

# ĐỘC TÍNH TETRODOTOXIN TRONG SẢN PHẨM NƯỚC MẮM CHẾ BIẾN TỪ CÁ NÓC ĐỘC CHẤM CAM *TORQUIGENER GLOERFELTI*

Đào Việt Hà<sup>1</sup>, Shigeru Sato<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Số 1 Cầu Đá, Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam

Email: daovietha69@gmail.com

<sup>2</sup>Khoa Khoa học Thủy Sản, Đại học Kitasato, Nhật Bản

Ngày nhận bài: 7-12-2012

**TÓM TẮT:** Thí nghiệm chế biến nước mắm (theo cách thức địa phương) với nguyên liệu là cá nóc chấm Cam *Torquigener gloerfelti* đã được tiến hành trong vòng 12 tháng nhằm theo dõi biến động của độc tính tetrodotoxin trong sản phẩm nước mắm này. Kết quả cho thấy độc tính có chiều hướng suy giảm theo thời gian thí nghiệm. Sau 12 tháng, độc tính giảm khoảng 86,43 - 93,93 % so với tổng độc lực ban đầu. Sự tăng dần của yếu tố pH trong quá trình lên men kỵ khí gây ra sự phân hủy một phần cấu trúc hoá học của TTX, dẫn đến sự suy giảm độc lực. Tuy nhiên, sau thời gian khá dài trong điều kiện đặc biệt của quy trình chế biến nước mắm (độ mặn cao, pH acid hoặc trung tính), vẫn tồn tại một lượng độc tố nhất định trong sản phẩm (chiếm 6,07 - 13,57% tổng độc lực ban đầu). Trong khi đó, trên thị trường hiện nay, sản phẩm nước mắm được bán ra chỉ sau 3-4 tháng kể từ thời điểm bắt đầu chế biến (theo tính toán trong thí nghiệm của nghiên cứu này, là lúc độc tính còn tồn tại khoảng 49,44 - 37,47 % so với ban đầu), và như vậy, nếu độc tính trong nguyên liệu đầu vào cao, sẽ có nguy cơ gây ngộ độc tử vong cho người tiêu dùng thông qua việc sử dụng sản phẩm nước mắm chế biến từ cá nóc độc. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc sử dụng cá nóc làm nước mắm là không đảm bảo an toàn thực phẩm.

**Từ khóa:** nước mắm, *Torquigener gloerfelti*, tetrodotoxin, độc tính

## MỞ ĐẦU

Trước thực trạng ngộ độc cá nóc tràn lan tại Việt Nam, nhằm bảo vệ an toàn sức khỏe cộng đồng, tháng 6 năm 2003, Chính phủ đã có lệnh cấm đánh bắt, tiêu thụ và chế biến các sản phẩm từ cá nóc. Tuy nhiên, điều này đã gây ra khá nhiều ý kiến tranh luận trong dân chúng, thậm chí cả các nhà khoa học và các nhà quản lý nguồn lợi thủy sản. Có một số ý kiến cho rằng cá nóc chỉ độc nếu như không biết cách xử lý, làm sạch trong quá trình chế biến, hoặc độc tố sẽ bị phân hủy hoàn toàn trong quá trình lên men nước mắm. Chính vì vậy, cho đến nay ở một số địa phương, vẫn tồn tại những cơ sở

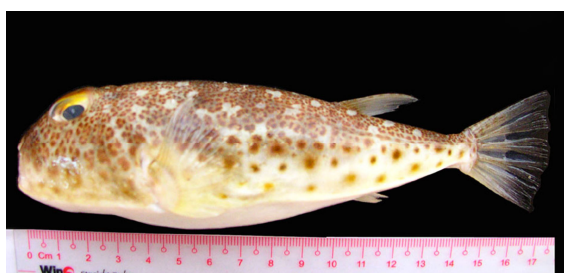
chuyên sản xuất và chế biến các sản phẩm từ cá nóc như muối khô hay làm nước mắm.

Trong tổng số khoảng 17 loài cá nóc độc được ghi nhận phân bố tại vùng ven biển Việt Nam hiện nay, cá nóc chấm Cam *Torquigener gloerfelti* (tên trích dẫn trước đây: *Torquigener pallimaculatus*) là một trong những loài có độc tính mạnh [1], thường xuyên bắt gặp trong lưới đã cào với sản lượng khá cao với mùa vụ hầu như quanh năm [2]. Cá nóc chấm Cam cũng là nguyên nhân của trên 50% tổng số các vụ ngộ độc cá nóc trên toàn quốc [Đào Việt Hà, thông tin cá nhân]. Từ các khảo sát tình hình thực tế cho thấy dân địa phương ở một số vùng ven

biển sử dụng cá nóc chám Cam làm thực phẩm với một số hình thức chế biến khác nhau như làm cá khô, nước mắm hay chả cá. Bài báo này công bố kết quả nghiên cứu sự biến động của độc tính tetrodotoxin trong quá trình chế biến nước mắm từ cá nóc chám Cam *T. gloerfelti*. Kết quả nghiên cứu này là nguồn tư liệu khoa học có giá trị, là cơ sở khoa học giải quyết nhu cầu bức xúc hiện nay của xã hội đối với những quan niệm về xử lý và chế biến cá nóc. Đồng thời, những thông tin này giúp cho Bộ Y tế, Bộ Thủy sản và các cơ quan chức năng khác trong việc quản lý chất lượng thủy sản và đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

### PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

30kg cá nóc chám Cam *Torquigener goerfelti* (hình 1) được thu mua từ các ghe đánh bắt hải sản tại cảng cá Bến Đồn, Vạn Ninh, Khánh Hòa trong năm 2004. Ngay lập tức, mẫu vật được vận chuyển về phòng thí nghiệm trong điều kiện lạnh. Tại đây, từng cá thể được rửa sạch, thấm nhẹ bên ngoài cho khô ráo để chuẩn bị cho thí nghiệm tiếp theo.



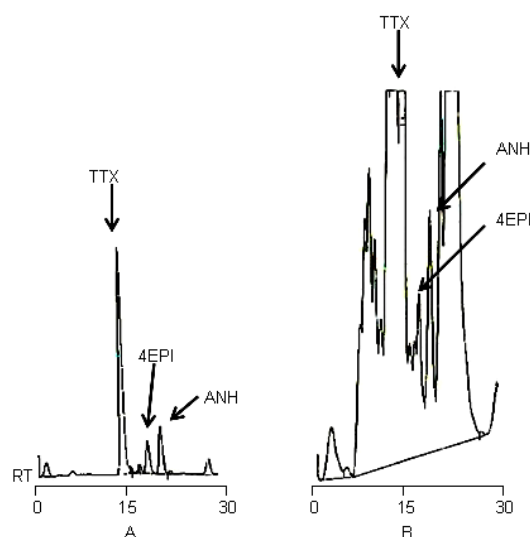
**Hình 1.** Cá nóc chám Cam *Torquigener gloerfelti*

Thí nghiệm chế biến nước mắm (thực hiện theo phương pháp cổ truyền tại địa phương): Tiến hành 3 lô thí nghiệm, mỗi lô bao gồm 8-10kg cá nóc chám Cam được xay nhỏ toàn bộ cơ thể bằng máy nghiền thức ăn gia súc. Trộn đều hỗn hợp cá với muối hạt theo tỉ lệ về khối lượng 3 kg cá/1 kg muối. Chuyển hỗn hợp cá-muối này vào thạp sành dung tích 20 lít có đục lỗ và lắp vòi khóa bên cạnh (để rút dịch nước mắm chảy ra), đáy thạp được lót một lớp sỏi sạch và lưới nylon. Sau đó, phủ lên bề mặt cá-muối một lớp lưới nylon và nén chặt bằng đá tảng, cuối cùng bề mặt thạp sành được che phủ bởi 1 lớp vải màn mỏng. Mở nhẹ vòi khóa cho dịch rỉ từ từ vào lọ thủy tinh sạch, đổ lại dịch này vào trong thạp hàng ngày cho đến khi dịch trở nên trong suốt và có màu nâu vàng đặc trưng của nước mắm (sau khoảng 4 -6 tháng kể từ lúc bắt đầu thí nghiệm). Hàng tháng, rút 20ml dịch để sử dụng cho phân tích sắc ký lỏng cao

áp (HPLC) cho mục đích theo dõi biến động của độc lực theo thời gian trong vòng 12 tháng liên tục (từ tháng 8/2004 cho đến hết tháng 7/2005).

Độc tố tetrodotoxin trong hỗn hợp cá nóc chám Cam sau khi xay nhuyễn được chiết rút theo Kawabata [3] và xác định bằng HPLC theo Yotsu và cs [4]. Từ kết quả này, độc tính tương ứng được chuyển đổi 01 mg độc tố TTX tương ứng với 4.500 MU đơn vị độc lực, 1 mg 4epimer-TTX tương ứng với 910 MU và 1 mg Anhydro-TTX tương ứng với 79 MU [5]. Độc tính này được coi như là tổng độc lực ở thời điểm bắt đầu thí nghiệm. Tương tự, phân tích HPLC được thực hiện để xác định hàm lượng TTXs trong dịch nước mắm và chuyển đổi sang đơn vị độc tính. Độc tố chuẩn tetrodotoxin (bao gồm TTX, 4epi-TTX và Anhydro-TTX) do khoa Khoa học Thủy sản, đại học Kitasato, Nhật Bản cung cấp.

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

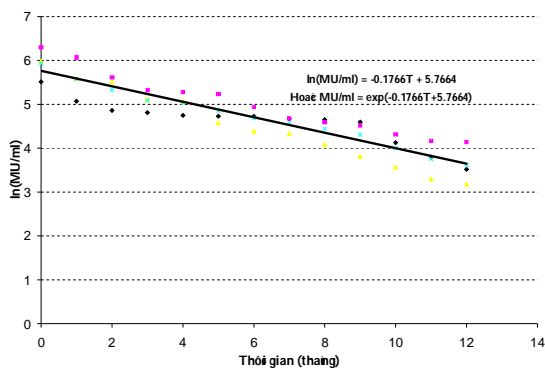


**Hình 2.** Sắc ký đồ HPLC phân tích độc tố TTXs (TTX, 4epimerTTX, anhydroTTX) (A: TTXs chuẩn; B: dịch chiết cá nóc chám Cam *Torquigener gloerfelti*; RT: Thời gian lưu)

Kết quả phân tích PHLC ghi nhận một hàm lượng khá cao độc tố TTX trong nguyên liệu cá nóc chám Cam để làm nước mắm (hình 2), với độc tính tổng số tương ứng đạt tới giá trị 270MU/g.

Hình 3 biểu diễn mối tương quan giữa độc tính trong nước mắm (đã được logarit hóa) với thời gian (tháng) thí nghiệm. Từ hình này cho phép nhận xét thấy độc tính trong sản phẩm nước mắm này có mối

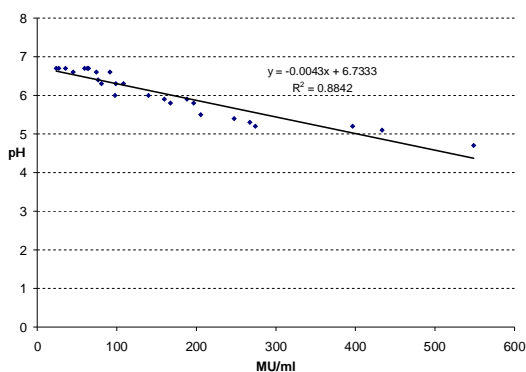
quan hệ tuyến tính loga với thời gian. Hàm hồi quy được biểu diễn ở dạng  $MU/ml = EXP(-0,1766T + 5,7664)$  (hoặc  $\ln(MU/ml) = -0,1766T + 5,7664$ ). Từ kết quả theo dõi độc tính trong sản phẩm nước mắm chế biến từ cá nóc Chấm Cam trong thí nghiệm này, có thể nhận thấy độc tính có chiều hướng suy giảm theo thời gian thí nghiệm. Sau 12 tháng, độc tính suy giảm khoảng 86,43 - 93,93% so với tổng độc lực ban đầu.



**Hình 3.** Biến động của độc tính (MU/mL) trong sản phẩm nước mắm chế biến từ cá nóc chấm Cam theo thời gian thí nghiệm

Sau thời gian khá dài (12 tháng) trong điều kiện đặc biệt của quy trình chế biến nước mắm (độ mặn rất cao, pH acid hoặc trung tính), vẫn tồn tại một lượng độc tố nhất định trong sản phẩm (6,07 - 13,57%). Với độc tính trong nguyên liệu ban đầu của thí nghiệm này, độc tính trong sản phẩm nước mắm sau 12 tháng lên men còn khoảng 16-37MU/mL. Tuy nhiên, trên thị trường hiện nay, sản phẩm nước mắm được bán ra chỉ sau 3 - 4 tháng kể từ thời điểm bắt đầu chế biến. Theo số liệu tính toán của nghiên cứu này, thời điểm 3 tháng là lúc độc tính còn tồn tại khoảng 49,44 - 37,47% so với ban đầu, tức là khoảng 100-133MU/mL. Trong khi đó, độc lực của loài cá nóc chấm Cam vào mùa mang trứng có thể đạt tới 5.000MU/g [6]; nếu độc tính của nguyên liệu đầu vào đạt giá trị như vậy, sau 3 tháng lên men nước mắm, độc tính còn lại ít nhất khoảng 1.870MU/g. Với độc lực này, 4-5mL nước mắm loại này chứa độc tính đủ gây tử vong cho 1 người bình thường (ước tính 1g mẫu tương ứng với 1mL dịch nước mắm thu được). Từ kết quả này, nhận thấy sản phẩm nước mắm chế biến từ cá nóc độc hiện nay không thể được coi là an toàn tuyệt đối cho người tiêu dùng.

#### Độc tính tetrodotoxin trong sản phẩm nước ...



**Hình 4.** Mối tương quan giữa pH và độc tính (MU/mL) trong sản phẩm nước mắm chế biến từ cá nóc chấm Cam *Torquigener gloerfelti*

Theo thông tin thu thập được từ các buổi phỏng vấn, dân địa phương tại một số vùng ven biển nước ta vẫn sử dụng các loài cá nóc có độc tính mạnh như nóc Thu, nóc chấm Cam, nóc Vằn, nóc Răng mô chim, nóc Tro ... để làm nước mắm với quan niệm độc tố sẽ bị tiêu hủy hoàn toàn sau vài tháng trong điều kiện lên men nước mắm. Nhiều trường hợp thực tế, người dân thường sử dụng cá nóc lẫn với nhiều loại cá tạp khác (không độc) để chế biến nước mắm, do đó, độc tính TTX trong sản phẩm nước mắm không đạt tới giá trị cao như trong thí nghiệm này, nhưng không thể bảo đảm rằng cách này là hoàn toàn an toàn tiêu dùng thực phẩm. Lý do thứ nhất là khác với các loại độc tố biển khác, do tính chất đặc biệt nguy hiểm của TTX nên một sản phẩm biển chỉ được xác nhận là an toàn khi không có sự có mặt của độc tố này (không phát hiện được kể cả ở dạng vết), ngoại trừ Nhật Bản đề xuất liều an toàn đối với độc tố TTX trong sản phẩm hải sản là 10MU/g [7]. Lý do thứ hai là độc tố TTX trong cùng loài có tính biến động cá thể rất rộng, trong khi đó tại Việt Nam chưa có số liệu chính xác về đặc tính này, do vậy không thể lường trước được độc tính của cá nóc khi với số lượng lớn được sử dụng làm nước mắm sẽ đạt tới giá trị bao nhiêu. Để có được quy trình xử lý chế biến cá nóc hoàn toàn an toàn thực phẩm cho con người, cần thiết phải có được cơ sở dữ liệu khoa học đầy đủ và chính xác về đặc tính biến động cá thể của độc tố trong các loài cá nóc thường gặp, có sản lượng cao và hay được sử dụng làm thực phẩm tại nước ta. Đây là một trong hướng nghiên cứu cơ bản cần thiết trước mắt nhằm tiến tới mục tiêu nghiên cứu, xây dựng quy trình xử lý cá nóc đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

Một phát hiện khá thú vị trong khi tiến hành thí nghiệm là độc tính có mối tương quan nghịch khá chặt chẽ với yếu tố pH trong quá trình lên men nước mắm ( $R^2 = 0,88$ ; hình 4). Tại thời điểm tháng thứ 1 của thí nghiệm, pH có giá trị acid nhẹ (5,1 - 5,2) và tăng dần theo thời gian; đến tháng thứ 12, pH đạt giá trị gần trung tính (6,7); trong khi độc tính lại có chiều hướng giảm dần theo thời gian. Sự phân hủy hợp chất hữu cơ của các vi sinh vật kỵ khí trong quá trình lên men nước mắm rất có thể đã sản sinh ra những sản phẩm trung gian, dẫn đến hiện tượng tăng độ pH trong sản phẩm. Độc tố TTX có cấu trúc bền trong môi trường acid và bị phân hủy trong môi trường kiềm; hoặc trong môi trường trung tính với thời gian dài [8]. Khi pH tăng dần có thể gây ra sự phân hủy phần nào cấu trúc hoá học của TTX dẫn đến sự suy giảm độc lực. Kết quả nghiên cứu này là một trong những cơ sở khoa học bước đầu cho nghiên cứu, xây dựng quy trình xử lý chế biến cá nóc đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm tại Việt Nam trong thời gian tới.

#### KẾT LUẬN

Do sự thay đổi pH từ acid đến trung tính của quá trình lên men nước mắm, có sự suy giảm độc tính TTX theo thời gian trong sản phẩm nước mắm chế biến từ cá nóc. Tuy nhiên, sau 12 tháng thí nghiệm, vẫn tồn tại một hàm lượng nhất định (6,07 - 13,57% tổng độc lực có trong nguyên liệu) của độc tố TTX trong sản phẩm này. Kết quả nghiên cứu cho thấy sản phẩm nước mắm chế biến từ cá nóc độc có thể có nguy cơ ngộ độc tử vong cho người tiêu dùng, do đó không đủ tiêu chuẩn an toàn thực phẩm.

**Lời cảm ơn:** Đề tài được Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (tên trước đây: Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia) tài trợ kinh phí nghiên cứu trong hướng khoa học Biển và công trình Biển giai đoạn 2004-2005. Tác giả xin

gửi lời cảm ơn đến ông Nguyễn Thanh Vân (trưởng phòng Thông tin - Thư viện, Viện Hải dương học) và gia đình đã tư vấn cách làm nước mắm phổ biến của dân địa phương.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tuyết Nga, Đào Việt Hà, Phạm Xuân Kỳ, Lưu Thị Hà và Cao Phương Dung, 2003.* Nghiên cứu độc tố tetrodotoxin trong một số loài cá nóc tại Nha Trang năm 2001-2003. Tuyển tập Nghiên cứu biển. 8, 215-224. Nxb. Khoa học Kỹ thuật.
2. *Nguyễn Hữu Phụng, 1999.* Danh mục các loài cá biển Việt Nam. Nxb. Nông Nghiệp.
3. *Kawabata, T., 1978.* Puffer toxin. In: The Manual for the methods of Food Sanitation Tests. The Manual for the methods of Food Sanitation Tests. Vol 2, 232.
4. *Yotsu, M., Endo, A. and T., Yasumoto., 1989.* Short communication: An improved tetrodotoxin analyser. Agric. Biol. Chem. 53: 893-895.
5. *Nakamura, M. & T., Yasumoto., 1985.* Tetrodotoxin derivatives in puffer fish. *Toxicon*, 23 (2), 271-276.
6. *Viet Ha Dao, Tien Dung Nguyen, Thu Hong Nguyen, Yoshinobu Takata, Shigeru Sato, Masaaki Kodama and Yasuwo Fukuyo. 2012.* Coastal Marine Science 35(1): 001-006.
7. *Kodama, M. and S., Sato., 2005.* Puffer toxin. In Shyokuhin Eiseikensasisin (The Manual for Food Sanitation Test). Ministry of Health, Labour and Welfare (ed.), 661-666, Japanese Hygienic Association, Tokyo. (In Japanese).
8. *Hashimoto, Y., 1979.* Marine toxins and other marine bioactive metabolites. Japanese Scientific Society Press. 358 pp.

# THE TOXICITY OF THE FISHSOURCE MADE FROM A TETRODOTOXIN-BEARING PUFFER *TOQUIGENER GLOERFELTI*

Dao Viet Ha<sup>1</sup>, Shigeru Sato<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Oceanography-VAST*

<sup>2</sup>*Fisheries School, Kitasato University, Japan*

**ABSTRACT:** *The experiment of making fishsource using a TTX-bearing puffer Toquigener gloerfelti as a material was conducted during 12 months in order to observe a trend of toxicity in the fishsource product. The result showed that toxicity had been decreased by time and after 12 months; about 86.43 - 93.93 % of initial toxicity was disappeared. The reason for this is the increasing of pH in the fermentation condition caused the decomposition of some tetrodotoxin moleculars. Notibly, after long time of experiment with high salinity, acidic or neutrolize condition, still certain toxicity (6.07 - 13.57%) was remaining in puffer fishsource product. On the other hand, according to local fishsource producers, fishsource is often ready to be commercial after 3-4 months of processing, that may contain 49.44 - 37.47% of initial toxicity (based on the data obtained from this study). It means that if inital toxicity in the fishsource material was high enough, there is a possibility to cause human poisoning. The studied result indicated that using toxic puffer as fishsource material is not safe for human consumption.*

**Keywords:** *fishsource, Toquigener gloerfelti, tetrodotoxin, toxicity*