

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM HÓA SINH CỦA NGUYÊN LIỆU PHỤC VỤ CHẾ BIẾN DẦU GAN MỰC

BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF RAW MATERIAL USED FOR PROCESSING SQUID LIVER OIL

Bùi Xuân Đông*, Đặng Đức Long, Phạm Trần Vĩnh Phú, Tạ Ngọc Ly, Đoàn Thị Hoài Nam, Lê Lý Thùy Trâm, Võ Công Tuấn

Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng; *xdbui@dut.udn.vn

Tóm tắt - Trong bài báo này, nhóm tác giả trình bày kết quả thí nghiệm xác định thành phần hóa học, đặc điểm hệ enzyme lipase và protease, phân tích khía cạnh vệ sinh y tế của nguồn phụ phẩm chế biến cá mực nhằm phục vụ sản xuất dầu gan mực ở quy mô công nghiệp. Nguyên liệu nội tạng mực và gan mực chứa hàm lượng lipid vào khoảng 22,3-26,7%, hàm lượng protein dao động từ 19,6 đến 28,6 %, hoạt độ của hệ enzyme protease trong khoảng 150-200 UI/g, lipase 170-370 UI/g phụ thuộc vào vùng pH khác nhau. Nguyên liệu an toàn về hàm lượng kim loại nặng, cũng như vi sinh vật. Từ những kết quả của nghiên cứu này, chúng tôi kết luận, có thể sử dụng phụ phẩm mực trên địa bàn TP. Đà Nẵng để chế biến dầu gan mực phục vụ sản xuất thức ăn nuôi tôm.

Từ khóa - dầu gan mực; lipid; protease; lipase; E. Coli; Salmonella; Protein; kim loại nặng.

Abstract - In this article, we present the experimental results of identifying chemical compositions and characteristics of lipase and protease enzymes as well as analyze the aspect of health safety of squid wastes in order to produce squid liver oil industrially. Squid viscera contain a high lipid content of 22.3% -26.7%; protein content of 19.6% -28.6%, protease activity of 150 - 200 UI/g and lipase activity of 370 UI/g at different pH values. These raw materials were found to be safe in heavy metal level and microbial contamination as well. Based on the results of the study, we conclude that these squid by-products can be used to process squid liver oil for producing shrimp feed.

Key words - squid liver oil; lipid; protease; lipase; E.Coli; Salmonella; Protein; Heavy metal.

1. Đặt vấn đề

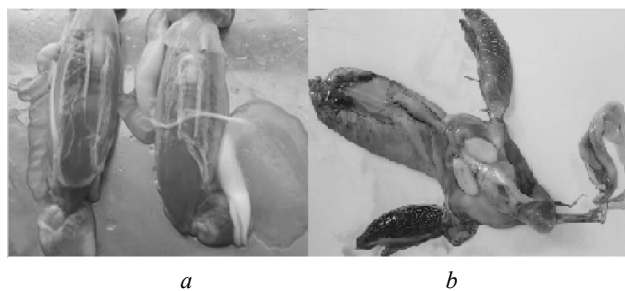
Gan mực và nội tạng mực là nguồn phụ phẩm chế biến thủy sản với trữ lượng khá lớn ở nước ta hiện nay. Trong gan và nội tạng mực chứa hàm lượng lipid khá cao. Thành phần lipid trong phụ phẩm mực đã được chứng minh chứa những axit béo có giá trị dinh dưỡng cao như axit eicosapentaenoic (EPA) và axit docosahexaenoic (DHA). Ngoài ra, thành phần lipid này cũng đã được chứng minh là chất kích thích tiêu hóa và cholesterol rất tốt cho tôm vì hàm lượng cholesterol trong máu ở mức độ ổn định làm cho tôm ít bị bệnh [1]. Hiện nay, dầu gan mực đang được sử dụng rộng rãi trong các nhà máy chế biến thức ăn nuôi tôm, một mặt để tăng giá trị dinh dưỡng và giá trị sinh học, mặt khác làm cho viên thức ăn nuôi tôm tan chậm hơn giúp tôm dễ bắt mồi và hạn chế lượng thức ăn bị hòa tan trong nước, gây lãng phí [2].

Tuy nhiên, hiện nay các nhà máy chế biến thức ăn nuôi tôm nói riêng và chế biến thức ăn chăn nuôi nói chung đang phải nhập khẩu dầu gan mực để phục vụ sản xuất. Vì vậy, trong nghiên cứu này nhóm tác giả đặt mục tiêu nghiên cứu những đặc điểm hóa sinh căn bản của nguồn phụ phẩm nội tạng mực trên địa bàn thành phố Đà Nẵng, nhằm cung cấp thông tin công nghệ phục vụ cho việc sản xuất dầu gan mực bằng nguồn nguyên liệu tại chỗ phục vụ sản xuất thức ăn nuôi tôm thẻ chân trắng và tôm sú.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Phụ phẩm nội tạng mực nang, mực ống tươi bao gồm gan, buồng trứng, ống tiêu hóa... được thu nhận từ Công ty Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Seaprodex trong tháng 10 của năm 2013 (Hình 1). Nguyên liệu sau khi thu nhận sẽ được phân chia ra hai phần nội tạng và gan mực, sau đó phân ra các gói nhỏ (1kg) và bảo quản ở -20°C tại Phòng Thí nghiệm Bộ môn Công nghệ Sinh học – Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng.



Hình 1. Nội tạng mực (a – mực ống; b – mực nang)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu thành phần hóa học và hệ enzyme

+ Hàm lượng protein (%) được xác định bằng phương pháp Kjeldahl.

+ Hàm lượng lipid (%) được xác định bằng phương pháp Soxhlet [12].

+ Hàm lượng nước (%) xác định theo TCVN 3700 – 1990.

+ Hàm lượng tro (%) được xác định theo TCVN 5484:2002 (ISO 930:1997).

+ Xác định hoạt độ enzyme protease theo phương pháp Anson [12].

+ Hoạt độ enzyme lipase được xác định bằng phương pháp chuẩn độ axit béo tự do bằng dung dịch NaOH 0,1N [12].

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu kim loại nặng

+ Hàm lượng Asen xác định bằng phương pháp bạc diethylthiocacamat theo TCVN 7601:2007; Hàm lượng Thủy ngân - phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử không ngọn lửa TCVN 7604:2007; Hàm lượng cadimi - phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử TCVN 7603:2007; Hàm lượng chì - phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử TCVN 7602:2007.

2.2.3. Các phương pháp phân tích các chỉ tiêu vi sinh vật

Định lượng tổng vi sinh vật hiếu khí trên đĩa thạch (TPC) bằng phương pháp đếm khuẩn lạc (theo TCVN 4884:2005/ISO 4833:2003); Phát hiện và định lượng *E. coli* giả định bằng phương pháp MNP (theo TCVN 6846:2007/ISO 7251:2005); Phát hiện *Salmonella* spp. trong thực phẩm theo TCVN 4829:2008/ISO 6579:2002; Phát hiện và định lượng *Vibrio parahaemolyticus* trong thực phẩm theo quyết định 3349/2001/QĐ-BYT; Phát hiện và định lượng *Staphylococcus aureus* trong thực phẩm theo TCVN 4830:2005/ISO 6888-3:2003; Phát hiện và định lượng *Bacillus aureus* giả định trên đĩa thạch- kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C theo TCVN 4992:2005/ISO 7932:2004.

Các kết quả thí được phân tích sai số (Analysis of Variance, ANOVA) và xử lý Duncan để xác định sự sai khác giữa các giá trị trung bình, có ý nghĩa với độ tin cậy $P < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu và khảo sát

3.1. Thành phần hóa học của nguyên liệu gan mực và nội tạng mực

Nghiên cứu thành phần hóa học của nguyên liệu trong chế biến sản phẩm thủy sản từ nguyên liệu sơ cấp và thứ cấp là công việc quan trọng nhằm định hướng các quá trình sản xuất [3, 4, 5].

Bảng 1. Thành phần hóa học của nguyên liệu

STT	Loại nguyên liệu	Hàm lượng, %			
		Nước	Protein	Lipit	Tro
1	Gan mực	48,5±2,2	19,6±0,4	26,7±0,3	5,7±0,5
2	Nội tạng mực	47,6±1,9	22,6±1,1	22,3±0,5	7,5±0,4

Phân tích thành phần hóa học của gan mực và nội tạng mực (Bảng 1) nhận thấy rằng hàm lượng nước, protein, lipit và tro khác nhau không đáng kể.

Kết quả của Bảng 1 cho biết rằng, hàm lượng mỡ trong gan và nội tạng mực khá cao, dao động từ 22,3-26,7% khối lượng chung. Điều này chứng minh được rằng, chúng có thể được dùng để làm nguyên liệu tách chiết dầu gan mực.

3.2. Nghiên cứu các hệ enzyme trong nguyên liệu phụ phẩm mực

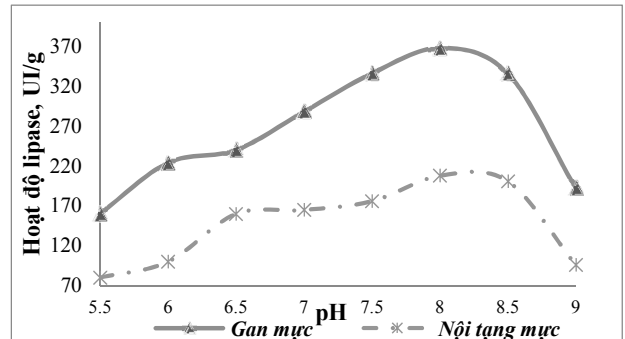
3.2.1. Đặc điểm của hệ enzyme lipase

Lipase (EC 3.1.1.3) thuộc nhóm enzyme thủy phân tác động vào các liên kết este, là enzyme có khả năng xúc tác sinh học cho phản ứng thủy phân chất béo trên bề mặt phân cách pha dầu-nước tạo thành các triglyceride, diglyceride, monoglyceride, glycerol và các acid béo tự do [6]. Vì vậy, muốn bảo quản được dầu gan mực với chất lượng tốt, tránh phản ứng thủy phân liên kết este làm tăng chỉ số axit của dầu gan mực cần có biện pháp thích hợp để bất hoạt hệ enzyme này.

Kết quả nghiên cứu sự ảnh hưởng của pH đến hoạt độ enzyme lipase của gan và nội tạng mực được trình bày trên Hình 2.

Trước đây, đã có rất nhiều nghiên cứu chứng minh khoảng pH tối thích cho hoạt động của enzyme lipase thô chiết tách từ nội tạng cá và mực nằm trong khoảng pH 7.0–9.0 [7], do đó kết quả nhóm tác giả thu nhận được

trong nghiên cứu này là hoàn toàn phù hợp. Nghiên cứu của Kumar cùng cộng sự [8] và Aryee cùng cộng sự [9] đã chỉ ra rằng hoạt tính của dịch enzyme lipase thô từ *Bacillus coagulans* BTS-3 và từ nội tạng của cá đuối *Mugil cephalus* ổn định lần lượt trong khoảng pH 8.0-10.5 và 7.0-10. Hơn thế nữa, trong nghiên cứu của Byung-Soo Chun và cộng sự cũng đã cho thấy rằng hoạt tính của enzyme lipase thô thu nhận từ nội tạng mực đạt cực đại tại giá trị pH 8.5 [10]; Jongwon Park và cộng sự đã khẳng định hoạt tính của enzyme lipase chiết tách và tinh sạch từ mực *Todarodes pacificus* có hoạt tính mạnh nhất ở pH 8.0 trong khoảng nhiệt độ 35-40°C [11]. Phân tích các đường cong, nhận thấy pH = 8,0 là pH tối thích cho hoạt động của enzyme lipase trong mẫu gan và nội tạng mực.

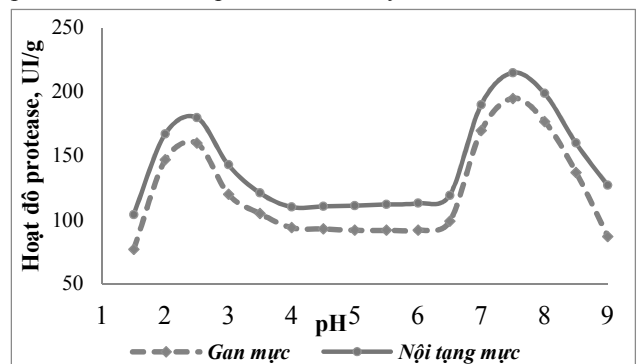


Hình 2. Sự ảnh hưởng của pH đến hoạt độ của enzyme lipase

3.2.2. Đặc điểm hệ enzyme protease trong nội tạng và gan mực

Trong hỗn hợp phụ phẩm gan mực và nội tạng mực, các gồm các sinh chất như protein, lipit, chất màu, các kim loại,... vì vậy muốn thu được sản phẩm dầu gan mực (hoặc dầu mực) tinh sạch ở dạng tự do cần có biện pháp công nghệ nhằm loại bỏ các phân khác như là protein. Vì vậy, việc nghiên cứu khám phá hệ enzyme protease của nguồn nguyên liệu này là công việc quan trọng.

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã nghiên cứu hoạt tính enzyme protease của gan mực và nội tạng mực ở các vùng pH khác nhau. Kết quả được trình bày trên đồ thị Hình 3.



Hình 3. Sự ảnh hưởng của pH đến hoạt độ enzyme protease

Từ Hình 3, nhận thấy rằng hệ enzyme protease trong nội tạng mực có hoạt độ lớn hơn so với trong gan.

Theo kết quả khảo sát (Hình 3) cho thấy có 2 vùng pH tối ưu cho hoạt động của hệ enzyme protease trong nguyên liệu là vùng pH kiềm (7÷8) và vùng pH acid (2÷2,5). Điều này là phù hợp với những nghiên cứu trước đây của các tác giả khác [4].

Kết quả khảo sát trên có ý nghĩa thực tiễn lớn trong việc

nghiên cứu thu hồi lipid từ gan và nội tạng mực bằng phương pháp hóa sinh. Có thể định hướng sản xuất dầu gan mực bằng phản ứng enzyme protease thủy phân phần protein trong nguyên liệu, sau đó tách chiết được lipid ở dạng tự do mà không ảnh hưởng tới chất lượng lipid.

3.3. Nghiên cứu mức độ an toàn vi sinh vật và kim loại nặng trong nguyên liệu

3.3.1. An toàn vi sinh vật

Tương phản với hầu hết các phương pháp đánh giá chất lượng khác, các phương pháp vi sinh mặc dù không đưa ra thông tin về độ tươi hoặc chất lượng làm thực phẩm nhưng chúng cho chúng ta nhận biết về chất lượng vệ sinh và về sự có mặt có thể có của vi khuẩn gây bệnh [5] của nguồn phụ phẩm phục vụ chế biến dầu gan mực.

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu khảo sát các chỉ số vi sinh vật

STT	Tiêu chuẩn	Gan mực	Nội tạng mực
1	Tổng vi sinh vật hiếu khí (số VSV/g)	$2 \cdot 10^2$	$1,7 \cdot 10^2$
2	Vi khuẩn đường ruột trong 1g	Không tìm thấy	Không tìm thấy
3	<i>S. aureus</i> trong 0,1g	Không tìm thấy	Không tìm thấy
4	<i>E.coli</i> trong 1g	Không tìm thấy	Không tìm thấy
5	<i>Salmonella</i> spp. trong 25g	Không tìm thấy	Không tìm thấy
6	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> trong 25g	Không tìm thấy	Không tìm thấy

Sau khi đối chiếu với qui định hiện hành của Việt Nam về các giới hạn ô nhiễm vi sinh trong mẫu thủy sản làm thức ăn trực tiếp cho con người, nhóm tác giả đã chứng minh được rằng mẫu nội tạng mực từ nhà máy chế biến thủy sản Seaprodex Đà Nẵng đảm bảo yêu cầu về an toàn thực phẩm để sử dụng làm nguyên liệu sản xuất dầu gan mực.

Ngoại lệ, chỉ tiêu *E.coli* trong nguồn nguyên liệu này dù vẫn trong mức cho phép dành cho nguyên liệu thủy sản tươi sống nhưng lại cao hơn mức cho phép trong thực phẩm dùng trực tiếp cho con người hoặc làm thức ăn nuôi tôm cá (TCVN 6404: 2007).

3.3.2. Hàm lượng kim loại nặng

Hàm lượng lớn kim loại nặng trong thức ăn chăn nuôi có thể là nguyên nhân dẫn tới nhiều bệnh nguy hiểm [1]. Vì thế, nhóm tác giả tiến hành nghiên cứu cho 2 mẫu nguyên liệu: nội tạng mực tại Công ty Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Seaprodex (M₁); Gan mực tại Công ty Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Seaprodex (M₂).

Bảng 2. Hàm lượng các kim loại nặng trong các mẫu nguyên liệu (ĐVT: µg/kg)

STT	Mẫu	Chi (Pb)	Cadimi (Cd)	Asen (As)	Thủy ngân (Hg)
1	M ₁	0,38	19,46	12,71	0,49
2	M ₂	0,32	15,33	15,93	0,51

Kết quả khảo sát ở Bảng 2 cho thấy: hàm lượng Chi trong gan và nội tạng mực nằm trong khoảng 0,32 đến 0,38 µg/kg. Hàm lượng Cadimi trong gan và nội tạng mực nằm trong khoảng 15,33 đến 19,46 µg/kg. Hàm lượng Asen trong gan và nội tạng mực nằm trong khoảng 12,71 đến

15,93 µg/kg. Hàm lượng Thủy ngân trong gan và nội tạng mực nằm trong khoảng 0,49 đến 0,51 µg/kg.

Hàm lượng kim loại nặng trong gan và nội tạng mực thấp hơn nhiều so với mức cho phép của QCVN 8-1:2011/BYT, Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với kim loại nặng trong thực phẩm.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả trình bày kết quả nghiên cứu thành phần hóa học, đặc điểm hệ enzyme lipase và protease và phân tích khía cạnh vệ sinh y tế của nguồn phụ phẩm chế biến cá mực nhằm phục vụ sản xuất dầu gan mực ở quy mô công nghiệp. Nguyên liệu nội tạng mực và gan mực chứa hàm lượng lipid khá cao (22,3 - 26,7%), hàm lượng protein dao động từ 19,6 đến 28,6%, hoạt độ của hệ enzyme protease khá mạnh (150 - 200 UI/g), lipase (170 - 370 UI/g) dao động trong các vùng pH khác nhau và an toàn về kim loại nặng, cũng như vi sinh vật. Từ những dữ liệu phân tích về đặc điểm công nghệ như trên, nhóm nghiên cứu đi đến kết luận, có thể sử dụng phụ phẩm mực trên địa bàn TP. Đà Nẵng để chế biến dầu gan mực phục vụ sản xuất thức nuôi tôm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Байдалинова Л.С., Лысова А.С., Мезенова О.Я., Сергеева Н.Т., Биотехнология морепродуктов, Мир, 2006, 506 стр.
- [2] Đặng Thị Mộng Quyên, Trần Thị Xô, Nghiên cứu tận dụng các phế liệu để sản xuất dịch cao đạm dùng trong thức ăn nuôi tôm cá, *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển Nông thôn*, 2006, số 16, trang 41-43.
- [3] Nguyễn Trọng Cẩn, Đỗ Minh Phụng, Nguyễn Việt Dũng, Nguyễn Anh Tuấn, *Công nghệ chế biến thực phẩm thủy sản*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 2001, 379 trang.
- [4] Bui Xuan Dong, The assessment of activity of protease enzyme extracting from meat and from internal organs of farmed-fishes in using them to produce non-pasteurizing canned product, *Journal Vestnik ASTU "General scientific"*, 2009, № 1, p. 137 – 140.
- [5] Lê Văn Hoàng, *Cá thịt và chế biến công nghiệp*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2004, 247 tr.
- [6] GS.TSKH. Phạm Thị Trân Châu, PGS.TS. Phan Tuấn Nghĩa, *Công nghệ sinh học, tập 3: Enzyme và ứng dụng*, NXB Giáo dục, Hà Nội, 2006, 195 trang.
- [7] Ivan Kurtovic, S.N.M., Features: Potential of fish by-products as a source of novel marine lipases and their uses in industrial applications, *Lipid Technology*, February 2013, №25(2), p. 35-37.
- [8] Kumar, S., Kikon K., Upadhyay A., Kanwar S.S. and Gupta R., Production, purification, and characterization of lipase from thermophilic and alkaliphilic *Bacillus coagulans*, *Protein Expr. Purif.*, 2005, №41, p. 38-44.
- [9] Aryee, A.N.A., Simpson B. K., and Villalonga R., Lipase fraction from the viscera of grey mullet (*Mugil cephalus*): Isolation, partial purification, and some biochemical characteristics, *Enzyme Microb. Technol.*, 2007, №40, p. 394-402.
- [10] Salim Md., Uddin H.-M.A., Hideki Kishimura, and Byung-Soo Chun, Comparative Study of Digestive Enzymes of Squid (*Todarodes pacificus*) Viscera after Supercritical Carbon Dioxide and Organic Solvent Extraction, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2009, №14, p. 338-344.
- [11] Jongwon Park, S.-Y.C.S.-J.C., Purification and characterization of hepatic lipase from *Todarodes pacificus*, *BMB reports*, 2008, № 41(3), p. 254-258.
- [12] Hà Duyên Tư, *Phân tích hóa học thực phẩm*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2013, 323 trang.