

# THU NHẬN VÀ TÍNH CHẤT CỦA COLLAGEN DẠNG VẢY VÀ DỊCH COLLAGEN THỦY PHÂN DỊCH THỦY PHÂN COLLAGEN TỪ VẢY CÁ CHÈM (*Lates calcarifer*)

## RECOVERY AND PROPERTIES OF COLLAGEN FLAKES AND COLLAGEN HYDROLYSATE FROM BARRAMUNDI SCALES (*Lates calcarifer*)

Phan Thị Phương<sup>1</sup>, Trang Sĩ Trung<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Hòa<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Trung tâm Thí nghiệm – Thực hành, Trường Đại học Nha Trang

<sup>2</sup> Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang

Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Hòa, (Email: [hoanv@ntu.edu.vn](mailto:hoanv@ntu.edu.vn))

Ngày nhận bài: 31/05/2023; Ngày phân biên thông qua: 24/07/2023; Ngày duyệt đăng: 25/09/2023

### TÓM TẮT

Collagen được sử dụng rộng rãi trong các ngành y dược, thực phẩm và mỹ phẩm. Tuy nhiên các nghiên cứu đã công bố chủ yếu chỉ tập trung vào thu nhận collagen dạng dịch thủy phân. Nghiên cứu này trình bày một quy trình mới thu nhận collagen dạng vảy, trước khi thủy phân thu dạng dịch từ vảy cá chẽm (*Lates calcarifer*). Kết quả phân tích cho thấy collagen dạng vảy có độ tinh sạch cao (hàm lượng khoáng < 1%). Phân tích phổ hồng ngoại các nhóm chức trong phân tử collagen không thay đổi sau quá trình thủy phân. Phân tích SDS-page đối với dịch thủy phân cho thấy trọng lượng phân tử của collagen thủy phân có khối lượng phân tử thấp (khoảng 10 kDa). Ngoài ra, phân tích thành phần collagen thủy phân cũng khẳng định sản phẩm có độ tinh khiết cao và chứa 17 acid amin. Từ những kết quả thu được ban đầu của nghiên cứu này cho thấy tiềm năng thu nhận collagen dạng vảy và dịch thủy phân có chất lượng tốt từ vảy cá chẽm nhằm ứng dụng trong các lĩnh vực như mỹ phẩm, thực phẩm và y dược.

**Từ khóa:** Phế liệu thủy sản; vảy cá; collagen dạng vảy; collagen thủy phân; cá chẽm

### ABSTRACT

Collagen is widely used in medicine, pharmacy, cosmetics, and food. However, most published research focused on the preparation of collagen hydrolysis. This study presented a new procedure to prepare collagen flakes from barramundi scales (*Lates calcarifer*) before hydrolyzing them into collagen hydrolysate. The results indicated that collagen flakes had a high purity (mineral content < 1%). Besides, The FTIR spectrum showed that all characteristic collagen peaks were unchanged after hydrolysis. Furthermore, the SDS-PAGE result showed that the  $M_w$  of collagen hydrolysis (about 10 kDa) was relatively small. In addition, from chemical composition analysis, collagen hydrolysis had a high purity and contained 17 amino acids. The findings in this study suggest a potential to obtain good-quality collagen flakes and hydrolysate from barramundi scales for application in such fields as cosmetics, food, and medicine.

**Key words:** Seafood by-product; fish scales; collagen flakes; collagen hydrolysate; barramundi

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm qua, nghề nuôi biển ở nước ta liên tục phát triển. Các loài cá nuôi phổ biến nhất là cá song (chiếm xấp xỉ 50%), cá giò (30%) và chẽm (7 - 8%). Nuôi cá chẽm được phân bố dọc theo bờ biển các tỉnh như Quảng Ninh, Hải Phòng, Thừa Thiên - Huế, Quảng Nam, Đà Nẵng, Bình Định, Khánh Hòa, Bình Thuận, Bà Rịa - Vũng Tàu, Nam bộ và quần đảo Trường Sa với 2 loài chính là cá chẽm (*Lates calcarifer*) và cá chẽm mõm

nhọn (*Psammoperca waigiensis*). Cá chẽm sau thu hoạch chủ yếu được chế biến và xuất khẩu. Trong quá trình chế biến cá phi lê chỉ có khoảng 30% - 40% là thịt cá, còn lại một lượng lớn là nguyên liệu còn lại chiếm khoảng 60 - 70% bao gồm vảy, vây, đầu, nội tạng, xương, ... [1]. Hầu hết các phế liệu này chưa được sử dụng một cách hiệu quả để thu nhận các sản phẩm có giá trị gia tăng.

Collagen là một loại protein chiếm tới 30% tổng lượng protein trong cơ thể người. Collagen

có chức năng chính là kết nối các mô trong cơ thể lại với nhau. Trong thực tế, collagen sử dụng cho người được tìm thấy trong các sản phẩm thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm. Cho đến nay, nguồn nguyên liệu chủ yếu chiết tách collagen trên thế giới có nguồn nguyên liệu từ da lợn, cao nhất khoảng 46%, tiếp theo là da bò (29,4%), xương (23,1%) và các nguồn khác (1,5%) [2]. Tuy nhiên, bệnh lở mồm long móng ở lợn và bệnh bò điên đã gây ra những lo ngại về sự an toàn của collagen chiết tách từ lợn và bò [2,3,4]. Vì vậy, các nhà nghiên cứu đã và đang tìm nguồn chiết collagen thay thế, trong đó nguồn nguyên liệu từ biển như sứa, bạch tuộc, sao biển, cua [5], da cá và vây cá [6,7,8]. Huda và cs. [9] cho rằng vây cá là an toàn vì nó không chứa độc tố và chất độc. Hơn nữa, việc sử dụng vây cá để thu nhận collagen không chỉ làm giảm ô nhiễm môi trường mà còn có thể thu hồi được sản phẩm có giá trị gia tăng cao. Do đó, đã có nhiều công trình nghiên cứu thu nhận collagen từ vây cá [2,10-13]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này thường chỉ dừng lại ở việc tách chiết và thu nhận collagen dạng dịch thủy phân. Do đó, khi vận chuyển, đóng gói và bảo quản dịch collagen thường phức tạp với chi phí cao. Hơn nữa, nếu chuyển collagen từ dạng dịch sang dạng bột sẽ đòi hỏi thực hiện quá trình sấy yêu cầu thiết bị và kinh phí thực hiện.

Từ các phân tích trên, nghiên cứu này đề xuất quy trình thu nhận collagen dạng vảy có độ tinh khiết cao từ vây cá chêm, đồng thời tiến hành thủy phân thu nhận dịch collagen để đánh giá tính chất của sản phẩm nhằm hướng đến sử dụng trong thực phẩm, mỹ phẩm và y dược. Quá trình thu nhận dịch collagen thủy phân là quá trình cắt mạch collagen bằng các tác nhân khác nhau, thường là các acid hữu cơ, enzyme, hoặc kết hợp cả hai tác nhân trên. Khi kết thúc phản ứng, lọc và rửa thu được dịch thủy phân collagen. Sau đó, dung dịch chứa collagen thủy phân được tinh chế bằng thẩm tách và loại nước (thường sử dụng sấy phun hoặc sấy thăng hoa) để thu nhận collagen thủy phân dạng bột. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát cả hai trường hợp sử dụng tác nhân acid axetic và kết hợp acid axetic với pepsin. Dung dịch

collagen thủy phân được tinh sạch bằng thẩm tách trong túi làm bằng vật liệu cellulose. Sản phẩm bột collagen thủy phân thu được bằng phương pháp sấy thăng hoa.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Vây cá chêm được thu nhận từ Công ty TNHH T&H Nha Trang (Địa chỉ 56 Hòn Ngang, Đắc Lộc, Vĩnh Phương). Các mẫu được đóng trong túi PA, bảo quản lạnh khi vận chuyển và bảo quản đông ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$  cho đến khi được xử lý ở phòng thí nghiệm. Hóa chất dùng nghiên cứu đều thuộc loại tinh khiết phân tích.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Sơ đồ bố trí thí nghiệm tổng quát nghiên cứu thu nhận collagen dạng vảy và dịch collagen thủy phân được trình bày trong Hình 1. Theo đó, quá trình thu nhận gồm các bước chính là thu nhận collagen, thủy phân collagen và cuối cùng tính chất của sản phẩm được phân tích, đánh giá.

#### a. Xử lý nguyên liệu

Vây cá tươi được rửa sạch 3 lần bằng nước cất lạnh ( $4^{\circ}\text{C}$ ) nhằm loại các tạp chất bám dính như thịt, da và máu cá. Sau đó, phơi khô thu được vây cá khô, sạch.

#### b. Khử protein phi collagen

Vây cá khô được cho vào dung dịch NaOH ở các nồng độ và thời gian khác nhau với tỷ lệ vảy cá/dung dịch NaOH (1 : 20 w/v) tại nhiệt độ  $4^{\circ}\text{C}$ . Từ đó, xác định được nồng độ và thời gian khử hiệu quả nhất.

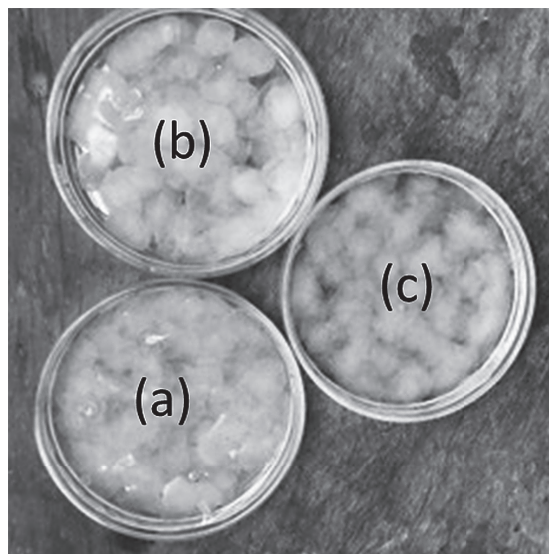
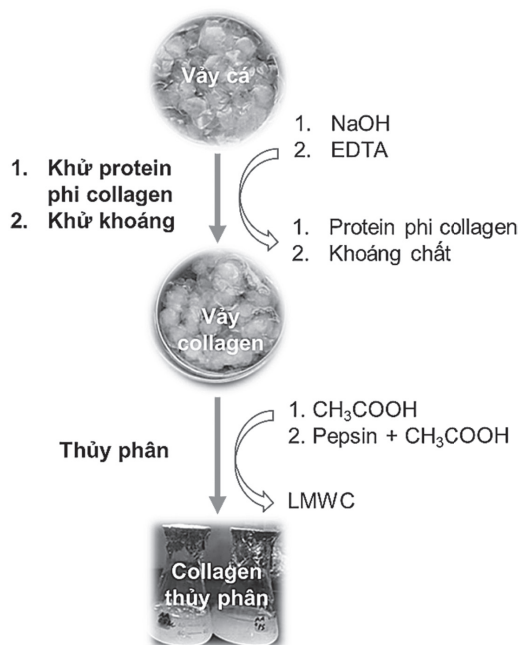
#### c. Khử khoáng thu nhận collagen dạng vảy

Vây cá sau khi khử protein phi collagen được cho vào dung dịch EDTA ở các nồng độ (0,1; 0,25; 0,5; 0,75 và 1,0 M) và thời gian (6; 12; 24; 36; 48 giờ) khác nhau với tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch EDTA (1 : 10 w/v) tại  $4^{\circ}\text{C}$ .

#### d. Thủy phân collagen

*Phương pháp 1:* sử dụng dung dịch acid axetic với các nồng độ 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 và 0,7 M để thủy phân tạo dịch collagen thủy phân.

*Phương pháp 2:* sử dụng dung dịch acid axetic 0,5 M kết hợp với enzyme pepsin với các tỉ lệ enzyme/vây cá là 0,005; 0,0075; 0,01; 0,02



**Hình 1. Sơ đồ minh họa quá trình thu nhận collagen thủy phân từ vây cá chêm (bên trái) và ảnh chụp (a) vây cá ban đầu, (b) vây cá sau khi khử phi collagen và (c) vây cá sau khi khử khoáng (bên phải).**

và 0,03 để thu được dịch thủy phân collagen.

Thời gian 12; 24; 36; 48 và 72 h. Tỷ lệ vây cá/dung dịch acid (1: 20 w/v). Nhiệt độ phản ứng là 4°C.

#### e. Thu nhận bột collagen thủy phân

Dịch collagen thủy phân được kết tủa bằng dung dịch NaCl với những nồng độ khác nhau (1,5; 2; 2,5; 3 và 3,5 M) để chọn được nồng độ thu được lượng tủa nhiều nhất, đạt hiệu suất cao. Phần tủa thu được bằng ly tâm lạnh ở 4°C để tách nước và tinh sạch bằng phương pháp thẩm tích trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  để loại tạp chất. Bột collagen thủy phân thu được bằng cách sấy thăng hoa. Hiệu suất thu hồi được tính dựa trên lượng sản phẩm thu được sau khi sấy thăng hoa so với lượng collagen (khô) đem thủy phân.

### 2.3. Đánh giá tính chất sản phẩm và xử lý số liệu

Hàm lượng khoáng, ẩm được xác định theo phương pháp AOAC [14]. Hàm lượng protein của vỏ lột xác của tôm được xác định theo phương pháp Biuret [15]. Hàm lượng lipid được xác định theo phương pháp đã công bố trong nghiên cứu trước đây [16] Khối lượng

phân tử của collagen thủy phân được xác định bằng phương pháp điện di trên gel SDS-polyacrylamide (SDS-PAGE). Protein chuẩn được điện di để so sánh có trọng lượng phân tử từ 0 – 180 kDa. Cấu trúc hóa học của các mẫu được xác định bằng phổ hồng ngoại (FTIR) Nicolet iS10 của hãng Thermo Scientific trong khoảng 548–4000  $\text{cm}^{-1}$  với độ phân giải 16  $\text{cm}^{-1}$  trong 32 lần quét sử dụng chất nền KBr. Thành phần acid amin được xác định bằng sắc khí lỏng cao áp (HPLC, ISO 13903:2005). Sự biến tính của collagen theo nhiệt độ bằng phương pháp biến đổi độ nhớt theo công bố trước đây [1].

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và lấy trung bình và vẽ đồ thị trên phần mềm Origin 10.0.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Thành phần hóa học cơ bản của vây cá

Kết quả phân tích các chỉ tiêu hóa học cơ bản của vây cá trong nghiên cứu này và một số tài liệu tham khảo được trình bày ở Bảng 1. Kết quả cho thấy thành phần hóa học chủ yếu của vây cá là protein (gồm collagen và

phi collagen), khoáng chất và lipid. Tỷ lệ các hàm lượng trên khác nhau phụ thuộc rất nhiều vào các loại cá. Đối với tất cả các loại phé liệu cá, hàm lượng protein gần như cao nhất và nằm trong khoảng 35 – 35 wt.%. Trong đó, vẩy cá chêm (52,2 wt.%) và cá rô phi đỏ (56,9

wt.%) có hàm lượng protein cao hơn cả. Từ kết quả phân tích ở trên cho thấy, vẩy cá là nguồn nguyên liệu tốt để thu nhận collagen dùng cho các ứng dụng trong các ngành như thực phẩm và y dược [2,4,5].

**Bảng 1. Thành phần hóa học cơ bản của vẩy cá chêm và vẩy của một số loài cá khác**

Loài cá	Độ ẩm (wt.%)	Khoáng chất (wt.%)	Protein tổng (wt.%)	Lipid (wt.%)	Tham khảo
Cá chêm ( <i>Lates calcarifer</i> )	16,5 ± 0,1	30,8 ± 0,1	52,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1	Nghiên cứu này
Cá hồng mỹ ( <i>Sciaenops ocellatus</i> )	16,1 ± 0,1	42,4 ± 0,1	41,1 ± 0,1	0,4 ± 0,1	[17]
Cá đỏ ( <i>Sebastes mentella</i> )	-	39,4	56,9	2,9	[18]
Cá phèn ( <i>Parupeneus heptacanthus</i> )	23,8 ± 1,5	40,9 ± 0,1	34,5 ± 0,1	0,8 ± 0,1	[19]

### 3.2. Quá trình loại protein phi collagen

Tiến hành khảo sát nồng độ (0,1; 0,15; 0,2; 0,25 và 0,3 M) và thời gian (6; 12; 24; 36 và 48 giờ) để khử protein phi collagen của dung dịch NaOH với tỷ lệ vẩy cá/NaOH (1:20 w/v) tại nhiệt độ 4°C. Cảm quan qua quan sát thì tại nồng độ 0,2 M trong 12 giờ vẩy cá đã được loại protein phi collagen. Lớp bề mặt của vẩy cá hết chất nhầy, đồng thời quan sát dung dịch NaOH dùng để khử không còn đục và không còn lớp bọt ở trên mặt. Vẩy cá có màu sáng hơn so với nguyên liệu ban đầu (Hình 1, bên phải).

### 3.3. Quá trình loại khoáng thu nhận collagen

Quá trình loại khoáng trong vẩy cá sử dụng EDTA, trong đó các tinh thể khoáng (chủ yếu là hydroxyapatite) sẽ bị hòa tan và tạo phức chất tan chứa liên kết phối trí (chelate) giữa các ion Ca<sup>2+</sup> và phân tử EDTA. Sử dụng dung dịch EDTA với nồng độ khác nhau (0,10; 0,25; 0,50; 0,75 và 1,00 M) để tìm nồng độ thích hợp nhất, trong khi cố định nhiệt độ (4°C), tỷ lệ vẩy cá/dung dịch EDTA (1 : 10 w/v) và thời gian khử (6, 12, 24, 36, 48 giờ). Kết quả thu được trình bày trong Hình 2a.

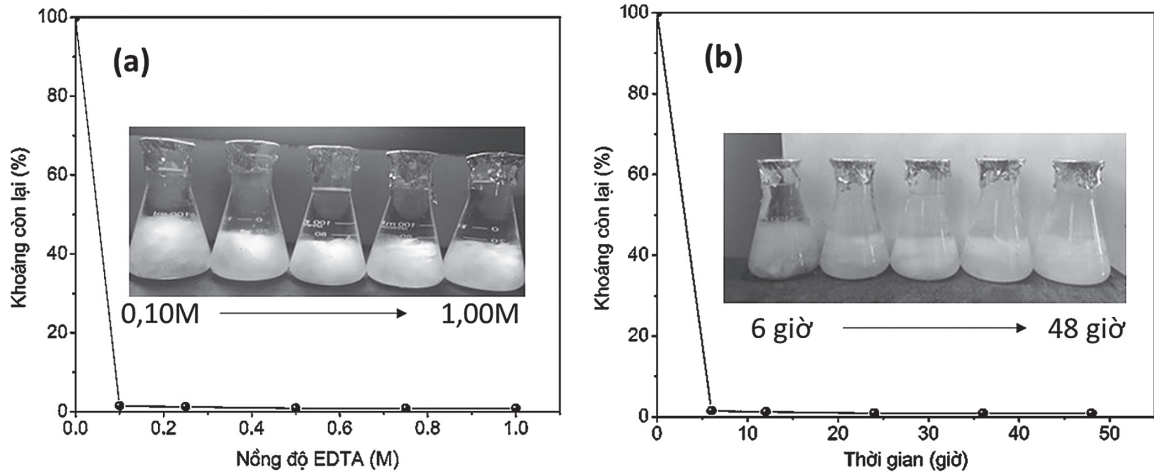
**Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ dung dịch EDTA đến hiệu quả loại khoáng**

Nồng độ EDTA (M)	0,10	0,25	0,50	0,75	1,00
Khoáng còn lại (%)	1,47 ± 0,1	1,22 ± 0,1	0,86 ± 0,1	0,86 ± 0,1	0,86 ± 0,1

Kết quả thu được ở Bảng 2 cho thấy với nồng độ EDTA lớn hơn 0,5M thì hàm lượng khoáng còn lại nhỏ hơn 1% theo TCVN 9939:2013. Do đó, quá trình loại khoáng bằng EDTA nồng độ 0,5 M được lựa chọn cố định cho các thí nghiệm ở điều kiện khác. Tuy nhiên, cần chú ý là nếu dùng dung dịch EDTA 0,1M thì hàm lượng khoáng cũng bị loại đến trên 98%. Do đó, tùy vào yêu cầu về độ tinh khiết của sản phẩm mà quy trình thu nhận để lựa chọn nồng độ EDTA phù hợp.

Khi sử dụng dung dịch EDTA với nồng độ

0,5 M với thời gian ngâm khác nhau (6, 12, 24, 36, 48 giờ), trong khi cố định nhiệt độ (4°C), tỷ lệ vẩy cá/dung dịch EDTA (1:10 w/v) để tìm thời gian thích hợp nhất cho quá trình loại khoáng. Kết quả thu được trình bày trong Bảng 3 và Hình 2b. Kết quả thu được ở Bảng 3 cho thấy với thời gian phản ứng là 48 giờ thì hàm lượng khoáng còn lại nhỏ hơn 1% theo TCVN 9939:2013. Do đó, quá trình loại khoáng bằng EDTA nồng độ 0,5 M trong thời gian 48 giờ được đề xuất. Tuy nhiên, tương tự như trường hợp khảo sát thời gian ở trên, chỉ sau 6 giờ



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ EDTA và thời gian đến hiệu quả loại khoáng trong vảy cá.

phản ứng thì hàm lượng khoáng cũng bị loại đến trên 98%. Do đó, tùy vào yêu cầu về độ

tinh khiết của sản phẩm mà quy trình thu nhận để lựa chọn thời gian phản ứng phù hợp.

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu quả loại khoáng

Thời gian phản ứng (giờ)	6	12	24	36	48
Khoáng còn lại (%)	1,48 ± 0,1	1,21 ± 0,1	0,87 ± 0,1	0,88 ± 0,1	0,86 ± 0,1

### 3.4. Thu nhận dịch thủy phân collagen

Bảng 4 trình bày kết quả về hàm lượng bột collagen thủy phân thu được khi sử dụng các dung dịch acid có nồng độ khác nhau. Theo đó, khi tăng nồng độ thì hiệu suất thu hồi tăng. Tại các nồng độ acid thấp (0,3 và 0,4M), hiệu suất thu hồi collagen thấp là do một phần collagen

chưa bị thủy phân nên có thể bị loại bỏ khi lọc tách, trước giai đoạn tinh chế. Tại các nồng độ acid cao (0,6 và 0,7M), thì lượng collagen thu hồi không cao hơn nhiều so với tại nồng độ 0,5M. Do đó, nồng độ acid axetic 0,5M được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ acid axetic đến hiệu quả thu hồi LMWC

Acid axetic (M)	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7
Hiệu suất thu collagen (%)	53,7 ± 1,5	62,6 ± 1,1	89,4 ± 1,5	93,1 ± 0,8	94,8 ± 0,9

Bảng 5 trình bày kết quả về hàm lượng bột collagen thủy phân thu được khi sử dụng pepsin có nồng độ khác nhau. Theo đó, khi tăng nồng độ thì hiệu suất thu hồi cũng tăng. Tại các nồng độ enzyme (0,050 và 0,075 wt.%), hiệu suất thu hồi collagen thấp là do một phần collagen chưa bị thủy phân nên có thể bị loại bỏ khi lọc

tách, trước giai đoạn tinh chế. Tại các nồng độ enzyme (0,200 và 0,300 wt.%), thì lượng collagen thu hồi không cao hơn nhiều so với tại nồng độ 0,100 wt.%. Do đó, tỷ lệ enzyme/vảy cá 0,100 wt.% được đề xuất cho quá trình thủy phân collagen.

Bảng 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme/vảy cá đến hiệu quả thu hồi collagen thủy phân

Tỷ lệ enzyme/vảy cá (wt.%)	0,050	0,075	0,100	0,200	0,300
Hiệu suất thu collagen (%)	70,1 ± 0,9	78,4 ± 0,8	88,3 ± 1,4	90,8 ± 0,5	92,3 ± 1,3

Khi sử dụng acid axetic kết hợp pepsin để thủy phân collagen với thời gian thủy phân khác nhau (12, 24, 36, 48, 72 giờ), các thông số

khác được giữ cố định gồm nhiệt độ (4°C), tỷ lệ da cá/dung dịch thủy phân (1:10 w/v), nồng độ acid axetic (0,5M), tỷ lệ enzyme/vảy cá (0,100

wt.%). Bảng 6 trình bày kết quả về hàm lượng bột collagen thủy phân thu được khi thủy phân với thời gian khác nhau. Theo đó, khi tăng thời gian thì hiệu suất thu hồi cũng tăng. Tuy nhiên,

khi tăng lên đến 48 giờ, thì lượng collagen thu được không tăng nhiều so với thời gian 36 giờ. Do đó, thời gian thủy phân 36 giờ được đề xuất cho quá trình thủy phân collagen.

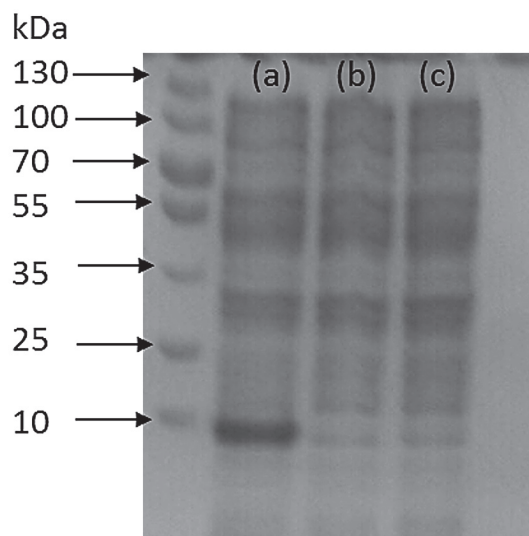
**Bảng 6. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu quả thu hồi collagen thủy phân**

Thời gian (h)	12	24	36	48	72
Hiệu suất thu collagen (%)	70,5 ± 1,2	80,3 ± 1,1	88,5 ± 0,8	90,5 ± 0,8	92,7 ± 0,5

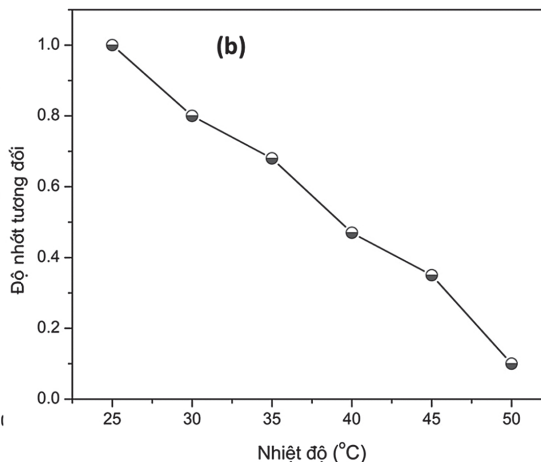
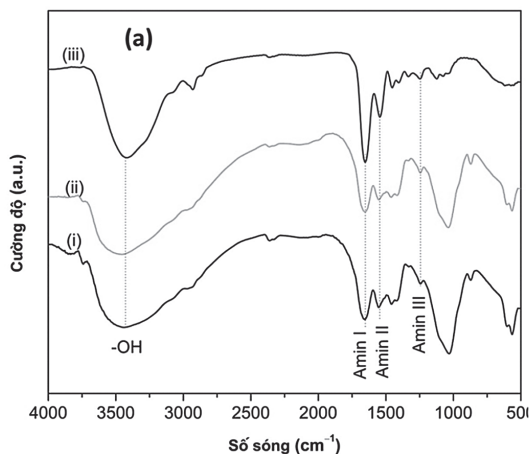
**3.5. Tính chất của sản phẩm collagen thủy phân**

Kết quả từ Hình 3 cho thấy collagen thủy phân có khối lượng phân tử phân bố chủ yếu trong khoảng từ 10 – 100 kDa khi mẫu được thủy phân bằng sự kết hợp acid axetic và pepsin trong thời gian khác nhau. Mẫu thủy phân trong 36 giờ thu được collagen thủy phân với  $M_w$  chủ yếu trong khoảng 10 kDa, trong khi đó các mẫu thủy phân sau 12 và 24 giờ cho sản phẩm với khối lượng phân tử cao hơn (chủ yếu trong khoảng 55 kDa).

Cấu trúc hóa học của vây cá trước và sau khi khử protein phi collagen và collagen thủy phân được đánh giá dựa trên phổ FTIR (Hình 4a). Quan sát cho thấy sự giống và khác biệt về sự hiện diện của các nhóm chức trong các mẫu phân tích. Tất cả các mẫu đều xuất hiện các đỉnh đặc trưng cho các nhóm chức amin



**Hình 3. Kết quả điện di SDS-PAGE của các mẫu collagen thủy phân thu được sau (a) 36 giờ, (b) 24 giờ, (c) 12 giờ.**



**Hình 4. (a) Phổ FTIR của (i) vây cá, (ii) vây cá sau khử protein phi collagen, (iii) collagen thủy phân và (b) nhiệt độ biến tính của collagen thủy phân.**

I (1654 - 1653  $cm^{-1}$ ), amin II (1552 - 1544  $cm^{-1}$ ), amin III (1243- 1244  $cm^{-1}$ ) trong phân tử collagen. Tuy nhiên, sự khác biệt lớn nhất là sự xuất hiện các đỉnh trong phổ của mẫu vây cá

trước và sau khử protein phi collagen tại bước sóng 1037 và 565  $cm^{-1}$  (Hình 4a). Hai đỉnh này đặc trưng cho liên kết P-O và Ca-O trong phân tử hydroxyapatite ( $Ca_3(PO_4)_3OH$ ) [12]. Không

có sự xuất hiện các đỉnh lạ chứng tỏ sản phẩm collagen thủy phân có độ tinh khiết cao, do đó có tiềm năng lớn trong các ứng dụng sau này. Hình 4b cho thấy độ nhớt của collagen thủy phân giảm khi tăng nhiệt độ. Theo đó, nhiệt độ biến tính của collagen thủy phân thu được từ vây cá (khi độ nhớt tương đối dưới 0,5) là từ trên 37°C (Hình 4b).

Thành phần acid amin của collagen thủy phân thu được khi thủy phân với thời gian 36 giờ, nhiệt độ 4°C, tỷ lệ da cá/dung dịch thủy

phân (1:10 w/v), nồng độ acid axetic (0,5 M), tỷ lệ enzyme/vây cá (0,100 wt.%) được trình bày trong Bảng 7. Kết quả cho thấy glycine chiếm thành phần lớn nhất (14,4 %.wt). Các acid amin có hàm lượng khá cao trong collagen thủy phân thu được là proline (8,9%.wt), glutamic (8,4%.wt), alanine (7,4%.wt). Kết quả này khá tương đồng với kết quả đã công bố trước đây [1,3,8]. Không có tryptophan trong thành phần của mẫu dịch thủy phân.

**Bảng 7. Thành phần acid amin của collagen thủy phân thu được**

STT	Acid amin	Hàm lượng (%.wt)	STT	Acid amin	Hàm lượng (%.wt)
1	Glycine	14,4	10	Serine	3,0
2.	Proline	8,9	11	Glutamic	8,4
3	Hydroxyproline	5,7	12	Iso Lucine	1,5
4	Tyrosine	1,0	13	Threonine	2,9
5	Phenylalanine	2,1	14	Histidine	0,5
6	Valine	1,9	15	Aspartic	4,2
7	Alanine	7,4	16	Lysine	2,8
8	Methionine	1,3	17	Arginine	5,3
9	Leucine	2,6			

#### IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Collagen dạng vảy có thể được thu nhận từ vây cá chêm (*Lates calcarifer*) với điều kiện xử lý thích hợp nhất là khử phi collagen với NaOH 0,2M (tỷ lệ vảy cá/dung dịch NaOH 1/20 w/v) trong 12 giờ, khử khoáng bằng EDTA 0,5M (tỷ lệ vảy cá/dung dịch EDTA 1/10 w/v) trong 6 giờ. Dịch collagen thủy phân thu được trong điều kiện thời gian 36 giờ, nhiệt độ 4°C, tỷ lệ vảy collagen/dung dịch thủy phân (1:10 w/v),

nồng độ acid axetic (0,5 M), tỷ lệ enzyme/vây collagen (0,100 wt.%). Sản phẩm vảy collagen có độ tinh sạch cao. Collagen thủy phân có khối lượng phân tử thấp (khoảng 10 kDa) và độ tinh khiết cao. Tuy nhiên, đây mới chỉ là các kết quả nghiên cứu bước đầu. Để có thể tiến gần đến sản xuất ở quy mô lớn và ứng dụng trong thực tế thì cần tiến hành các nghiên cứu thử nghiệm và tính toán hiệu quả kinh tế .

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Li, J., Qiao, Y., Tian, Y., Liu, J., Qin, S., Wu, W. (2018), "Extraction and characterization of type I collagen from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its potential application in biomedical scaffold material for tissue engineering" *Process Biochemistry*, 74, pp. 156-163.
- Muralidharan, N., Shakila, R.J., Sukumar, D., Jeyasekaran, G. (2011), "Skin, bone and muscle collagen extraction from the trash fish, leather jacket (*Odonus niger*) and their characterization" *Association of Food Scientists & Technologists*, 50, pp. 1106-13.
- Samantha, P., Ying, P.C., Kwan, K.W. (2017), "Low molecular weight collagen from tilapia fish scales for potential cosmetic application" *Der Pharma Chemica*, 9, pp. 108-114.
- Furtado, M., Chen, L., Chen, Z., Chen, A., Cui, W. (2022), "Development of fish collagen in tissue

- regeneration and drug delivery” *Engineered Regeneration*, 3, pp. 217 – 231.
5. Silvipriya, K.S., Kumar, K.K., Bhat, A.R., Kumar, B.D., John, A., Lakshmanan, P., Appl, J. (2015), “Collagen: Animal sources and biomedical application” *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5, pp. 123-127.
  6. Feng, X., Zhang, X., Li, S., Zheng, Y., Shi, X., Li, F., Guo, S., Yang, J. (2020), “Preparation of aminated fish scale collagen and oxidized sodium alginate hybrid hydrogel for enhanced full-thickness wound healing” *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, pp. 626-637.
  7. Duan, R., Zhang, J., Du, X., Yao, X., Konno, K. (2009), “Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*)” *Food and Chemistry*, 112, pp. 702-706.
  8. Anwar, M.M., Shalaby, M.A., Saeed, H., Mostafa, H.M., Hamouda, D., Nounou, H. (2022), “Theophylline-encapsulated Nile Tilapia fish scale-based collagen nanoparticles effectively target the lungs of male Sprague–Dawley rats” *Scientific Reports*, 12, pp. 4871.
  9. Huda, N., Abdullah, A., Babji, A.S., (2011) “Fish bone and scale as a potential source of Halal gelatin” *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 6 (4), pp. 379-389.
  10. Shalaby, M., Agwa, M., Saeed, H., Khedr, S.M., Morsy O., El-Demellawy, M.A. (2020), “Fish scale collagen preparation, characterization and its application in wound healing” *Journal of Polymers and the Environment* 28, pp. 166–178.
  11. Jafari, H., Lista, A., Siekapen, Ghaari-Bohlouli, P., Nie, L., Alimoradi, H., Shavandi, A. (2020), “Fish collagen: Extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering” *Polymers*, 12, pp. 2230.
  12. Boronat, O., Sintes, P., Celis, F., Díez, M., Ortiz, J., Aguiló-Aguayo, I., Martín-Gómez, H. (2023), “Development of added-value culinary ingredients from fish waste: Fish bones and fish scales” *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 31, pp. 100657.
  13. Subhan, F., Husain, Z., Tauseef I., Shehzad, A., Wahid, F. (2021), “A review on recent advances and applications of fish collagen” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61, pp. 1027-1037.
  14. AOAC (1990), “Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists”, *The Association: Arlington, VA, Vol. II, 15th ed. Sec.985.29*.
  15. Osorio-Madrado A., David L., Trombotto S., Lucas J.-M., Peniche-Covas C. và Domard A. (2010), “Kinetics study of the solid-state acid hydrolysis of chitosan: Evolution of the crystallinity and macromolecular structure”, *Biomacromolecules*, 11(5), pp. 1376-1386.
  16. Bligh E.G. và Dyer W.J. (1959), “A rapid method of total lipid extraction and purification”, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), pp. 911-917.
  17. Chen, S., Chen, H., Xie, Q., Hong, B., Chen, J., Hua, F., Bai, K., He, J., Yi, R., Wu, H. (2016), “Rapid isolation of high purity pepsin-soluble type I collagen from scales of red drum fish (*Sciaenops ocellatus*)” *Food Hydrocolloids*, 52, pp. 468-477.
  18. Wang, L., An, X., Yang, F., Xin, Z., Zhao, L., Hu, Q. (2008), “Isolation and characterisation of collagens from the skin, scale and bone of deep-sea redfish (*Sebastes mentella*)” *Food Chemistry*, 108, pp. 616-623.
  19. Le, T.M.T., Okazaki, O., Osako, K. (2014), “Isolation and characterization of acid-soluble collagen from the scales of marine fishes from Japan and Vietnam” *Food Chemistry*, 149, pp. 264-270.
  20. Xiang, X., Long, F., Narkar, A., Ronald E. K., Reza S.Y., Lee, B.P., Heiden, P.A. (2015), “Is there value in chemical modification of fish scale surfaces” *Journal of Applied Polymer Science*, 133, pp. 1-6.