

CHIẾT XUẤT COLLAGEN TAN TRONG ACID TỪ DA LỢN

Trần Thị Hào¹, Nguyễn Thị Hoa¹, Phạm Thanh Khiết¹, Vũ Thị Huệ¹,
Vũ Thị Minh Thư¹, Nguyễn Quang Vinh¹, Phạm Thị Hoa¹,
Lê Công Huân¹, Nguyễn Tiến An^{1*}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Chiết xuất được collagen từ da lợn bằng phương pháp thủy phân xúc tác acid.

Phương pháp: Chiết xuất collagen từ da lợn bằng phương pháp thủy phân xúc tác acid. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất collagen gồm quá trình tẩy màu, tách loại chất béo và tạp chất, nồng độ acid acetic và thời gian phản ứng thủy phân. Cấu trúc của collagen thu được được phân tích bằng phương pháp phổ hồng ngoại (IR) và phổ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis). Khảo sát xác định một số tính chất của collagen như hàm ẩm, độ nhớt và giá trị pH của dung dịch collagen.

Kết quả nghiên cứu: Collagen được tách từ da lợn sử dụng acid acetic nồng độ 0,5M, tỷ lệ da lợn/dung dịch acid acetic là 1/10 (w/v) trong thời gian 48 giờ. Cấu trúc của collagen được chứng minh bằng phổ hồng ngoại và phổ tử ngoại - khả kiến. Collagen thu được ở dạng bột, màu trắng ngà, hàm ẩm khoảng 8,81%, dung dịch collagen (1,0 gam collagen/70 ml nước) có giá trị pH là 6,85 và dung dịch collagen 0,5 g/dL có độ nhớt là 1,487 cP.

Kết luận: Đã tách được collagen từ da lợn với hiệu suất thu hồi đạt khoảng 22,5%. Kết quả xác định đặc tính lý hóa như hàm ẩm, độ pH và độ nhớt cho thấy collagen thu được có tiềm năng ứng dụng trong các lĩnh vực thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm.

Từ khóa: Collagen, da lợn, ASC, phổ hồng ngoại.

ACID-SOLUBLE COLLAGEN (ASC) EXTRACTION FROM PORCINE SKIN

ABSTRACT

Objective: Collagen was extracted from porcine skin by acid-catalyzed hydrolysis.

Methods: Extraction of collagen from porcine skin by acid-catalyzed hydrolysis. The study investigated factors affecting the collagen extraction process, including decolorization, removal of fat and impurities, acetic acid concentration, and

hydrolysis reaction time. The structure of the extracted collagen was characterized using infrared (IR) spectroscopy and ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy. Several properties of the collagen, such as moisture content, viscosity, and the pH value of the collagen solution, were also examined.

Results: Collagen was successfully extracted from porcine skin using 0.5 M acetic acid, at a skin-to-acid solution ratio of 1:10 (w/v), over a 48-hour period. The structure of the collagen was confirmed through IR and UV-Vis spectroscopy. The obtained collagen was in powder form, with an off-white color, a moisture content of approximately 8.81%; the collagen solution (1.0 g of collagen/70 mL of water) had a pH value of 6.85, and the collagen solution at a concentration of 0.5 g/dL had a viscosity of 1.487 cP.

Conclusion: Collagen was successfully extracted from porcine skin with a yield of approximately 22.5%. The determination of physicochemical properties such as moisture content, pH, and viscosity indicates that the obtained collagen has potential applications in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries.

Keywords: Collagen, porcine skin, ASC, Infrared spectroscopy

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Collagen là một loại protein dạng sợi (protein cấu trúc), chiếm phần lớn trong mô thịt và mô liên kết của cơ thể người và động vật có vú (collagen chiếm khoảng 25-35% tổng số protein của cơ thể). Collagen phân bố chủ yếu ở da, gân, xương, dây chằng, sụn, vây và các bộ phận khác của cơ thể, và đóng vai trò chính trong việc duy trì độ bền, đàn hồi và liên kết của mô liên kết [1].

Collagen có nhiều tính chất quý như khả năng tạo sợi bền và đàn hồi, khả năng hòa tan tốt, tạo gel và nhũ hóa ổn định, có tính tương thích sinh học và phân hủy sinh học, giữ ẩm tốt và hoạt tính chống oxy hóa cao nên đã được nghiên cứu ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau [2], [3]. Trong lĩnh vực thực phẩm, collagen được thêm vào nhiều loại thực phẩm và đồ uống để bổ sung hàm lượng collagen cho cơ thể, cải thiện tính chất lưu biến của sản phẩm, đóng vai trò chất keo bảo vệ giúp

1. Trường Đại học Y Dược Thái Bình

Tác giả chính: Nguyễn Tiến An

E-mail: anydtb80@gmail.com

Ngày nhận bài: 18/7/2025

Ngày phản biện: 19/9/2025

Ngày duyệt bài: 23/9/2025

tăng độ dai, giòn hoặc giữ nước tốt hơn trong thực phẩm [4], [5]. Collagen được sử dụng như một lớp màng bảo vệ thực phẩm để kéo dài thời gian sử dụng của thực phẩm [6]. Trong lĩnh vực y sinh và dược phẩm, collagen được sử dụng làm phương tiện vận chuyển thuốc, protein và gen [7]. Collagen được ứng dụng để tạo màng bao dược phẩm (bao con nhộng cứng và mềm), sử dụng trong điều trị viêm khớp, cứng khớp [8]. Vật liệu biến tính từ collagen có khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa và hạ huyết áp [9]. Trong lĩnh vực mỹ phẩm, collagen được sử dụng để chống lão hóa, ngăn ngừa và cải thiện nếp nhăn, tạo ra một hệ thống nâng đỡ, hỗ trợ các đặc tính cơ học của da như sức căng, độ đàn hồi, duy trì độ ẩm tối ưu cho da, đảm bảo sắc tố da, làm cho da mịn màng, tươi tắn và trẻ trung [10].

Hiện nay trên thế giới, collagen được sản xuất từ phụ phế thải của lĩnh vực chế biến thịt (xương, da, gân và các mô liên kết) của nhiều loại động vật khác nhau. Tuy nhiên, hiện nay phần lớn lượng collagen được sử dụng trên thị trường được sản xuất từ xương bò và da lợn do đây là nguồn nguyên liệu có sản lượng lớn, quy trình trích ly không quá phức tạp, hiệu suất trích ly cao [1]. Phương pháp chiết xuất collagen bao gồm: phương pháp vật lý sử dụng sóng siêu âm, phương pháp hòa tan với muối, phương pháp kiềm, acid và phương pháp enzyme. Trong đó phương pháp acid và phương pháp enzyme thường được sử dụng do hiệu suất trích ly cao hơn và sản phẩm có khả năng ứng dụng trong lĩnh vực đòi hỏi collagen có độ tinh khiết cao là y dược, thực phẩm và mỹ phẩm [11].

Ở Việt Nam, mặc dù nguồn nguyên liệu chứa collagen khá phong phú nhưng nghiên cứu về sản xuất và ứng dụng collagen từ da lợn còn khá hạn chế. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu là tách được collagen từ da lợn và đánh giá một số tính chất lý hóa của collagen thu được, từ đó tạo tiền đề cho nghiên cứu ứng dụng collagen trong các lĩnh vực như y dược phẩm, thực phẩm và mỹ phẩm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Da lợn.

Địa điểm nghiên cứu: Các nội dung nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Cơ bản, Trường Đại học Y Dược Thái Bình.

Thời gian nghiên cứu: Thời gian thực hiện nghiên cứu từ tháng 01/2025 đến tháng 6/2025.

2.2. Nguyên liệu, hoá chất và trang thiết bị

Da lợn được thu mua ở một số cơ sở giết mổ, đầu mối phân phối sản phẩm thịt trên địa bàn Thành phố Thái Bình. Lựa chọn phần da có độ dày đồng đều, không có vết rách hoặc trầy xước, màu sắc đồng đều. Da không chứa phần lông, mỡ, mảnh xương, các tạp chất và không có mùi hôi.

Một số hóa chất chính dùng trong nghiên cứu gồm: Acetic acid (CH_3COOH), sodium chloride (NaCl), sodium hydroxide (NaOH), Hydroperoxide (H_2O_2),...vv. Các hóa chất thuộc loại tinh khiết phân tích của hãng Merck (Đức).

Các trang thiết bị chính được sử dụng trong quá trình nghiên cứu gồm: Thiết bị li tâm tốc độ cao, thể tích mẫu 5 ml: KUBOTA 2420 – Nhật Bản; Thiết bị ghi phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis) U-2900 Spectrophotometer, vùng bước sóng 200-800nm; Thiết bị phân tích phổ hồng ngoại FTIR Affinity-1S, SHIMADZU, vùng ghi phổ 4000-400 cm^{-1} .

2.3. Phương pháp thực nghiệm

2.3.1. Tẩy màu da lợn

Da lợn được xử lý sơ bộ để loại bỏ một số thành phần như chất béo (lipid), lông, tạp chất dính vào da trong quá trình giết mổ và vận chuyển, sau đó rửa sạch và để ráo nước. Da lợn được cắt thành miếng có kích thước thích hợp 1x1cm trước khi tẩy màu. Quy trình tẩy màu da lợn được thực hiện theo các bước như sau: Chuẩn bị 6 cốc đựng dung dịch H_2O_2 nồng độ tương ứng là 0,1-0,3-0,5-1,0-1,5-2,0% (v/v); Cân 6 mẫu da lợn, mỗi mẫu 10 gam, cho vào cốc đựng 100ml dung dịch H_2O_2 ở trên, khuấy đều trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ phòng; Lọc thu hồi da lợn, rửa sạch bằng nước cất đến pH =7 thu được da lợn đã tẩy màu.

2.3.2. Tách chất béo và tạp chất

Da lợn sau khi tẩy màu được chuyển qua giai đoạn thủy phân tách loại chất béo (lipid) và tạp chất. Quy trình được thực hiện như sau: Chuẩn bị 5 cốc đựng dung dịch NaOH có nồng độ tương ứng là 0,01-0,05-0,1-0,15-0,2M (các mẫu tương ứng được kí hiệu từ M1-M5); Cho da lợn đã tẩy màu vào 5 cốc trên theo tỷ lệ khối lượng da lợn/ thể tích dung dịch NaOH là 1/10 (w/v) (đảm bảo da lợn ngập trong nước). Đặt cốc lên máy khuấy, khuấy liên tục trong thời gian 48 giờ. Sau đó gạn bỏ phần dung dịch, phần da được rửa nhiều lần bằng nước cất đến pH=7, để ráo nước, cân xác định hiệu suất thu hồi da lợn (HS) theo công thức $\text{HS}=(m_2/m_1)'100\%$, trong đó m_1 và m_2 tương ứng

là khối lượng da lợn ban đầu và da lợn sau khi tách chất béo, tạp chất.

2.3.3. Chiết xuất collagen

Quy trình chiết xuất collagen từ da lợn (đã tẩy màu, tách loại chất béo và tạp chất) được thực hiện như sau:

Cho da lợn (thu được từ 10 gam da lợn ban đầu, sau khi tẩy màu và tách chất béo, tạp chất) vào cốc đựng 100 ml dung dịch acid acetic (nồng độ thay đổi từ 0,1-0,3-0,5-0,7-1,0 M), khuấy đều trong thời gian (thay đổi từ 8-24-36-48-60-72 giờ). Sau phản ứng, lọc thu lấy phần dịch lọc cho từ từ vào cốc chứa 100 ml dung dịch NaCl bão hòa, kết hợp khuấy để kết tủa collagen. Lọc trên phễu lọc (kết hợp li tâm), rửa nhiều lần bằng nước đã đến pH = 7; Lấy kết tủa, sấy khô ở 50°C trong thời gian 3 giờ thu được collagen. Hiệu suất thu hồi collagen (HSColl) được tính theo công thức: $HSColl = (mColl/mda\ lợn) \cdot 100\%$, trong đó mColl là khối lượng collagen thu được và mda lợn là khối lượng da lợn ban đầu.

+ Phổ hồng ngoại của collagen được ghi trên thiết bị Instrument: FTIR Affinity-1S, SHIMADZU, trong vùng 4000-400 cm⁻¹, mẫu được ép viên với KBr.

+ Phổ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis) được ghi trên thiết bị U-2900 Spectrophotometer, vùng bước sóng 200-800nm. Dung dịch collagen được tạo ra

bằng cách hòa tan 0,1 gam collagen trong 100ml nước, khuấy đều để collagen tan, sau đó li tâm để loại bỏ phần không tan. Mẫu trắng là nước cất để chuẩn máy.

+ pH của dung dịch collagen được xác định theo phương pháp của Ayu Aditya Andayani và cộng sự [12]. Theo đó, dung dịch collagen được tạo ra bằng cách hòa tan 1,0 gam collagen trong 70 ml nước cất, khuấy đều để collagen tan hoàn toàn. Đo pH của dung dịch collagen thu được bằng máy đo pH.

+ Độ ẩm của collagen được xác định theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 4326:2001) [13], quy trình được thực hiện như sau: cân m1 gam collagen, sấy ở nhiệt độ 103°C trong thời gian 4 giờ; Sau đó lấy ra, cho vào bình hút ẩm để nguội đến nhiệt độ phòng; cân được khối lượng m2 gam. Độ ẩm (DA) được tính theo công thức: $DA = [(m1 - m2)/m1] \cdot 100\%$.

+ Độ nhớt của dung dịch collagen được xác định theo phương pháp của Ayu Aditya Andayani và cộng sự [12]. Theo phương pháp này, cho 0,5 gam collagen vào cốc chứa 100 ml nước cất, khuấy trên máy khuấy từ trong thời gian 30 phút, li tâm để loại bỏ phần không tan. Đo thời gian chảy của dung dịch collagen bằng nhớt kế Ostwald để tính toán giá trị độ nhớt [14].

III. KẾT QUẢ

3.1. Xử lý sơ bộ da lợn

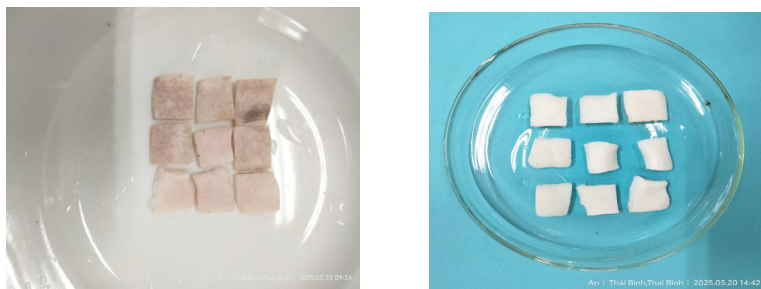
3.1.1. Tẩy màu da lợn

Kết quả đánh giá cảm quan da lợn sau khi được tẩy màu bằng dung dịch H₂O₂ có nồng độ khác nhau được trình bày trên bảng 1 và minh họa trên hình 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ H₂O₂ đến tính chất cảm quan của da lợn

Mẫu	Nồng độ H ₂ O ₂ (%)	Da lợn	
		Màu sắc	Mùi vị
M1	0,1	Nhạt màu	Không mùi
M2	0,3	Nhạt màu	Không mùi
M3	0,5	Trắng	Không mùi
M4	1,0	Trắng	Không mùi
M5	1,5	Trắng	Không mùi
M6	2,0	Trắng	Không mùi

Kết quả thu được cho thấy, ở nồng độ dung dịch H₂O₂ thấp (0,1%), da vẫn có màu hồng nhạt; trường hợp da ban đầu có màu nâu đen, màu bị nhạt dần; Khi nồng độ H₂O₂ sử dụng từ 0,5% (v/v) trở lên, da lợn thu được đều có màu trắng sáng và không có mùi. Như vậy, nồng độ dung dịch H₂O₂ thích hợp sử dụng trong tẩy màu da lợn là 0,5% (v/v).



Hình 1: Da lợn trước và sau tẩy màu bằng dung dịch H_2O_2 0,5%

3.1.2. Tách loại chất béo và tạp chất

Kết quả khảo sát khả năng tách loại chất béo và tạp chất từ da lợn sử dụng dung dịch NaOH có nồng độ khác nhau được trình bày trên bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ NaOH đến hiệu suất thu hồi nguyên liệu da lợn

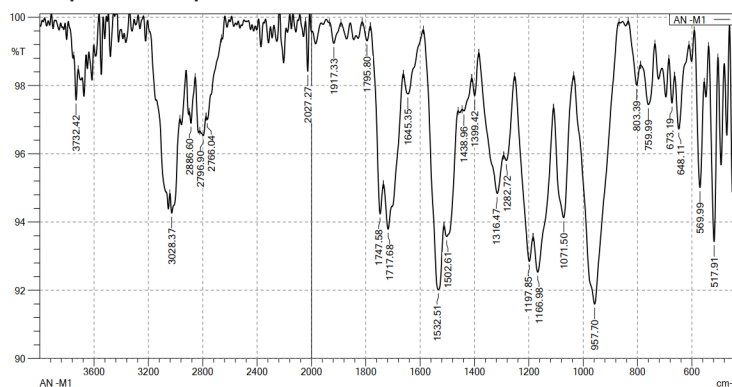
Mẫu	m_1 (gam)	m_2 (gam)	$HS=(m_2/m_1) \cdot 100\%$
M1	10,232	10,09	98,57
M2	9,908	9,353	95,40
M3	10,137	9,472	93,44
M4	10,012	9,279	92,68
M5	10,189	8,807	86,44

Kết quả thu được ở trên cho thấy, khi tăng nồng độ dung dịch NaOH từ 0,01 đến 0,1M hiệu suất thu hồi nguyên liệu giảm khá nhanh (do sự thủy phân chất béo và tạp chất); khi nồng độ dung dịch NaOH tăng từ 0,1 đến 0,15M, hiệu suất thu hồi nguyên liệu giảm chậm và sau đó giảm nhanh khi nồng độ dung dịch NaOH vượt quá 0,15M (có thể do ở nồng độ dung dịch NaOH gây ra sự thủy phân protein). Như vậy, nồng độ dung dịch NaOH được chọn sử dụng trong nghiên cứu là 0,1M.

3.2. Chiết xuất collagen

3.2.1. Phổ hồng ngoại của collagen

Phổ hồng ngoại của collagen thu được từ quá trình chiết xuất sử dụng dung dịch acid acetic 0,5M, thời gian phản ứng là 48 giờ được minh họa trên hình 2.

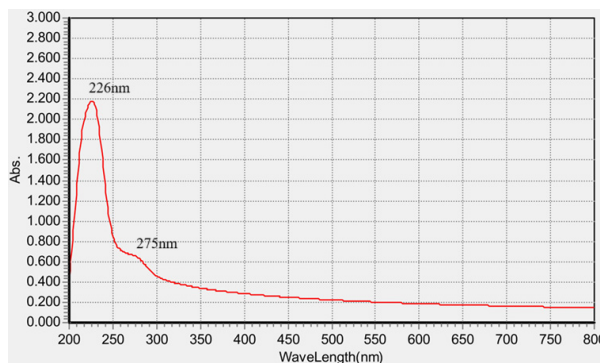


Hình 2. Phổ hồng ngoại của collagen tách từ da lợn

Tín hiệu trên phổ hồng ngoại của collagen được quy kết như sau: tín hiệu tại $3732,42\text{ cm}^{-1}$: đặc trưng cho dao động hóa trị của liên kết N-H (amide A); $3028,27\text{ cm}^{-1}$: dao động hóa trị của liên kết C-H ở carbon liên kết đôi; $2886,60\text{ cm}^{-1}$, $2796,90\text{ cm}^{-1}$ và $2766,04\text{ cm}^{-1}$: dao động hóa trị của liên kết CH_2 (amide B); $1747,58\text{ cm}^{-1}$ và $1717,68\text{ cm}^{-1}$: dao động hóa trị của nhóm carbonyl ($>\text{C}=\text{O}$) trong nhóm carboxylate ($-\text{COO}-$); $1645,35\text{ cm}^{-1}$: dao động hóa trị của nhóm carbonyl ($>\text{C}=\text{O}$) (amide I); $1532,51\text{ cm}^{-1}$ và $1502,61\text{ cm}^{-1}$: đặc trưng cho dao động biến dạng của liên kết N-H (amide II); $1197,85\text{ cm}^{-1}$ và $1166,98\text{ cm}^{-1}$: đặc trưng cho dao động biến dạng của liên kết N-H (amide III); $1071,50\text{ cm}^{-1}$ và $957,70\text{ cm}^{-1}$: đặc trưng cho dao động biến dạng của liên kết C-O. Các tín hiệu đặc trưng trên phổ thu được phù hợp với kết quả phân tích phổ hồng ngoại của collagen đã được công bố [15].

3.2.2. Phổ tử ngoại khả kiến của collagen

Phổ tử ngoại – khả kiến của collagen thu được từ quá trình chiết xuất sử dụng dung dịch acid acetic 0,5M, thời gian phản ứng là 48 giờ được minh họa trên hình 3.

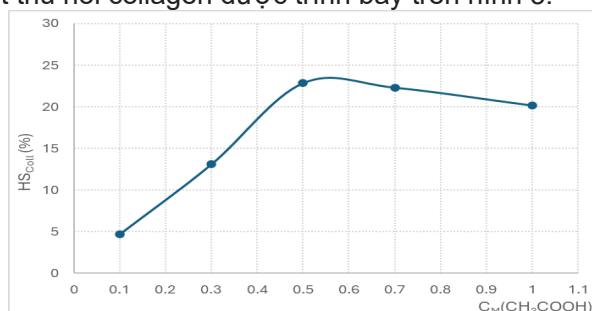


Hình 3. Phổ tử ngoại – khả kiến của collagen tách từ da lợn

Phổ tử ngoại – khả kiến thu được cho thấy xuất hiện hai tín hiệu cực đại hấp thụ đặc trưng của collagen gồm: tín hiệu tại 226 nm đặc trưng cho sự hấp thụ và chuyển mức năng lượng $n \rightarrow \pi^*$ của nhóm carbonyl ($>C=O$) trong nhóm chức carboxylate, amide; tín hiệu tại 275 nm đặc trưng cho sự hấp thụ và chuyển mức năng lượng của $\pi \rightarrow \pi^*$ của liên kết đôi trong các đơn vị cấu trúc amino acid chứa vòng thơm như phenylalanine, tryptophan, tyrosine. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu đã công bố về đặc điểm phổ tử ngoại khả kiến của collagen [16].

3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ acid acetic đến khả năng tách collagen

Để khảo sát ảnh hưởng của dung dịch acid acetic đến khả năng thu hồi collagen từ da lợn, nồng độ acid acetic được sử dụng thay đổi từ 0,1-0,3-0,5-0,7-1,0 M. Quá trình chiết xuất được thực hiện trong thời gian 72 giờ. Hiệu suất thu hồi collagen được trình bày trên hình 3.

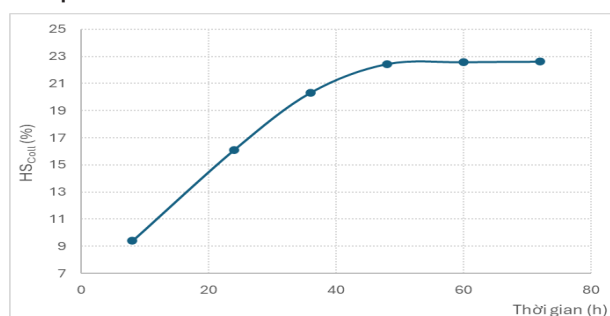


Hình 3: Ảnh hưởng của nồng độ acid acetic đến hiệu suất thu hồi collagen

Kết quả thu được ở trên cho thấy, khi tăng nồng độ acid acetic từ 0,1M đến 0,5M, lượng collagen thu được tăng nhanh (đạt gần 22,5%); khi nồng độ acid acetic sử dụng vượt quá 0,5M, lượng collagen thu được có xu hướng giảm dần. Nồng độ acid acetic thích hợp để tách collagen từ da lợn là 0,5M.

3.2.4. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng tách collagen

Quy trình chiết xuất collagen được thực hiện như trong phần thực nghiệm, sử dụng dung dịch acid acetic 0,5M. Thực hiện với 6 mẫu, thời gian chiết xuất thay lần lượt là 8-24-36-48-60-72 giờ. Hiệu suất thu hồi collagen được minh họa trên hình 4.



Hình 4: Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất thu hồi collagen

Kết quả thu được ở trên cho thấy, khi tăng thời gian chiết xuất từ 8 đến 48 giờ, hiệu suất thu hồi collagen tăng khá nhanh và gần đạt giá trị cực đại khi thời gian chiết xuất là 48 giờ; khi thời gian chiết xuất lớn hơn 48 giờ, hiệu suất thu hồi collagen tăng chậm. Như vậy, thời gian chiết xuất thích hợp để đạt hiệu suất thu hồi collagen lớn nhất là 48 giờ.

3.2.5. Một số đặc trưng lý hóa của collagen

Thực hiện chiết xuất collagen theo quy trình trình bày trong phần thực nghiệm, sử dụng dung dịch acid acetic 0,5M, thời gian chiết xuất là 48 giờ. Collagen thu được ở dạng bột, màu trắng ngà. Kết quả xác định hàm ẩm, độ nhớt và pH của dung dịch collagen, kết quả được thống kê trên bảng 3.

Bảng 3. Đặc trưng hàm ẩm, độ nhớt và pH của dung dịch collagen

Mẫu	Hàm ẩm DA (%)	Mẫu	Độ nhớt (cP)	Mẫu	pH
A1	8,80	B1	1,486	C1	6,83
A2	9,20	B2	1,492	C2	6,84
A3	8,42	B3	1,483	C3	6,88
Trung bình	8,81	Trung bình	1,487	Trung bình	6,85

Kết quả thu được ở trên cho thấy, độ hút ẩm của collagen thu được đạt khoảng 8,81%, dung dịch collagen có giá trị pH đạt 6,85 và có độ nhớt 1,487 cP. Các giá trị này tương tự như kết quả được công bố bởi Ayu Aditya Andayani và cộng sự [12].

IV. BÀN LUẬN

Collagen là một loại protein dạng sợi (protein cấu trúc), chiếm phần lớn trong mô thịt và mô liên kết của cơ thể người và động vật có vú (collagen chiếm khoảng 25-35% tổng số protein của cơ thể). Collagen phân bố chủ yếu ở da, gân, xương, dây chằng, sụn, vây và các bộ phận khác của cơ thể, và đóng vai trò chính trong việc duy trì độ bền, đàn hồi và liên kết của mô liên kết [1]. Da của động vật có vú chủ yếu được cấu tạo từ nước, protein, chất béo, carbohydrate và khoáng chất. Việc chiết xuất collagen từ da động vật nói chung và da lợn nói riêng thường qua hai giai đoạn chính là giai đoạn tiền xử lý nguyên liệu và chiết xuất collagen. Trong giai đoạn đầu, nguyên liệu thô được làm sạch, cắt nhỏ và qua bước tiền xử lý nhằm loại bỏ các hợp chất không phải collagen như mô liên kết, chất béo, sắc tố, máu, lông và các protein không phải collagen, đồng thời tối đa hóa quá trình thu hồi collagen [17]. Trong đề tài này, da lợn được cắt thành miếng kích thước 1'1 cm và tẩy màu bằng dung dịch hydroperoxide. Kết quả nghiên cứu cho thấy khi sử dụng dung dịch hydroperoxide nồng độ từ 0,5% (v/v) trở lên, da lợn thu được đều có màu trắng. Tuy nhiên, để hạn chế sự oxy hóa gây ra bởi hydroperoxide, nồng độ dung dịch hydroperoxide thích hợp được chọn để tẩy màu da lợn là 0,5% (v/v).

Về việc tách loại các thành phần phi collagen như lipid và các tạp chất, cho đến nay hầu hết các nghiên cứu đã công bố cho thấy phương pháp phổ biến là sử dụng dung dịch kiềm như NaOH, KOH do ít gây ra sự thay đổi cấu trúc đối với chuỗi

collagen [18]. Trong nghiên cứu này, việc tách loại lipid và tạp chất được thực hiện sử dụng dung dịch NaOH có nồng độ thay đổi từ 0,01-0,05-0,1-0,15-0,2M. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi xử lý da lợn với dung dịch NaOH, khối lượng da lợn thu được đều giảm. Điều này là do đã xảy ra sự thủy phân chất béo và tách loại các tạp chất ra khỏi da lợn; Ở nồng độ dung dịch NaOH thấp (0,01 và 0,05M) và nồng độ cao (0,2M), sự giảm khối lượng da lợn xảy ra khá nhanh, trong khi đó mẫu sử dụng dung dịch NaOH nồng độ 0,1 và 0,15M, sự giảm khối lượng da lợn xảy ra chậm hơn. Điều này có thể là do ở nồng độ dung dịch NaOH thấp, chủ yếu xảy ra phản ứng thủy phân chất béo và tách loại các tạp chất; đối với mẫu sử dụng dung dịch NaOH nồng độ cao hơn, ngoài sự thủy phân chất béo và tách tạp chất còn có thể xảy ra sự thủy phân protein, nên khối lượng da lợn thu hồi được giảm nhanh hơn.

Hiện nay, phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu chứa collagen và mục đích sử dụng của collagen, nhiều phương pháp chiết xuất khác nhau đã được nghiên cứu và áp dụng. Các phương pháp chiết xuất collagen bao gồm phương pháp thủy phân acid, phương pháp thủy phân acid kết hợp với enzyme pepsin, phương pháp hòa tan trong muối và phương pháp tách collagen với sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Trong đó, phương pháp thủy phân acid thường được sử dụng trong công nghiệp. [19]. Một số acid được sử dụng để tách collagen như acid acetic, acid citric và acid lactic [20]. Trong nghiên cứu này, collagen được tách từ da lợn sử dụng phương

pháp thủy phân acid sử dụng tác nhân acid acetic. Kết quả phân tích phổ hồng ngoại và tử ngoại khả kiến cho thấy xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của phân tử collagen. Trên phổ hồng ngoại, xuất hiện các tín hiệu dao động đặc trưng của phân tử amino acid: liên kết N-H (amide A: 3732,42 cm^{-1}), liên kết C=O (amide I: 1645,35 cm^{-1}), N-H (amide II: 1532,51 cm^{-1} và 1502,61 cm^{-1}) và N-H (amide III: 1197,85 cm^{-1} và 1166,98 cm^{-1}). Kết quả này hoàn toàn phù hợp vì thành phần cấu tạo phân tử collagen gồm các amino acid như Glycine, Alanine, Proline và Hydroxyproline [21], [22]. Collagen có chứa nhiều liên kết peptide và một số amino acid thơm có khả năng hấp thụ ánh sáng trong vùng tử ngoại. Các đặc điểm hấp thụ chính gồm: Liên kết peptide ($-\text{CONH}-$) hấp thụ mạnh trong khoảng bước sóng 214,230 nm, do sự chuyển đổi điện tử $\pi \rightarrow \pi^*$ trong liên kết C=O của nhóm peptide; Các amino acid thơm như Tyrosine và Phenylalanine có dải hấp thụ mạnh vùng 260 - 280 nm [23]. Kết quả phân tích phổ tử ngoại khả kiến cho thấy xuất hiện hai tín hiệu đặc trưng của các chuyển mức năng lượng: chuyển mức năng lượng $n \rightarrow \pi^*$ tại 226 nm đặc trưng của nhóm carbonyl (C=O) trong nhóm chức carboxylate, amide và chuyển mức năng lượng của $\pi \rightarrow \pi^*$ tại 275 nm đặc trưng của liên kết đôi trong các đơn vị cấu trúc như tyrosine, phenylalanine và tryptophan. Như vậy, kết quả này phù hợp với kết quả được công bố bởi Jaziri và cộng sự về đặc trưng hấp thụ tử ngoại khả kiến của collagen [24].

Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tách collagen như nồng độ tác nhân acid và thời gian thủy phân đã được khảo sát. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất thu hồi collagen tăng nhanh khi nồng độ dung dịch acid acetic tăng từ 0,1 đến 0,5M; khi nồng độ dung dịch acid acetic lớn hơn 0,5M, hiệu suất thu hồi có xu hướng giảm. Điều này có thể là do nồng độ tác nhân acid acetic cao làm tăng mức độ thủy phân cắt mạch collagen tạo thành các phân tử oligopeptide làm giảm khối lượng phân tử của collagen. Khi thực hiện quá trình kết tủa trong dung dịch sodium chloride bão hòa để tách collagen, các phân tử nhỏ này vẫn tồn tại trong dung dịch mà không đi vào kết tủa, do đó khối lượng collagen thu được giảm. Tương tự như vậy, khi kéo dài thời gian phản ứng thủy phân cũng làm tăng lượng oligopeptide, nên hiệu suất thu hồi collagen cũng có xu hướng giảm dần. Như vậy, tùy thuộc vào mục đích sử dụng của loại collagen thu được mà có thể điều chỉnh thời gian và nồng độ

acid acetic cho phù hợp. Ở điều kiện thủy phân sử dụng dung dịch acid acetic nồng độ 0,5M và thời gian phản ứng thủy phân là 48 giờ, collagen thu được có độ hút ẩm khá cao (khoảng 8,81%). Độ hút ẩm cao của collagen có thể là do trong phân tử collagen chứa các nhóm chức có mức độ phân cực cao như amine, amide và carboxylate có khả năng tương tác mạnh với phân tử nước tạo nên tính chất hút nước mạnh của phân tử collagen. Kết quả xác định độ nhớt và giá trị pH của dung dịch collagen cho thấy độ nhớt của collagen đạt khoảng 1,487 cP và pH đạt 6,85. Kết quả này tương tự như công bố của Ayu Aditya Andayani và cộng sự [12]. Giá trị độ nhớt phụ thuộc vào khối lượng phân tử collagen và nồng độ của dung dịch, nồng độ dung dịch và khối lượng phân tử collagen càng cao thì độ nhớt của dung dịch càng cao. Tuy nhiên, khi khối lượng phân tử collagen lớn thì độ tan của collagen có thể giảm xuống và do đó hạn chế phạm vi ứng dụng của collagen.

V. KẾT LUẬN

Đã tách được collagen từ da lợn bằng phương pháp thủy phân xúc tác acid, sử dụng dung dịch acid acetic nồng độ 0,5M, tỷ lệ da lợn/dung dịch acid acetic là 1/10 (w/v) và thời gian thủy phân là 48 giờ. Hiệu suất thu hồi collagen đạt khoảng 22,5% so với khối lượng da lợn tươi. Cấu trúc của collagen được chứng minh bằng phổ hồng ngoại và phổ tử ngoại - khả kiến. Collagen thu được ở dạng bột, màu trắng ngà, hàm ẩm khoảng 8,81%, dung dịch collagen (1,0 gam collagen/70 ml nước) có giá trị pH = 6,85 và dung dịch collagen 0,5 g/dL có độ nhớt là 1,487 cP.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Duan, R., Zhang, J., Du, X, et al., (2009). Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chemistry*, 112(3), pp.702-706.
2. Nair, L& Laurencin, C. B., (2007). "Biodegradable polymers as biomaterial". *Prog. Polym. Sci*, 32, pp.762-798.
3. Lafarga, T. and Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Science*, 98(2), pp.227-239.
4. Tang, C., Zhou, K., Zhua, Y., et al., (2022). Collagen and its derivatives: From structure and properties to their applications in food industry, *Food Hydrocolloids*, 131, pp.107748.

5. **Neklyudov, A. D., (2003).** Nutritive fibers of animal origin: Collagen and its fractions as essential components of new and useful food products. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 39(3), pp.229-238.
6. **Bourtoom, T., (2008).** Review article. Edible films and coatings: Characteristic and properties. *International Food Research Journal*, 15(3), pp.237-248.
7. **Gómez-Guillén, M.C., Giménez, B., López-Caballero, et al., (2011).** Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), pp.1813-1827.
8. **Zhang, L., Wei, W., Xu, J., et al., (2008).** A randomized, double-blind, multicenter, controlled clinical trial of chicken type II collagen in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 59, pp.905-910.
9. **Wang, J., Wang, Y., Tang, Q., et al., (2010).** Antioxidation activities of lowmolecular-weight gelatin hydrolysate isolated from the sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Journal of Ocean University of China*, 9(1), pp.94-98.
10. **Zhuang, Y., Sun, L.P., Zhao, X., et al., (2010).** Investigation of gelatin polypeptides of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) for their antioxidant activity in vitro. *Food Technology and Biotechnology*, Vol.48, pp.222- 228.
11. **Yang, H. and Shu, Z., (2014).** The extraction of collagen protein from pigskin. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(2), pp.683–687.
12. **Ayu Aditya Andayani, Harmita Harmita, Baitha Palanggatan Maggadani (2018).** Isolation, purification, and characterization of porcine skin collagen: Analysis of the glycine, proline, and hydroxyproline components using high-performance liquid chromatography. *Int J App Pharm*, 10 (1), pp.294-298.
13. <https://caselaw.vn/van-ban-phap-luat/256857-tieu-chuan-viet-nam-tcvn-4326-2001-iso-6496-1999-ve-thuc-an-chan-nuoi-xac-dinh-do-am-va-ham-luong-chat-bay-hoi-khac-ban-hanh-boi-bo-truong-bo-khoa-hoc-cong-nghe-va-moi-truong-nam-2001>.
14. <https://readchemistry.com/2022/08/23/viscosity-measurement-of-viscosity>
15. **Helan Xiao, Guoping Cai, Mingyao Liu (2007).** Hydroxyl radical induced structural changes of collagen, *Spectroscopy*, 21, pp.91–103.
16. **Matarsim, N.N.; Jaziri, A.A.; Shapawi, R.; et al., (2023).** Type I Collagen from the Skin of *Barbacuda* (*Sphyrna* sp.) Prepared with Different Organic Acids: Biochemical, Microstructural and Functional Properties. *J. Funct. Biomater*, 14, pp.87.
17. **Wahyuningsih R, Nurliyani R, Pertiwinigrum A, et al., (2018).** Optimization of acid soluble collagen extraction from Indonesian local “Kacang” goat skin and physico-chemical properties characterization. *Chem. Eng. Trans.*, 63, pp.703–708.
18. **Zhang, M., Liu, W., & Li, G., (2009).** Isolation and characterisation of collagens from the skin of largefin longbarbel catfish (*Mystus macropterus*). *Food Chemistry*, 115(3), pp.826-831.
19. **Selma N Permadi, Tri Ujilestari, Lukman Hakim, et al., (2024).** Characteristics and Applications of Collagen from the Animal By-Product as a Potential Source for Food Ingredients, *Reviews in Agricultural Science*, 12, pp.327–346.
20. **Phanat Kittiphattanabawon, Soottawat Benjakul, Wonnop Visessanguan, et al., (2005).** Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*. 89, pp.363-372.
21. **Nelson, D.L. and Cox, M.M., (2004).** *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5th Edition, New York: W. H. Freeman, pp.1119.
22. **Tehseen Riaz, Rabia Zeeshan, Faiza Zarif, et al., (2018).** FTIR analysis of natural and synthetic collagen, *Applied Spectroscopy Reviews*, 53:9, pp.703-746.
23. **Abdul Aziz Jaziri, Rossita Shapawi, Ruzaidi Azli Mohd Mokhtar, et al., (2022).** Microstructural and Physicochemical Analysis of Collagens from the Skin of Lizardfish (*Saurida tumbil* Bloch, 1795) Extracted with Different Organic Acids, *Molecules*, 27(8), pp.2452.
24. **Jaziri, A.A.; Shapawi, R.; Mokhtar, R.A.M.; et al., (2022).** Microstructural and Physicochemical Analysis of Collagens from the Skin of Lizardfish (*Saurida tumbil* Bloch, 1795) Extracted with Different Organic Acids. *Molecules*, 27, pp.2452.