

MỘT VÀI THÀNH PHẦN HÓA SINH TRONG LOÀI TRÌA MỠ (*MERETRIX MERETRIX* LINNE)

¹Nguyễn Quốc Khang, ¹Trần Thị Long, ²Đào Việt Hà

¹ Đại Học Khoa Học Tự Nhiên Hà Nội, ² Viện Hải Dương Học (Nha Trang)

TÓM TẮT Bằng các phương pháp hóa sinh và hóa lý thông thường; việc tách chiết, phân chia và xác định hoạt tính sinh học của thành phần hóa sinh có trong loài Trìa Mỡ (*Meretrix meretrix* Linne) đã được tiến hành nhằm giúp cho việc sử dụng một cách hợp lý đối với loài này. Qua nhiều thăm dò và thử nghiệm, chúng tôi đã thu được các kết quả tóm tắt như sau:

Hàm lượng Protein hòa tan trong Trìa mỡ (cả phần dịch và phần cơ) nhìn chung đều thấp, khoảng dưới 1mg/g thể trọng.

Hoạt độ của enzyme protease ở các mẫu Trìa rất khác nhau, thấp nhất là mẫu dịch kết tủa (DHPkt = 13,36 mcg/ml hay 13,66 DV/mg protein) và cao nhất ở các mẫu dịch nguyên và tươi (DHP = 10.240 DV/ml), cơ Trìa kết tủa (CHPkt = 76,64 mcg/ml) và bảo quản (DHPk = 96,64 mcg/ml) (tính theo hoạt động riêng là từ 13,66 đến 76,69 DV/mg protein).

Trong cùng điều kiện bảo quản có chất kháng khuẩn (Natriazit) và lạnh sâu, enzyme urease của Trìa Mỡ bị mất hoạt tính trong khi enzyme amylase và protease lại có hoạt tính cao (hoạt độ của amylase tăng 1,5 lần so với dịch ban đầu).

Cả hai enzyme catalase và peroxidase đều giảm hoạt tính nhiều hoặc hầu như mất hoạt tính hoàn toàn khi có chất kháng khuẩn. Riêng ở điều kiện lạnh sâu, các enzyme này mất hoạt động từ 30 – 60%.

Hoạt động lectin trong các mẫu Trìa Mỡ khá cao, chủ yếu tập trung ở phần dịch cơ thể, ví dụ như mẫu DHPkt và DH = 10.240 DV/g (10.470,35 DV/mg protein và 14.712,64 DV/mg protein). Ở mẫu cơ thì cả Trìa thu ở Hải Phòng và Huế chỉ có hoạt động lectin từ 320 đến 640 DV/g. Đặc biệt, lectin trong phần dịch hầu như mất hoạt động hoàn toàn khi bảo quản sau một tuần trong điều kiện lạnh sâu và có chất kháng khuẩn.

SOME BIOCHEMICAL CONTENTS IN *MERETRIX MERETRIX* LINNE

¹Nguyen Quoc Khang, ¹Tran Thi Long, ²Dao Viet Ha

¹ University of Natural Sciences - Hanoi, ² Institute of Oceanography (Nha Trang)

ABSTRACT By using of general biochemical and physicochemical methods; the extraction, separation and estimation of bioactivity of biochemical contents in *Meretrix meretrix* Linne have been carried out in order to use this species conformably. In many investigations and testes, we have results as follows:
The content of soluble protein in *Meretrix meretrix* Linne (both juice and muscle parts) was quite low generally (< 1mg/g weight).

The activity of Protease was quite different among Meretrix meretrix samples, with minimum in precipitated extract (DHPkt = 13.36 mcg/ml or 13.66 DV/mg protein) and maximum in original and fresh extracts (DHP = 10,240 DV/ml), precipitate of muscle extract (CHPkt = 76.64 mcg/ml) and stored sample (DHPkk = 96.64 mcg/ml) (calculated in specific activity: 13.66 – 76.69 DV/mg protein).

At the same preserved conditions with antibacterial compound (Natriazit) and deep freeze, the activity of enzyme Urease in Meretrix meretrix Linne was lost while enzyme Amylase and Protease exhibited high activities (the activity of amylase was 1.5 times as original extract).

The activities of both Catalase and Peroxidase in Meretrix meretrix Linne were decreased remarkably or almost lost their activities in the present of antibacterial compound (Natriazit). In the deeply frozen condition, the activities of these enzymes were lost about 30 – 60%.

The activity of Lectin in Meretrix meretrix Linne samples was quite high, mainly in body juice, for example in DHPkt and DH = 10,240 DV/ml (10,470.35 DV/mg protein and 14,712.64 DV/mg protein). In both muscle samples of Meretrix meretrix Linne collected in Haiphong and Hue, the activities were only about 320 - 640 DV/g. Especially, Lectin in juice was almost lost the activity after one week in deep freeze with the present of antibacterial compound.

I. MỞ ĐẦU

Một trong những hướng nghiên cứu của công nghệ sinh học đang được nhiều người quan tâm là thăm dò, tìm kiếm biện pháp khai thác các hợp chất có hoạt tính sinh học cao từ tài nguyên thiên nhiên. Trong một vài thập kỷ vừa qua, nhiều nước trên thế giới đã dùng loài Trìa Mỡ (*Meretrix meretrix* Linne) (có nơi còn gọi là con Ngao) để chế biến thức ăn giàu đạm, sản xuất thức ăn tinh hay thức ăn đóng hộp...Việt Nam cũng đã có phương hướng nuôi loài này tại nhiều vùng ven biển từ Bắc vào Nam, để phục vụ cho mục đích xuất khẩu, chế biến thức ăn, chế biến nước mắm...

Song việc khai thác, nuôi và sử dụng loài Trìa Mỡ hiện nay về cơ bản

vẫn chỉ là theo thói quen và dân gian. Do đó cần có một đề tài “Thăm dò một vài thành phần hóa sinh trong con Trìa Mỡ” nhằm cung cấp những dẫn liệu khoa học cho việc nuôi và chế biến Trìa Mỡ có năng suất cao, chất lượng tốt. Đồng thời muốn tìm hiểu ảnh hưởng của các thành phần hóa sinh đến tích lũy và hoạt tính của lectin ở Trìa Mỡ mà chúng tôi đã phát hiện trong những năm qua.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Trìa Mỡ (*Meretrix meretrix* L.) thu thập ở các vùng ven biển Hải Phòng, Hải Hậu (Nam Định) và Thừa Thiên - Huế. Mẫu tươi, ở giai đoạn

trưởng thành, mang về rửa sạch, thấm khô, tách bỏ vỏ cứng, thu phần dịch và phần cơ riêng dùng làm mẫu nghiên cứu. Phần cơ được nghiền nhỏ, chiết rút bằng đệm PBS (Phosphate Buffer Salt) 0,05 M có pH 8,0.

Hồng cầu các nhóm máu A, B, O và AB do bệnh viện Bạch Mai Hà Nội cung cấp. Trước khi dùng, hồng cầu được rửa sạch bằng nước muối sinh lý (NaCl 0,9%) và pha loãng có nồng độ 2% trong nước muối sinh lý.

Các hóa chất khác dùng dưới dạng tinh khiết phân tích của các hãng nước ngoài.

2. Phương pháp

Xác định protein hòa tan theo phương pháp Lowry [2].

Xác định hoạt độ các enzym protease, urease, amylase, lipase, catlase và peroxidase theo những điều mô tả trong thực tập sinh hóa học [3].

Xác định ngưng kết hồng cầu theo những điều mô tả của Gebauer [1].

III. KẾT QUẢ VÀ NHẬN XÉT

1. Hàm lượng protein hòa tan trong các mẫu Trìa Mỡ

Sau nhiều lần thăm dò và phân tích, chúng tôi đã thu được các kết quả ghi trong bảng 1.

Bảng 1: Hàm lượng protein hòa tan trong các phần con Trìa Mỡ

Mẫu Trìa Mỡ	mg/g	mg/ml
Dịch Trìa Mỡ Hải phòng (DHp)	0,870 – 0,885	0,435 – 0,462
Cơ Trìa Mỡ Hải phòng (CHp)	0,822 – 0,853	0,411 – 0,437
Dịch Trìa Mỡ Huế (DH)	0,696 – 0,712	0,247 – 0,285
Cơ Trìa Mỡ Huế (CH)	0,851 – 0,934	0,450 – 0,473
DHp bảo quản ở 4 ⁰ C có chất kháng khuẩn (DHpkk)	0,875 – 0,892	0,456 – 0,473
DHp bảo quản lạnh sâu (- 10 ⁰ C)= DHplạnh	0,942 – 0,985	0,451 – 0,476

(Ghi chú: các chữ ký hiệu trong bảng này còn dùng cho cả các diễn giải sau)

Từ các kết quả bảng 1 cho thấy:

Các mẫu khác nhau có hàm lượng protein khác nhau. Cao nhất là mẫu cơ Trìa Huế và thấp nhất là dịch Trìa Huế. Còn ở Trìa Hải Phòng, giữa mẫu cơ và dịch ít khác nhau.

Cả hai mẫu dịch Trìa bảo quản sau 10 ngày, hàm lượng protein không mất đi mà có phần cao hơn một chút. Hiện tượng này có thể do có tác dụng của kháng khuẩn và lạnh sâu đã ngăn ngừa sự xâm nhiễm của vi khuẩn, mặt

khác tốc độ tự phân còn diễn ra chậm chạp nên làm cho hàm lượng protein hòa tan tăng lên chút ít.

2. Hoạt độ protease từ các mẫu Trìa Mỡ

Bằng phương pháp Ansom cải tiến, thực hiện phép phân tích ở các mẫu Trìa đã được xử lý khác nhau (bảng 1). Các kết quả phân tích trình bày tóm tắt trong bảng 2.

Bảng 2: Hoạt độ protease trong các mẫu Tria Mỡ xử lý khác nhau

Mẫu	Hoạt độ	
	mcg Tyr/ml	Đơn vị/mg protein
DHp	33,36 ± 1,668	76,69
DHp kết tủa (DHpkt)	13,36 ± 0,735	13,66
CHp	16,72 ± 0,816	18,89
CHp kết tủa (CHpkt)	26,64 ± 1,532	32,66
DH	23,38 ± 1,308	33,56
CH	10,05 ± 0,652	33,33
DHpkk	96,64 ± 5,122	71,37
DHp lạnh	56,98 ± 2,713	44,31

Các dẫn liệu trong bảng cho thấy:
 - Các mẫu dịch (DHp) và mẫu dịch bảo quản khi có chất kháng khuẩn thì hoạt độ của enzym protease ít thay đổi (tính theo đơn vị hoạt độ/mg protein) và tương đối cao. Còn các mẫu dịch kết tủa (DHpkt, CHpkt) và dịch cơ (CHp, CH), có hoạt độ riêng của enzym đều thấp. Điều đó có thể giảm hay mất đi yếu tố kích thích hoạt độ của enzym. Enzym protease trong Tria Mỡ có thể

khai thác ở dịch nguyên hay bảo quản trong các điều kiện có chất kháng khuẩn hay lạnh sâu trong thời gian nhất định.

3. Hoạt độ enzym urease trong các mẫu Tria Mỡ

Với cơ chất là ure, chúng tôi đã tiến hành xác định hoạt độ enzym urease ở tất cả các mẫu Tria Mỡ. Các kết quả thu được tóm tắt trong bảng 3.

Bảng 3: Hoạt độ urease trong các mẫu Tria Mỡ xử lý khác nhau

Mẫu	Hoạt độ	
	mg N/ml	mcg N/mg protein
DHp	0,430	4,95
DHp kt	0,479	5,08
CHp	0,213	2,82
CHp kt	0,489	5,32
DH	0,355	5,10
CH	0,213	0,71
DHpkk	0,000	0,00
DHp lạnh	0,000	0,00

Qua kết quả bảng 3 chứng tỏ rằng:
 - Enzym urease trong các mẫu Tria Mỡ bình thường hoạt động khá

mạnh, trong đó enzym từ cơ hoạt động yếu hơn từ dịch khoảng 2 lần.
 - Trong điều kiện kết tủa thì hoạt độ của enzym có tăng lên chút ít ở cả

phần cơ lẫn phân dịch. Điều đó có thể do: (1) trong điều kiện kết tủa ion muối có ảnh hưởng đến hoạt động của enzym, hoặc (2) trong điều kiện kết tủa đã loại bỏ nhiều yếu tố có ảnh hưởng đến hoạt động enzym này.

- Đặc biệt, enzym urease mất hoạt động hoàn toàn khi bảo quản trong điều kiện lạnh sâu (-10°C) hay có chất kháng khuẩn. Hiện tượng này có thể do bản chất protein-enzym có những đặc tính riêng không thích hợp với các điều kiện bảo quản trên hoặc trong các điều kiện bảo quản enzym mất hoạt động do các quá trình tự

phân hay làm thay đổi trung tâm hoạt động... Nhưng dù trường hợp nào thì đây cũng là một dấu hiệu có lợi đối với công việc sản xuất thực phẩm từ Trìa Mỡ (nước mắt, đồ hộp...).

4. Hoạt độ enzym lipase trong các mẫu Trìa Mỡ

Các mẫu Trìa Mỡ xác định lipase bằng cách cho dịch enzym tác dụng với cơ chất dầu lạc qua đêm ở nhiệt độ phòng, sau 20 giờ đem chuẩn độ bằng NaOH 0,05 N. Các kết quả thu được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4: Hoạt độ lipase trong các mẫu Trìa Mỡ xử lý khác nhau

Mẫu	Hoạt độ	
	ml NaOH/ml	Đơn vị/mg protein
DHp	0,50	1,23
DHpkt	2,50	2,78
CHp	1,50	1,98
CHpkt	1,50	1,60
DH	2,80	3,47
CH	3,40	2,13
DHpkk	3,50	3,69
DHp lạnh	2,70	1,99

Các mẫu Trìa Mỡ xử lý các điều kiện khác nhau thì hoạt động của enzym lipase cũng rất khác nhau. Enzym lipase hoạt động mạnh trong các dịch Trìa như dịch đã kết tủa (DHpkt, DH, CH, DHpkk). Còn các mẫu khác thường hoạt động yếu, nhất là dịch Trìa Mỡ Hải Phòng.

Đặc biệt, khi có chất kháng khuẩn thì hoạt động của enzym lipase trong các mẫu bảo quản tăng lên đáng

kể. Nguyên nhân của hiện tượng này còn chưa rõ bản chất, nên còn cần có những nghiên cứu tiếp theo để có những giải thích thỏa đáng hơn.

5. Hoạt độ enzym amylase từ các mẫu Trìa Mỡ

Qua thăm dò và phân tích từng mẫu cụ thể, chúng tôi thu được kết quả trình bày trong bảng 5.

Bảng 5: Hoạt độ amylase trong các mẫu Trĩ Mỡ xử lý khác nhau

Mẫu	Hoạt độ	
	MgGluc/ml	Đơn vị/mg protein
DHp	1,50	1,72
DHpkt	1,50	1,53
CHp	1,45	1,67
CHpkt	1,35	1,44
DH	1,13	1,62
CH	1,50	0,50
DHpkk	1,55	1,82
DHp lạnh	1,40	1,03

Từ kết quả bảng 5 cho thấy:

Đặc điểm khác biệt của enzym amylase so với các enzym khác trong cùng mẫu là amylase có mặt ở cả phần dịch và phần cơ tương đối giống nhau, trừ đối với mẫu cơ Huế (có hoạt độ riêng thấp). Điều đó có thể do cơ Trĩ Huế còn chứa nhiều tạp chất mà chưa rõ bản chất. Kết quả này cũng được tiến hành điện di trên gel polyacrylamid có cơ chất [4] cho thấy thành phần amylase trong các mẫu Trĩ tương đối đơn giản và có khối lượng phân tử tương đối lớn, vì các băng điện di có hoạt động amylase di chuyển rất chậm. Điều đáng quan tâm là ở dịch Trĩ Huế (DH), phát hiện thấy có tới 5 băng protein có hoạt động amylase, nhưng lại có hoạt độ yếu.

6. Enzym catalase và peroxidase từ các mẫu Trĩ Mỡ

Cả hai enzym này đều tham gia trong quá trình oxy hóa khử ở cả phần dịch và phần cơ, chúng có vai trò chủ đạo trong việc phân giải hydroxyperoxid (H_2O_2), nhưng ở mức độ khác nhau phụ thuộc vào nồng độ H_2O_2 và chất khử. Khi nồng độ H_2O_2 thấp mà có mặt chất khử thì tác dụng của peroxidase, còn khi nồng độ H_2O_2 cao thì lại do tác dụng của catalase. Do các enzym này có đặc thù riêng như vậy nên chúng được xác định hoạt độ bằng hai phương pháp khác nhau. Catalase xác định bằng cách chuẩn độ $KMnO_4$, còn peroxidase xác định bằng so màu. Các kết quả phân tích được trình bày tóm tắt trong bảng 6 và 7.

Bảng 6: Hoạt độ catalase trong các mẫu Trĩ Mỡ xử lý khác nhau

Mẫu	Hoạt độ	
	mg H_2O_2 /ml	Đơn vị/mg protein
DHp	10,71	12,36
DHpkt	10,54	10,78
CHp	11,39	13,86
CHpkt	11,39	12,18
DH	10,71	15,39
CH	12,92	4,31
DHpkk	0,17	0,20
DHp lạnh	11,38	8,47

Bảng 7: Hoạt độ peroxidase trong các mẫu Trĩ Mỡ xử lý khác nhau

Mẫu	Hoạt độ	
	Tỷ lệ %	Đơn vị/mg protein
DHp	100,00	0,51
DHpkt	11,76	0,06
CHp	62,75	0,32
CHpkt	54,90	0,28
DH	62,75	0,32
CH	21,57	0,11
DHpkk	7,84	0,04
DHp lạnh	27,54	0,14

Nhìn vào bảng 6 và 7 chúng ta thấy cả hai enzym này ở các mẫu Trĩ Mỡ đều có độ hoạt động tương đối thấp, nhất là peroxidase. Mặt khác cả hai enzym khi bảo quản lạnh, nhất là khi có mặt chất kháng khuẩn đều có độ hoạt động riêng rất thấp, còn catalase mất hoạt động hoàn toàn. Cả hai enzym này đều được điện di trên gel polyarylamid riêng biệt [4]. Kết quả điện di cũng thể hiện hàm lượng các enzym này trong Trĩ Mỡ rất thấp.

Đặc biệt, peroxidase thì hầu như không phát hiện được bằng điện di thông thường.

7. Hoạt độ lectin trong các mẫu Trĩ Mỡ

Các mẫu Trĩ Mỡ xử lý khác nhau, lấy mỗi mẫu 0,05 ml đem làm phản ứng gây ngưng kết với hồng cầu nhóm máu O. Các kết quả thu được tóm tắt trong bảng 8.

Bảng 8: Hoạt độ lectin trong các mẫu Trĩ Mỡ xử lý khác nhau

Mẫu	Hoạt độ	
	(DV/ml)	DV/mg protein
DHp	2.560	5.885,06
DHpkt	10.240	10.470,35
CHp	320	389,29
CHpkt	640	684,49
DH	10.240	14.712,64
CH	640	213,33
DHpkk	80	94,01
DHp lạnh	80	59,08

Qua kết quả bảng 8 chứng tỏ các mẫu Trĩ Mỡ trong mọi điều kiện đều còn hoạt động của lectin, tuy nhiên các mẫu dịch kết tủa và dịch Trĩ Huế là

những mẫu có hoạt độ rất cao (DHpkt và DH) đều là 10.240 đơn vị/ml và hoạt động riêng của các mẫu này cũng cao nhất (10.470,35 và 14.712,64 đơn vị/mg

protein). Ngược lại khi bảo quản trong điều kiện lạnh và có chất kháng khuẩn sau 10 ngày hoạt độ lectin hầu như mất hoàn toàn (chỉ còn 80 đơn vị/ml hay 60 – 90 đơn vị/mg protein).

IV. KẾT LUẬN

Hàm lượng protein hòa tan trong các mẫu Trìa Mỡ cả phần dịch và phần cơ nhìn chung thấp, chỉ khoảng dưới 1 mg/g thể trọng.

Hoạt độ của protease ở các mẫu Trìa Mỡ rất khác nhau, thấp nhất là các mẫu cơ, cao nhất là các mẫu dịch (DHp, DH) và các mẫu bảo quản.

Enzym urease Trìa Mỡ bị mất hoạt động trong các điều kiện bảo quản. Ngược lại, enzym amylase và protease lại có hoạt động mạnh khi có mặt của chất kháng khuẩn và trong điều kiện bảo quản lạnh sâu (Khi bảo quản bằng lạnh sâu, amylase có thể tăng hoạt động từ 1,5 đến 2 lần so với bình thường).

Cả hai enzym catalase và peroxidase trong Trìa Mỡ đều giảm hoạt động nhiều khi có chất kháng khuẩn và gần như hoàn toàn mất hoạt

động; còn ở lạnh sâu, chúng mất hoạt động từ 30 đến 60%.

Hoạt độ lectin trong các mẫu Trìa Mỡ khá cao, chủ yếu tập trung ở phần dịch (DHpkt, DH) có hoạt động chung lên tới 10.240 đơn vị/g thể trọng và từ 10.470,35 (DHpkt) đến 14.712,64 đơn vị/mg protein (DH). Còn ở cơ chỉ chiếm khoảng 3% và lectin trong dịch hầu như mất hoạt động hoàn toàn khi bảo quản có chất kháng khuẩn và lạnh sâu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fleish M., Maider I., 1985. One step procedure for isolation and resolution of the *Phaseolus vulgaris* isolectin by affinity chromatography. Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 266: 1029 – 1032.
2. Lowry O. H. *et al.*, 1951. Protein measurement with folinphenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 256 – 257.
3. Nhiều tác giả, 1978. Thực tập sinh hóa học. Đại học Tổng hợp Hà Nội.
4. Nguyễn Quốc Khang, 2001. Phương pháp điện di trên gel-polyacrylamid cơ chất xác định amylase và catalase (tài liệu chưa công bố).