

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG THU NHẬN PROTEIN TỪ RONG ĐUÔI CHÓ TRÊN NHÁNH SÔNG SÀI GÒN

Nguyễn Thị Liên, Hồ Thị Ngọc Diễm

Trường Đại học Thủ Dầu Một

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân tích mẫu nước và khảo sát các thông số tối ưu trong quá trình trích ly protein từ rong đuôi chó ở nhánh sông Sài Gòn (đường Võ Văn Bích, Củ Chi, thành phố Hồ Chí Minh) nhằm tìm ra thông số trích ly protein tối ưu. Qua nghiên cứu, chúng tôi đã đưa ra các điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly protein từ rong đuôi chó bằng NaOH 1%, tỷ lệ NaOH: rong là 20:1, nhiệt độ trích ly là 50°C, thời gian trích ly là 60 phút.

Từ khóa: rong đuôi chó, trích ly protein, ô nhiễm hữu cơ, phú dưỡng hóa.

1. GIỚI THIỆU

Hiện nay, nhiều sông, hồ thuộc các khu đô thị, khu công nghiệp ở nước ta đang có hiện tượng ô nhiễm chất hữu cơ. Khi hàm lượng chất hữu cơ trong nước tăng cao, đặc biệt là hàm lượng các chất dinh dưỡng (tổng N, tổng P) cao sẽ dẫn đến hiện tượng phú dưỡng, làm bùng phát rong. Khi lượng rong tăng nhanh sẽ làm cho hàm lượng oxy trong nước giảm, gây chết các loài thủy sinh, đồng thời sự phân hủy của chúng làm cho nước có mùi hôi, gây ô nhiễm môi trường và ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của khu vực. Do vậy, việc nghiên cứu các loại rong được thu gom từ các khu vực này sẽ tạo ra nguồn nguyên liệu có giá trị để thu nhận protein bổ sung làm thức ăn chăn nuôi đồng thời giảm thiểu các tác động xấu đối với nguồn nước do hiện tượng phú dưỡng [6].

Trên cơ sở đó đã tiến hành đề tài “Khảo sát khả năng thu nhận protein từ rong đuôi chó (*Ceratophyllum sp.*) trên nhánh sông Sài Gòn (đường Võ Văn Bích, Củ Chi, thành phố Hồ Chí Minh)” nhằm giảm bớt lượng rong trong các khu vực nước ô nhiễm hữu cơ đồng thời giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường nước hiện nay.

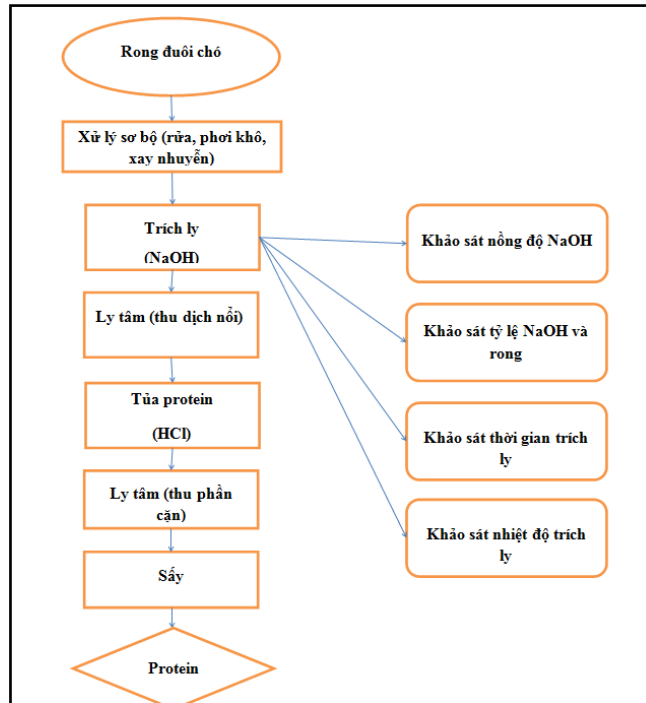


Hình 1. Phú dưỡng hoá trên sông Sài Gòn

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng: Sử dụng rong đuôi chó làm nguồn nguyên liệu chính để tiến hành thu nhận protein. Nguyên liệu được lấy từ nhánh sông Sài Gòn dọc tuyến đường Võ Văn Bích, huyện Củ Chi, Tp. Hồ Chí Minh sau đó được rửa sạch, phơi khô và xay nhuyễn.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Quá trình nghiên cứu tiến hành theo sơ đồ sau:



Hình 2. Sơ đồ quy trình nghiên cứu và thu nhận protein từ rong đuôi chó

Xác định một số chỉ tiêu sinh hóa có trong mẫu nước thu nhận rong đuôi chó

Chuẩn bị mẫu: Chuẩn bị ba mẫu nước đại diện trên đoạn sông Sài Gòn nơi lấy mẫu rong để trích ly protein.

Chỉ tiêu DO (nhu cầu oxy hòa tan): Trước khi sử dụng cần tiến hành hiệu chỉnh máy về điểm 0 hoặc hiệu chỉnh về giá trị gần bão hòa sau đó tiến hành xác định nước cần phân tích theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau khi nhúng đầu đo vào mẫu cần đợi để đầu đo đạt nhiệt độ của nước và cho số đọc ổn định. Nếu cần, kiểm tra nhiệt độ mẫu và/hoặc áp suất khí quyển, vì loại máy sử dụng và kết quả yêu cầu. Tính toán và biểu thị kết quả: Biểu thị nồng độ oxy hòa tan tính bằng mg/l, và báo cáo kết quả được làm tròn đến một số thập phân. Xác định nhu cầu oxi hòa tan trong 3 mẫu nước.

Chỉ tiêu Nitrat (bằng phương pháp Natri Xalixilat): Lấy 10 ml mẫu nước vào cốc đun 50 ml, thêm 1 ml dung dịch natri xalixilat, đun dung dịch ở 105⁰C trên bếp cách thủy hay bếp cách cát đun đến khô. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm 1 ml axit sunfuric đặc, lắc cho tan hết phần cặn khô, để yên 10 phút. Cần thận thêm 8ml nước cất, để nguội, thêm 7 ml dung dịch NaOH 30%. Lắc đều, đo mật độ quang ở 420nm. Xác định nồng độ nitrat có trong mẫu nước và tìm mối tương quan với hiện tượng phú dưỡng hóa.

Chỉ tiêu Photpho tổng (bằng phương pháp Ascorbic): Phá mẫu: bằng dung dịch Kali perodi sunphat ($K_2S_2O_8$). Dùng pipet lấy lượng mẫu thử tối đa 40 ml vào bình nón 100 ml, thêm nước đến 40 ml, thêm 4 ml dung dịch $K_2S_2O_8$, đun nhẹ 30 phút. Giữ thể tích ở 25-50 ml, làm nguội, chỉnh pH từ 3-10, chuyển sang bình định mức 50 ml, thêm nước đến khoảng 40ml [3]. Chú ý: Thông thường 30 phút là đủ để vô cơ hóa mẫu hợp chất photpho nhưng một vài axit poliphosphorit cần tới 90 phút để thủy phân, có thể thay đổi bằng cách vô cơ hóa mẫu trong nồi hấp ở nhiệt độ từ 115- 120°C [3]. Lấy 10ml mẫu vào ống nghiệm hay bình tam giác, thêm 1.6ml dung dịch thuốc thử hỗn hợp, lắc cẩn thận. Để yên 10 phút (nhưng không quá 30 phút), rồi đem đo mật độ quang ở bước sóng 880nm, với dung dịch mẫu trắng làm dung dịch so sánh. Xác định nồng độ photpho tổng có trong mẫu nước và tìm mối tương quan với hiện tượng phú dưỡng hóa.

Nghiên cứu quá trình trích ly rong đuôi chó bằng NaOH

Chuẩn bị: Tùy thuộc vào số lượng ống nghiệm mà chuẩn bị mẫu rong, mỗi ống nghiệm cân 0,1 g rong (mẫu được sấy khô ở 105°C đến khối lượng không đổi trước khi tiến hành thí nghiệm).

Khảo sát nồng độ NaOH: Thông số cố định (tỷ lệ NaOH và rong là 20:1; thời gian: 30 phút; nhiệt độ: 50°C). Thông số khảo sát thực hiện thay đổi nồng độ NaOH lần lượt là 0.5; 1; 1.5; 2%. Đo hàm lượng protein hòa tan (làm nguội mẫu trong nồi hấp về nhiệt độ phòng. Lấy mẫu thêm vào 2 ml nước cất, ly tâm thu dịch nổi, tiến hành lọc sau đó rửa mẫu với TCA 25% theo tỷ lệ 2.5:1 trong 30 phút ở 4°C, ly tâm thu protein rửa và hòa lại trong 5ml dung dịch NaOH 0.1M. Pha loãng ở nồng độ thích hợp và đo protein hòa tan ở bước sóng OD_{750nm}).

Khảo sát tỷ lệ NaOH và rong: Thông số cố định (nồng độ NaOH: kết quả thu được từ thí nghiệm 2.1; thời gian trích ly: 30 phút; nhiệt độ trích ly: 50°C). Thông số khảo sát thay đổi lần lượt tỷ lệ NaOH và rong: (15:1); (20:1); (25:1); (30:1); (35:1). Đo hàm lượng protein hòa tan (làm nguội mẫu trong nồi hấp về nhiệt độ phòng. Lấy mẫu thêm vào 2 ml nước cất, ly tâm thu dịch nổi, tiến hành lọc sau đó rửa mẫu với TCA 25% theo tỷ lệ 2.5:1 trong 30 phút ở 4°C, ly tâm thu protein rửa và hòa lại trong 5ml dung dịch NaOH 0.1M; pha loãng ở nồng độ thích hợp và đo protein hòa tan ở bước sóng OD_{750nm}).

Khảo sát thời gian trích ly: Thông số cố định (nồng độ NaOH: kết quả thu được từ thí nghiệm 2.1; tỷ lệ NaOH và rong: kết quả thu được từ thí nghiệm 2.2; nhiệt độ trích ly: 50°C). Thông số khảo sát thực hiện thay đổi lần lượt thời gian trích ly: 15, 30, 45, 60, 75, 90 phút. Đo hàm lượng protein hòa tan (làm nguội mẫu trong nồi hấp về nhiệt độ phòng. Lấy mẫu thêm vào 2 ml nước cất, ly tâm thu dịch nổi, tiến hành lọc sau đó rửa mẫu với TCA 25% theo tỷ lệ 2.5:1 trong 30 phút ở 4°C, ly tâm thu protein rửa và hòa lại trong 5ml dung dịch NaOH 0.1M; pha loãng ở nồng độ thích hợp và đo protein hòa tan ở bước sóng OD_{750nm}).

Khảo sát nhiệt độ trích ly: Thông số cố định (nồng độ NaOH: kết quả thu được từ thí nghiệm 2.1; tỷ lệ NaOH và rong: kết quả thu được từ thí nghiệm 2.2; thời gian trích ly: 30 phút). Thông số khảo sát thực hiện thay đổi lần lượt nhiệt độ trích ly: 30,40,50,60°C. Đo hàm lượng protein hòa tan (làm nguội mẫu trong nồi hấp về nhiệt độ phòng; lấy mẫu thêm

vào 2 ml nước cất, ly tâm thu dịch nổi, tiến hành lọc sau đó rửa mẫu với TCA 25% theo tỷ lệ 2.5:1 trong 30 phút ở 4°C, ly tâm thu protein rửa và hòa lại trong 5ml dung dịch NaOH 0.1M; đo protein hòa tan ở bước sóng OD_{750nm}).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định một số chỉ tiêu sinh hóa trong mẫu nước thu nhận rong đuôi chó

Bảng 1. Kết quả xác định một số chỉ tiêu sinh hóa trong mẫu nước thu nhận rong đuôi chó

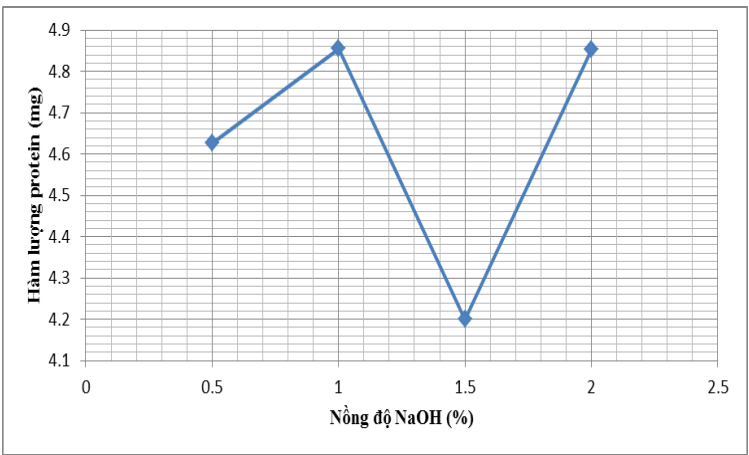
Chỉ tiêu Mẫu nước	DO (mg/l)	Nitrat (mg/l)	Photpho (mg/l)
1	3,1	0,2971	0,0811
2	3,5	0,2844	0,0826
3	2,8	0,3074	0,0805

Nhận xét: Theo như tên đề tài nhóm đã tiến hành lấy mẫu rong ở khu vực xảy ra ô nhiễm hữu cơ (phú dưỡng hóa) với nhu cầu oxy hòa tan khá thấp ($2 \leq DO < 4 \text{ mg/l}$). Mẫu nước này thuộc loại B2 - chỉ có thể dùng cho giao thông thủy và các mục đích khác với yêu cầu nước chất lượng thấp, còn hai chỉ tiêu còn lại đều khá tốt, $\text{NO}_3^- < 2 \text{ mg/l}$ và $\text{PO}_4^{3-} < 0,1 \text{ mg/l}$ (theo quy chuẩn Việt Nam về tiêu chuẩn nước mặt, 2008). Đoạn sông Sài Gòn đã xảy ra hiện tượng phú dưỡng hóa (DO khá thấp; nồng độ nitơ và photpho vượt mức giới hạn và tỷ số N:P = 3,64 < 16 suy ra N trở thành yếu tố giới hạn sự phát triển của rong tảo) làm bùng phát nhiều loài rong tảo, bèo, kể cả một số rong đã chết trong hồ. Tuy nhiên ta nhận thấy nồng độ nitơ tổng vẫn khá thấp ($0,2963 < 2 \text{ mg/l}$) là do rong hấp thụ nitơ cao gấp 4-10 lần so với photpho [9].

3.2. Kết quả tìm điều kiện tối ưu cho quá trình trích ly rong đuôi chó bằng NaOH

❖ Khảo sát nồng độ NaOH

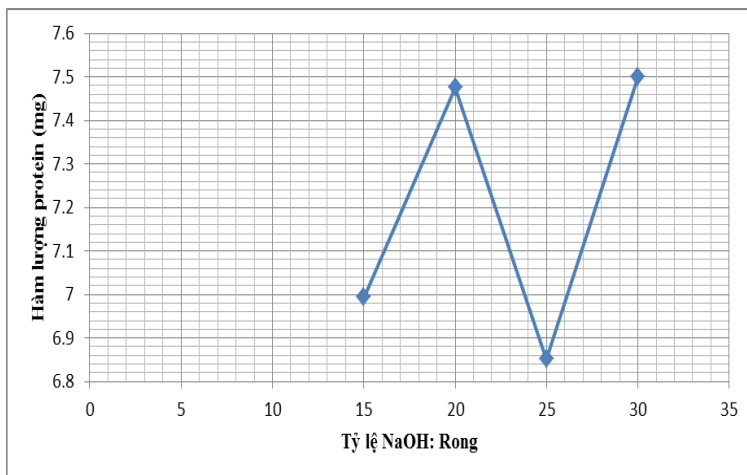
Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ NaOH lên quá trình trích ly rong đuôi chó.



Nhận xét: Hàm lượng protein tăng giảm không đều khi tăng dần nồng độ NaOH. Hàm lượng protein khá cao khi trích ly với NaOH 1% và 2%. Tuy nhiên, nếu dùng nồng độ dung môi cao sẽ tốn kém và làm pha loãng dịch trích. Do đó, ta chọn nồng độ NaOH 1% là tối ưu cho quá trình trích ly.

❖ Khảo sát tỷ lệ NaOH và rong

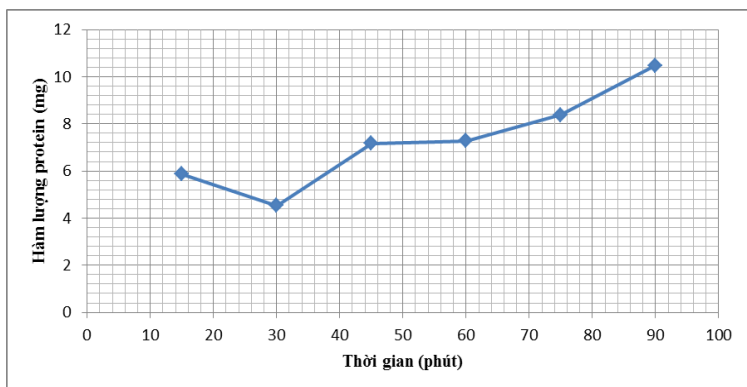
Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu lên quá trình trích ly rong đuôi chó.



Nhận xét: Hàm lượng protein tăng giảm không đồng đều khi tăng dần tỷ lệ dung môi so với cơ chất. Về nguyên tắc, nếu tăng dần lượng dung môi so với cùng một cơ chất thì hiệu quả trích ly sẽ tăng lên do chênh lệch gradient nồng độ của cấu tử cần trích ly giữa nguyên liệu và dung môi tăng lên. Tuy nhiên, nếu tỷ lệ dung môi cao có thể làm pha loãng dịch trích ly. Khi đó phải tốn kém chi phí nhiều hơn trong việc dùng các phương pháp tách bột hay cô đặc dung môi. Mặt khác, ta thấy hàm lượng protein tăng không đáng kể khi tăng tỷ lệ dung môi từ 20:1 lên 30:1. Vì vậy, tỷ lệ dung môi: cơ chất tối ưu cho quá trình trích ly là 20:1, vừa cho hiệu suất trích ly cao vừa tiết kiệm chi phí.

❖ Khảo sát thời gian trích ly

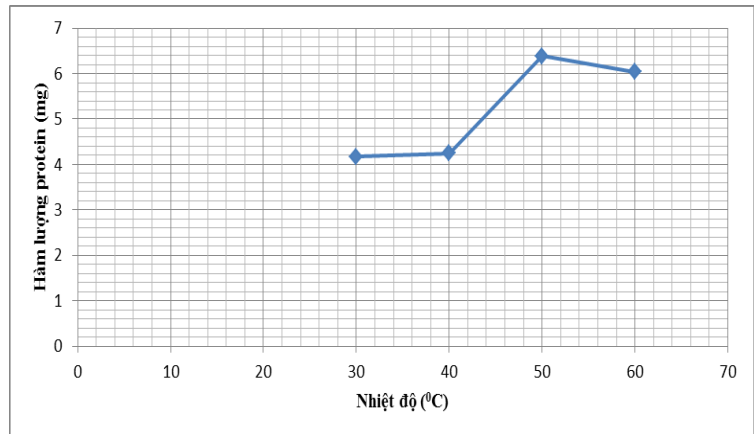
Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian lên quá trình trích ly rong đuôi chó.



Nhận xét: Hàm lượng protein tăng dần khi trích ly càng lâu (thời gian tăng dần). Về mặt lý thuyết, ta thấy nếu tăng thời gian trích ly sẽ tăng quá trình khuếch tán chất trích vào trong dung môi làm tăng hiệu suất trích ly. Tuy nhiên có trường hợp, nhóm khảo sát thấy hàm lượng protein cực đại ở khoảng 60 phút và giảm dần khi kéo dài thời gian trích ly. Điều này có thể giải thích là do trong quá trình thu hồi protein sau trích ly do thời gian trích ly lâu ở nhiệt độ cao (50°C) lượng protein có thể bị biến tính một phần làm mất phần thu hồi khi loại bỏ phần dịch nổi, còn khi nhóm cố gắng thu phần thu này thì máy đo quang phổ vẫn ghi nhận đây là lượng protein thu được. Vì vậy, ta chọn 60 phút là tối ưu cho quá trình trích ly.

❖ Khảo sát nhiệt độ trích ly

Hình 6. Đồ thị biểu diễn sự ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình trích ly rong đuôi chó.



Nhận xét: Nồng độ protein tăng dần khi nhiệt độ trích ly càng cao, sau đó giảm dần khi vượt quá 50°C. Theo lý thuyết, khi ta tăng dần nhiệt độ, các cấu tử sẽ chuyển động nhanh hơn, do đó sẽ làm tăng sự hòa tan và khuếch tán của nguyên liệu vào dịch trích ly. Đồng thời khi tăng nhiệt độ, độ nhớt của dung môi sẽ giảm, tạo điều kiện cho nguyên liệu dễ dàng thâm nhập sâu vào dung môi, tăng hiệu quả trích ly. Tuy nhiên, việc tăng cao nhiệt độ sẽ tạo ra những phản ứng bất lợi giữa nguyên liệu và dịch trích, cũng như tốn kém nhiều nhiệt lượng. Ở đây, ta thấy hàm lượng protein giảm ở 60°C có khả năng là do protein bị biến tính ở nhiệt độ này. Từ các phân tích trên, ta chọn 50°C là nhiệt độ tối ưu cho quá trình trích ly.

4. KẾT LUẬN

Việc thu gom rong, tảo từ các khu vực nước ô nhiễm hữu cơ vừa góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường đồng thời vừa là nguồn nguyên liệu có giá trị để trích ly protein bổ sung vào nguồn thức ăn chăn nuôi thủy hải sản. Lượng protein thô thu được khi trích ly bằng các thông số trên là 228,2 mg (trong 5g rong khô). Vậy với 1kg rong khô ta sẽ thu được 45,64g protein. Có thể tận dụng phần bã rong sau khi trích ly protein để chuyển hóa thành các sản phẩm có giá trị khác (phân bón, ethanol...).

SURVEY THE POSSIBILITY OF RECEIVING PROTEIN FROM CERATOPHYLLACEAE IN THE BRANCH OF SAIGON RIVER

Ho Thi Ngoc Diem, Nguyen Thi Lien

ABSTRACT

In this thesis, the writers analyzed the water samples and survey the optimal parameters of extracting protein from Ceratophyllum submersum in Saigon river on Vo Van Bich street (Cu Chi district, Ho Chi Minh city) to find the best efficient of extraction proteins. Through research, we came up with the optimal conditions for protein extraction from the ceratophyllum sp. with NaOH 1%, the rate of NaOH: algae is 20: 1, the extracted temperature is 50°C, extracted time is 60 minutes.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Hoài Hương (2009), *Giáo trình Thực hành hóa sinh*, Trường Đại học Kỹ Thuật Công Nghệ Thành phố Hồ Chí Minh.
- [2] Nguyễn Đức Lượng (2001), *Công nghệ sinh học*, NXB Đại học Quốc gia TP.HCM.
- [3] Nguyễn Thị Mai (2014), *Xác định tổng photpho trong nước*, 123doc, 6/3/2016, <<http://text.123doc.org/document/1453293-xac-dinh-tong-photpho-trong-nuoc.htm>>.
- [4] Bạch Ngọc Minh (2013), *Sử dụng sóng siêu âm để cải thiện hiệu suất trích ly protein từ sinh khối rong biển*, luận văn thạc sĩ, Trường Đại học Bách Khoa (Đại học Quốc gia TP.HCM).
- [5] Thủy Châu Tờ (2015), *Bài giảng thực tập phân tích môi trường*, Trường Đại học Thủ Dầu Một.
- [6] Trần Thị Mỹ Vân (2014), *Nghiên cứu quá trình chuyển hóa sinh khối rong lục nước ngọt thành đường*, luận văn cử nhân khoa học.
- [7] Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC 147 “Chất lượng nước”, TCVN 7325:2004, *Xác định oxi hòa tan bằng phương pháp đầu đo điện hóa*.
- [8] Trường Đại học Đà Lạt (2015), *Giáo trình phú dưỡng hóa*, 123doc, 6/3/2016. <<http://text.123doc.org/document/2641681-giao-trinh-phu-duong-hoa.htm>>.
- [9] QCVN 08:2008 BTNMT, *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước mặt*.
- [10] *Ceratophyllum demersum L.*, coontail, hornwort, <<http://www.ecy.wa.gov/programs/wq/plants/plantid2/descriptions/cerdem.html> >
- [11] Shyama Pagad. (2006), *Ceratophyllum demersum (aquatic plant)* <<http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=281>>

- Ngày nhận bài: 16/4/2016
- Chấp nhận đăng: 20/6/2016

Liên hệ: **Nguyễn Thị Liên**
Trường Đại học Thủ Dầu Một
Email: lien_cnsh@yahoo.com