự do để sản xuất thực phẩm, thực phẩm chức năng và được phẩm.

KẾT LUẬN

Điều kiện tối ưu cho tách và làm giàu hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 từ dầu của *S. mangrovei* PQ6 bằng phương pháp tạo phức

với urê gồm: dầu tảo *S. mangrovei* PQ6; tỷ lệ FFA/urê là 1:4; tỷ lệ urê/EtOH là 1:9; nhiệt độ kết tinh tạo phức với urê là 4°C.

Hàm lượng axit béo ω -3 và ω -6 trong sản phẩm hỗn hợp ω -3 và ω -6 sau phản ứng tạo phức với urê chiếm đến 99,29% so với tổng số axit béo tự do. Trong đó, hàm lượng DHA và EPA chiếm đến 87,83 % so với tổng số axit béo tự do.

Các chỉ số hóa lý của hỗn hợp axit béo ω -3 và ω -6 từ dầu tảo *S. mangrovei* PQ6 đảm bảo được yêu cầu về chất lượng cho nguyên liệu dùng để sản xuất thực phẩm, thực phẩm chức năng và được phẩm.

Lời cảm ơn: Công trình được hỗ trợ kinh phí từ đề tài “Nghiên cứu quy trình tách chiết dầu sinh học giàu axit béo ω -3 và ω -6 (EPA, DHA, DPA) từ sinh khối vi tảo biển dị dưỡng” của Bộ Công Thương thuộc Đề án Phát triển và Ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực công nghiệp chế biến đến năm 2020, mã số ĐT.01.13/CNSHCB.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bligh E. G., Dyer W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911-917.
2. Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thị Hiền, Phùng Gia Tường, 1997. Thực hành hóa sinh học. Nxb. Giáo dục, 252 trang.
3. Giménez A. G., González M.J. I., Medina A. R., Grima A. R., Salas A. R., Cerdán L. E., 1998. Downstream processing and purification of eicosapentaenoic (20:5n-3) and arachidonic acids (20:4n-6) from the microalga *Porphyridium cruentum*. *Bioseparation*, 7: 89-99.
4. Grima M. E., Pkrez J. A. S., Camacho F. G., Medina A. R., Giménez A. G., Alonsot D. L., 1995. The production of polyunsaturated fatty acids by microalgae: from strain selection to product purification. *Process Biochem.*, 30: 711-719.
5. Hayes D. G., Bengtsson Y. C., Alstine J. M. V., Setterwall F., 1998. Urea complexation for the rapid, ecologically responsible fractionation of fatty acids from seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75: 1403-1409.
6. Hong D. D., Anh H. T. L., Thu N. T. H., 2011. Study on biological characteristics of heterotrophic marine microalga - *Schizochytrium mangrovei* PQ6 isolated from Phu Quoc Island, Kien Giang province, Vietnam. *J. Phycol.*, 47: 944-954.
7. Đặng Diễm Hồng, Hoàng Minh Hiền, Nguyễn Đình Hưng, Hoàng Sỹ Nam, Hoàng Lan Anh, Ngô Hoài Thu, Đinh Khánh Chi, 2007. Nghiên cứu về quá trình sinh tổng hợp DHA từ các loại vi tảo biển dị dưỡng mới *Labyrinthula*, *Schizochytrium* và ứng dụng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 45: 144-154.
8. Hoàng Thị Minh Hiền, Lưu Thị Tâm, Lê Thị Thơm, Nguyễn Cẩm Hà, Lương Hồng Hạnh, Hoàng Thị Lan Anh, Ngô Thị Hoài Thu, Đặng Diễm Hồng, 2013. Nghiên cứu quá trình tách chiết lipid tổng số và axit béo tự do cho sản xuất dầu ω -3 và ω -6 từ sinh khối vi tảo biển dị dưỡng *Schizochytrium mangrovei* PQ6. *Tạp chí Sinh học*, 35(4): 484-493.
9. Lại Mai Hương, 2007. Tách axit béo không no đa nối đôi từ dầu cá ngừ bằng phương pháp tạo phức với ure. *Tạp chí Hóa học*, 45: 456-460.
10. Medina A. R., Giménez A. G., Camacho F. G., Pérez J. A. S., Grima E. M., Gómez A. C., 1995. Concentration and purification of stearidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids from cod liver oil and the marine microalga *Isochrysis galbana*. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 22: 575-583.
11. Mendes A., Reis A., Vasconcelos R., Guerra P., da Silva T. L., 2009. *Cryptocodinium cohnii* with emphasis on DHA production: a review. *J. Appl. Phycol.*, 21: 199-214.
12. Mendes A., Silva T. L., Reis A., 2007. DHA concentration and purification from marine heterotrophic microalgae *Cryptocodinium cohnii* CCMP 316 by winterization and urea complexation. *Food Technol. Biotechnol.*, 45: 38-44.
13. Nguyễn Văn Mùi, 2007. Thực hành hóa sinh học. Đại học Quốc gia Hà Nội, 205 trang.
14. Raghukumar S., 2008. Thraustochytrid marine protists: production of PUFAs and other emerging technologies. *Mar. Biotechnol.*, 10: 631-640.
15. Robert S. S., 2006. Production of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid-containing oils in transgenic land plants for human and aquaculture nutrition. *Mar. Biotechnol.*, 8: 103-109.
16. Shahidi F., Wanasundara U. N., 1998. Ω 3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 9: 230-240.
17. Song C., Li X., Kang Z., Kadotomi Y., 2007. Ω -3 fatty acid ethyl-eicosapentaenoate attenuates IL-1 β -induced changes in dopamine and metabolites in the shell of the nucleus accumbens: involved with PLA2 activity and corticosterone secretion. *Neuropsychopharmacology*, 32: 736-744.

18. Tiêu chuẩn Việt Nam, 2007. Dầu thực vật - Phương pháp xác định chỉ số axit, TCVN6127: 2007.
19. Ward O. P., Singh A., 2005. Ω -3/6 fatty acids: alternative sources of production. *Process. Biochem.*, 40: 3627-3652.

EXTRACTION AND CONCENTRATION OF ω -3 AND ω -6 FATTY ACIDS MIXTURE FROM ALGAL OIL OF *Schizochytrium mangrovei* PQ6 BY UREA COMPLEXATION METHOD

Le Thi Thom, Luu Thi Tam, Nguyen Cam Ha, Hoang Thi Lan Anh, Ngo Thi Hoai Thu, Hoang Thi Minh Hien, Dang Diem Hong

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

This paper presented the results of optimal condition for extraction and concentration of ω -3 and ω -6 fatty acids mixture from algal oil of *Schizochytrium mangrovei* PQ6 by urea complexation method. Influences of free fatty acid (FFA) to urea ratio, urea to EtOH ratio and crystallization temperature were investigated. The obtained results showed the maximum amount of total ω -3 and ω -6 fatty acids (99.29% of TFA) and content of DHA and EPA (87.83% of TFA) were obtained at a FFA to urea ratio of 1:4, a urea to EtOH ratio of 1:9 and a crystallization temperature of 4°C. The physico-chemical parameters such as oil colour, acid, peroxide and iodine values of ω -3 and ω -6 fatty acids mixture production in this study meet the requirements for quality of the raw material used to produce foods, functional foods and pharmaceutical products.

Keywords: *Schizochytrium mangrovei* PQ6, fatty acids, functional foods, ω -3, ω -6.

Ngày nhận bài: 8-1-2014