

CHIẾT XUẤT VÀ ĐẶC TÍNH HÓA LÝ CỦA COLLAGEN PEPTIDE TỪ VÁY CÁ RÔ PHI (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) HƯỚNG ĐẾN CÁC ỨNG DỤNG SINH HỌC TIỀM NĂNG

EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF COLLAGEN PEPTIDE FROM TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) SCALES FOR POTENTIAL BIOACTIVE APPLICATIONS

Lê Thanh Vũ¹, Lê Hương Thủy¹,
Đặng Xuân Cường^{2,*}, Trần Thị Thanh Vân³

DOI: <http://doi.org/10.57001/huiv5804.2025.187>

TÓM TẮT

Nghiên cứu này khảo sát các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình chiết collagen peptide từ vây cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) nhằm xác định thông số phù hợp cho thu nhận sản phẩm có giá trị sinh học. Quy trình thí nghiệm gồm xử lý nguyên liệu bằng NaOH (0,5N), tẩy mỡ bằng H₂O₂ (4%), chiết bằng CH₃COOH (1N), sau đó ly tâm và sấy thăng hoa. Kết quả cho thấy hiệu suất chiết đạt $78,0 \pm 2,4\%$ và hàm lượng collagen tương ứng $7,2 \pm 0,3\%$ (trên khối lượng khô). Phân tích FTIR ghi nhận các băng hấp thụ đặc trưng amide A, I và III của collagen. DSC cho thấy đỉnh nhiệt độ biến tính tại 160,76 °C, trong khi TGA thể hiện ba giai đoạn phân hủy với tổng mất khối lượng 20,07%. GPC xác định collagen có khối lượng phân tử thấp ($M_w = 492\text{Da}$; $M_w/M_n \approx 1,02$), thuộc dạng peptide đồng nhất. Hình ảnh SEM ghi nhận cấu trúc xốp phân lớp, còn phổ XRD hiển thị đỉnh chính tại $2\theta \approx 7,5^\circ$, đặc trưng cho mặt phẳng (002) của cấu trúc xoắn ba. Collagen peptide thể hiện khả năng chống oxy hóa trung bình (DPPH $\approx 59\%$ tại 1000ppm), nhưng không có hoạt tính kháng khuẩn với *Staphylococcus aureus*. Kết quả cho thấy nguồn phụ phẩm cá rô phi có thể ứng dụng phát triển nguyên liệu collagen sinh học tiềm năng cho mỹ phẩm và thực phẩm chức năng.

Từ khóa: Chống oxy hóa, collagen peptide, đặc tính hóa lý, thực phẩm chức năng, vây cá rô phi.

ABSTRACT

This study investigated the extraction conditions for collagen peptide from tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales to determine suitable parameters for obtaining bioactive materials. The experimental procedure involved sequential treatment with NaOH (0.5N), H₂O₂ (4%), and CH₃COOH (1N), followed by centrifugation and freeze-drying. The extraction yielded $78.0 \pm 2.4\%$ collagen with a content of $7.2 \pm 0.3\%$ (dry weight basis). FTIR analysis confirmed the presence of characteristic amide bands A, I, and III. Differential scanning calorimetry (DSC) revealed a denaturation peak at 160.76°C, and thermogravimetric analysis (TGA) showed three weight-loss stages with a total of 20.07%. Gel permeation chromatography (GPC) indicated a low molecular weight collagen peptide ($M_w = 492\text{Da}$; $M_w/M_n \approx 1.02$), suggesting high homogeneity. SEM images displayed porous and lamellar structures, while X-ray diffraction (XRD) showed a major peak at $2\theta \approx 7.5^\circ$, corresponding to the (002) plane of triple-helical collagen. Bioactivity analysis showed moderate antioxidant capacity (DPPH $\approx 59\%$ at 1000ppm), but no antibacterial effect against *Staphylococcus aureus*. These findings suggest that tilapia fish scale, a low-cost aquaculture byproduct, can be valorized into collagen peptide with promising applications in functional foods and cosmetic formulations.

Keywords: Antioxidant activity, collagen peptide, physicochemical properties, functional food, tilapia scales.

¹Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

³Viện Hải Dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

*Email: cuongdx@huit.edu.vn

Ngày nhận bài: 26/02/2025

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 22/5/2025

Ngày chấp nhận đăng: 28/5/2025

1. GIỚI THIỆU

Collagen là một protein cấu trúc quan trọng, chiếm khoảng 30% tổng lượng protein trong cơ thể động vật, và đóng vai trò thiết yếu trong việc duy trì độ bền, tính đàn hồi và sự toàn vẹn của mô liên kết [1]. Nhờ đặc tính tương thích sinh học cao, khả năng phân hủy sinh học và kích thích tăng sinh tế bào, collagen ngày càng được ứng dụng rộng rãi trong thực phẩm chức năng, mỹ phẩm và y học tái tạo [2]. Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu sử dụng phương pháp hóa học (NaOH, H_2O_2 , CH_3COOH) để chiết xuất collagen từ da, xương và vây cá, nhưng các nghiên cứu này thường tập trung vào cá biển, có giá trị kinh tế cao hoặc collagen có trọng lượng phân tử lớn, khó hấp thu. Hạn chế phổ biến là hiệu suất chiết không cao, cấu trúc không đồng nhất, hoặc thiếu đánh giá tổng thể đặc tính sinh học và hình thái vật lý. Đặc biệt, tại Việt Nam, các nghiên cứu về collagen từ cá nước ngọt như cá rô phi còn hạn chế, chủ yếu dừng ở việc xác định hiệu suất chiết, ít phân tích chuyên sâu về cấu trúc phân tử (GPC), độ bền nhiệt (DSC, TGA) hay tiềm năng ứng dụng thực tế. Do đó, cần có nghiên cứu toàn diện hơn để khẳng định vai trò của collagen peptide từ phụ phẩm cá nước ngọt trong ngành thực phẩm và mỹ phẩm.

Hiện nay, phần lớn collagen thương mại được chiết xuất từ da và xương của gia súc như bò và lợn. Tuy nhiên, nguồn nguyên liệu này đang đối mặt với nhiều thách thức như nguy cơ lây truyền bệnh (ví dụ: BSE), hạn chế về mặt tôn giáo - văn hóa, và thiếu tính bền vững lâu dài [3]. Điều này thúc đẩy xu hướng tìm kiếm các nguồn collagen thay thế có nguồn gốc từ sinh vật biển, đặc biệt là từ các phụ phẩm thủy sản vốn dồi dào, ít cạnh tranh với nguồn thực phẩm chính và thân thiện với môi trường [4].

Vây cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) là một trong những phụ phẩm phổ biến của ngành chế biến thủy sản, có hàm lượng collagen cao và tiềm năng ứng dụng trong các sản phẩm có giá trị gia tăng [5]. Việc khai thác collagen từ nguồn nguyên liệu này không chỉ góp phần tận dụng hiệu quả phụ phẩm nông nghiệp mà còn phù hợp với định hướng kinh tế tuần hoàn, giảm thiểu ô nhiễm môi trường [6]. Tuy nhiên, để ứng dụng hiệu quả collagen từ vây cá rô phi, cần có các nghiên cứu chuyên sâu về điều kiện chiết xuất tối ưu, đặc điểm lý - hóa và hoạt tính sinh học của sản phẩm thu được. Dựa trên cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng quy trình chiết tách collagen từ vây cá rô phi, đồng thời đánh giá toàn diện các đặc tính hóa lý và hoạt tính sinh học nhằm định hướng phát triển ứng dụng trong thực phẩm, mỹ phẩm và y sinh [7, 8].

Vây cá rô phi được lựa chọn làm nguyên liệu cho nghiên cứu này vì đây là phụ phẩm rẻ, dễ thu gom, chiếm tỷ lệ lớn trong chế biến thủy sản nội địa, có hàm lượng collagen cao (5–7%) và cấu trúc ít béo, ít protein tạp - rất phù hợp cho quy trình chiết hóa học. Khác với các nguồn collagen từ cá biển hay gia súc, nguyên liệu này có thể hỗ trợ chiến lược phát triển sản phẩm chức năng chi phí thấp, đồng thời góp phần giảm thiểu ô nhiễm và thúc đẩy kinh tế tuần hoàn trong ngành nông - thủy sản Việt Nam.

Vì vậy, bài báo này tập trung về chiết xuất, đặc điểm lý - hóa và hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của collagen vây cá rô phi.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

Vây cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) được thu thập từ Hong Cam Seafood, Co. Ltd (tỉnh Cà Mau, Việt Nam). Cá được có cân nặng trung bình 800 - 1200g/con. Sau khi lấy vây, nguyên liệu được rửa nhiều lần bằng nước lạnh để loại bỏ chất nhớt và máu, sấy khô ở 60°C trong 12 giờ, sau đó nghiền nhỏ bằng máy nghiền IKA A11 basic (Đức), rây 2mm và bảo quản trong bao bì hút ẩm.

Các hóa chất sử dụng bao gồm: NaOH 99% (Merck, Đức), H_2O_2 30% (Xilong, Trung Quốc), CH_3COOH 99,8% (Xilong), HCl 6N (Merck), Chloramine-T (Sigma), thuốc thử Ehrlich (Sigma), DPPH (Sigma). Tất cả đều là loại tinh khiết phân tích (analytical grade).

Quy trình nghiên cứu sử dụng các thiết bị sau: máy nghiền IKA A11 basic (Đức), máy khuấy từ gia nhiệt Velp AREX (Ý), máy ly tâm lạnh Sigma 3-30KS (Đức), tủ sấy Memmert (Đức), thiết bị FTIR (Nicolet iS5, Thermo Scientific, Mỹ), DSC/TGA (TA Instruments Q500/Q2000, Mỹ), GPC (Agilent PL-GPC 50), SEM (Hitachi S-4800), UV-Vis (Jasco V-730, Nhật).

2.2. Chuẩn bị mẫu

Vây cá rô phi sau khi sơ chế được nghiền nhỏ và lưu trữ khô. Mỗi mẻ thí nghiệm sử dụng 5 g mẫu vây cá khô. Quy trình chiết collagen bao gồm ba bước: (1) Xử lý NaOH để loại protein phi collagen; (2) tẩy màu bằng dung dịch H_2O_2 ; (3) chiết collagen bằng dung dịch axit acetic.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thiết kế theo phương pháp "một yếu tố thay đổi" (One-Factor-At-a-Time - OFAT), trong đó từng yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết collagen được khảo sát riêng biệt. Các yếu tố khảo sát bao gồm: nồng độ NaOH trong khoảng 0,1N đến 1,0N, thời gian xử lý từ 2 đến 5 giờ, và tỷ lệ dung môi/nguyên liệu từ 5:1 đến 15:1. Đối với giai đoạn tẩy màu bằng H_2O_2 , thời gian xử lý được

khảo sát từ 0,5 đến 3 giờ, với các tỷ lệ H_2O_2 /nguyên liệu tương ứng là 5:1, 10:1 và 15:1. Quá trình chiết bằng axit acetic (CH_3COOH) cũng được khảo sát với thời gian từ 6 đến 30 giờ và các tỷ lệ axit/nguyên liệu từ 5:1 đến 15:1. Trong mỗi điều kiện thí nghiệm, thể tích dung dịch được điều chỉnh tương ứng với khối lượng mẫu (ví dụ: 5g nguyên liệu ứng với 25 - 75mL dung dịch), khuấy bằng máy khuấy từ ở tốc độ 50 vòng/phút. Dịch chiết sau đó được ly tâm lạnh ở 8000 vòng/phút trong 20 phút ở 4°C, tiếp theo được đông lạnh và sấy thăng hoa bằng thiết bị lyophilizer (Labconco) để thu nhận collagen peptide.

2.4. Phương pháp phân tích

Phân tích định lượng: Hiệu suất và hàm lượng collagen được xác định thông qua phương pháp đo nồng độ hydroxyproline bằng quang phổ UV-Vis. Mẫu collagen sau khi đông khô được thủy phân bằng HCl 6N ở 110°C trong 18 - 24 giờ nhằm giải phóng hydroxyproline tự do. Sau đó, hydroxyproline phản ứng với chloramine-T và thuốc thử Ehrlich tạo phức màu đo được ở bước sóng 558nm. Hàm lượng hydroxyproline được xác định dựa vào đường chuẩn hydroxyproline, từ đó tính toán hàm lượng collagen bằng hệ số chuyển đổi (thường sử dụng 7,14) [9, 10].

Phân tích đặc tính hóa lý: Cấu trúc hóa học của collagen được xác định bằng phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) sử dụng thiết bị Nicolet iS5 (Thermo Scientific, Hoa Kỳ), trong dải bước sóng từ 4000 - 400 cm^{-1} với 64 lần quét/mẫu. Tính chất nhiệt và độ ổn định được đánh giá bằng phân tích nhiệt trọng (TGA) và nhiệt lượng vi sai (DSC) trên thiết bị TA Instruments Q500 và Q2000 (Hoa Kỳ), với điều kiện gia nhiệt từ 25°C đến 500°C, tốc độ tăng 10°C/phút trong môi trường khí nitơ. Khối lượng phân tử và độ phân tán của collagen peptide được xác định bằng sắc ký thẩm gel (GPC) sử dụng hệ thống Agilent PL-GPC 50 (Hoa Kỳ), cột PL Aquagel-OH 30, nhiệt độ cột 40°C, dung môi $NaNO_3$ 0,1M, tốc độ dòng chảy 1 mL/phút. Hình thái bề mặt sợi collagen được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM, Hitachi S-4800, Nhật Bản) trên mẫu khô sau khi phủ vàng mỏng bằng phương pháp sputtering. Phổ nhiễu xạ tia X (XRD) được thu nhận để đánh giá mức độ kết tinh và cấu trúc xoắn ba đặc trưng, thực hiện trên mẫu khô không xử lý thêm.

Phân tích đặc tính sinh học: Tổng khả năng chống oxy hóa (TAC) được xác định theo phương pháp phosphomolybdenum [11]. Hoạt tính khử sắt (FRAP) được thực hiện theo phương pháp sử dụng chuẩn Fe^{2+} và đo quang tại bước sóng 595nm [12]. Khả năng bắt gốc tự do DPPH được xác định tại nồng độ mẫu 1000 ppm, phản

ứng trong 30 phút và đo tại bước sóng 517nm [13]. Hoạt tính kháng khuẩn được kiểm tra với chủng *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Chủng được nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng NB ở 37°C trong 24 giờ. Thử nghiệm được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán đĩa với cốc Oxford 6mm, sử dụng 50 μ L mẫu collagen cho mỗi đĩa.

2.5. Phân tích dữ liệu

Dữ liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và Minitab 18, kết quả trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). Phân tích phương sai (ANOVA) được sử dụng để kiểm định sự khác biệt giữa các điều kiện khảo sát với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của điều kiện chiết đến hiệu suất và hàm lượng collagen

Trong nghiên cứu này, ba yếu tố chính được khảo sát nhằm đánh giá ảnh hưởng đến hiệu suất và hàm lượng collagen gồm: nồng độ NaOH, thời gian xử lý H_2O_2 và thời gian chiết bằng axit axetic (CH_3COOH). Mỗi yếu tố được khảo sát riêng biệt theo thiết kế một yếu tố thay đổi, với khối lượng mẫu cố định 5 g và lặp lại 3 lần để đảm bảo độ tin cậy thống kê.

Kết quả thống kê mô tả cho thấy nồng độ NaOH có ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất thu hồi collagen. Giá trị trung bình hiệu suất ở các mức nồng độ 0,1N, 0,3N, 0,5N, 0,7N và 1,0N lần lượt là $52,4 \pm 1,8\%$; $65,1 \pm 2,1\%$; $77,9 \pm 2,3\%$; $71,0 \pm 1,9\%$ và $64,2 \pm 2,0\%$. Phân tích ANOVA cho thấy sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), trong đó mức 0,5N mang lại hiệu suất cao nhất, đồng thời không làm suy giảm cấu trúc collagen như các mức cao hơn.

Với yếu tố thời gian xử lý H_2O_2 , hiệu suất chiết tăng từ $57,3 \pm 1,6\%$ (0,5 giờ) đến $75,6 \pm 2,1\%$ (2 giờ), sau đó giảm xuống $70,2 \pm 2,0\%$ (3 giờ). Phân tích phương sai cũng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nhóm ($p < 0,05$). Thời gian xử lý 2 giờ là mức tối ưu, đủ để loại bỏ tạp chất mà không gây phân hủy collagen.

Bảng 1. Hàm lượng collagen và các yếu tố tác động trong quá trình chiết

Ảnh hưởng của điều kiện xử lý NaOH lên hàm lượng collagen				
Nồng độ NaOH (N)	0,25	0,5	0,75	
Hàm lượng collagen (%/DW)	$0,83 \pm 0,06$	$7,1 \pm 0,14$	$1,67 \pm 0,19$	
Thời gian xử lý với NaOH (giờ)	2	3	4	5
Hàm lượng collagen (%/DW)	$3,4 \pm 0,36$	$7,04 \pm 0,41$	$4,14 \pm 0,16$	$4,18 \pm 0,22$

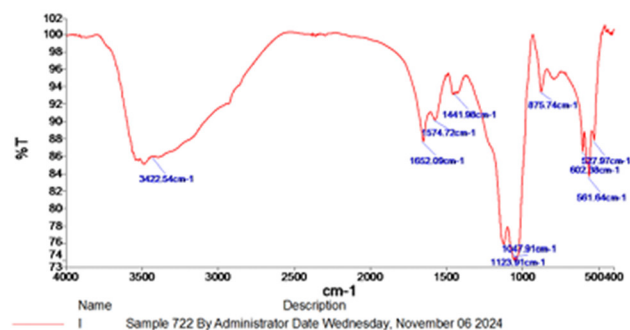
Tỷ lệ NaOH/NL (v/w)	5/1	10/1	15/1	
Hàm lượng collagen (%/DW)	7,18±0,26	7±0,4	7,15±0,26	
Ảnh hưởng của điều kiện xử lý H₂O₂ lên hàm lượng collagen				
Nồng độ H ₂ O ₂ (N)	4	5	6	7
Hàm lượng collagen (%/DW)	7,1±0,32	6,93±0,1	7,09±0,34	7,02±0,25
Thời gian xử lý với H ₂ O ₂ (giờ)	2	3	4	5
Hàm lượng collagen (%/DW)	7,11±0,16	7,13±0,11	7,06±0,29	7,13±0,22
Tỷ lệ H ₂ O ₂ /NL (v/w)	5/1	10/1	15/1	
Hàm lượng collagen (%/DW)	7,06±0,27	7,13±0,31	7,1±0,36	
Ảnh hưởng của điều kiện chiết bằng CH₃COOH lên hàm lượng collagen				
Nồng độ CH ₃ COOH (N)	0,5	1	1,5	
Hàm lượng collagen (%/DW)	4,82±0,14	7,07±0,28	3,61±0,22	
Thời gian chiết với CH ₃ COOH (giờ)	12	24	36	
Hàm lượng collagen (%/DW)	6,26±0,32	7,15±0,1	3,45±0,34	
Tỷ lệ CH ₃ COOH (N)/NL (v/w)	5/1	10/1	15/1	
Hàm lượng collagen (%/DW)	7,07±0,16	7,18±0,11	7,16±0,29	

Đối với thời gian chiết bằng CH₃COOH, hiệu suất thu hồi collagen dao động từ 60,2 ± 1,7% (6 giờ) đến 78,0 ± 2,4% (24 giờ), trước khi giảm nhẹ ở mức 30 giờ (76,5 ± 2,2%). Giá trị p từ phân tích ANOVA nhỏ hơn 0,05 cho thấy thời gian chiết là yếu tố ảnh hưởng đáng kể. Thời gian 24 giờ mang lại hiệu suất cao nhất mà không làm tăng chi phí hoặc gây suy giảm chất lượng sản phẩm. Dưới tổ hợp điều kiện phù hợp gồm: NaOH 0,5N trong 3 giờ, H₂O₂ 4% trong 2 giờ, chiết bằng CH₃COOH 1N trong 24 giờ ở 4°C, hiệu suất thu collagen đạt 78,0 ± 2,4% và hàm lượng collagen tương ứng đạt 7,2 ± 0,3% so với khối lượng nguyên liệu ban đầu. Phân tích ANOVA, cho thấy cả ba yếu tố nồng độ NaOH, thời gian xử lý H₂O₂ và thời gian chiết bằng CH₃COOH đều ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến hiệu suất chiết collagen ($p < 0,05$). Kiểm định hậu định Tukey HSD cho thấy hiệu suất thu được ở (NaOH 0,5 N, H₂O₂ 2 giờ, CH₃COOH 24 giờ) khác biệt có ý nghĩa so với các mức còn lại ($\alpha = 0,05$). Mức NaOH 0,5 N cho hiệu suất 77,9 ± 2,3%, cao hơn rõ rệt so với các nồng độ khác. Tương tự, thời gian xử lý H₂O₂ 2 giờ và chiết bằng CH₃COOH

trong 24 giờ lần lượt cho hiệu suất 75,6 ± 2,1% và 78,0 ± 2,4%, đều cao hơn đáng kể so với các mức thấp và cao hơn trong phạm vi khảo sát. Chinh và cộng sự chiết xuất collagen từ vảy cá chép (*Cyprinus carpio*) bằng dung dịch acid acetic, thu được hiệu suất 13,6% [14], Zhang và cộng sự đã tối ưu hóa quá trình chiết collagen từ bong bóng cá trắm (*Ctenopharyngodon idella*) và thu được hiệu suất tối đa 46,3% (tính theo khối lượng ướt) [15]. Mặc dù hiệu suất trong nghiên cứu hiện tại thấp hơn, kết quả vẫn cho thấy khả năng thu hồi ổn định từ nguồn phụ phẩm vảy cá rô phi, góp phần khẳng định tiềm năng phát triển các sản phẩm collagen sinh học từ phụ phẩm thủy sản.

3.2. Đặc tính hóa lý của collagen

Peak Table Results
Result Spectrum



Peak Table

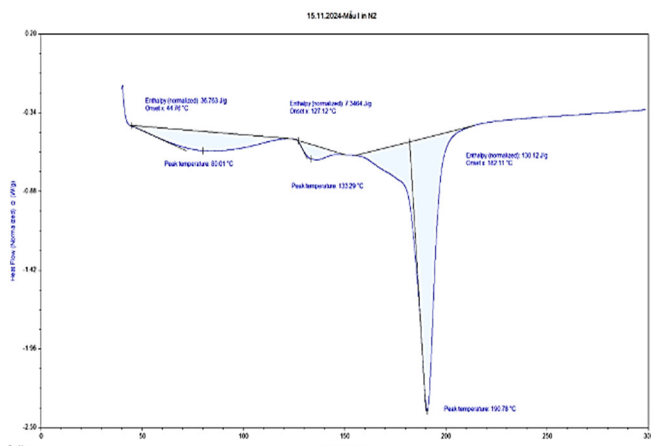
Peak Number	X (cm-1)	Y (%T)
1	3422.54	85.95
2	1652.09	87.78
3	1574.72	90.23
4	1441.98	93.28
5	1123.91	75.89
6	1047.91	74.31
7	875.74	93.47
8	602.38	86.59
9	561.64	83.7
10	527.97	87.86

Hình 1. Phổ FTIR và dữ liệu phổ FTIR của collagen chiết từ vảy cá rô phi

Phổ hồng ngoại (FTIR) của mẫu collagen cho thấy các băng hấp thụ đặc trưng tại nhiều vùng bước sóng, phản ánh cấu trúc protein đặc trưng của collagen. Đỉnh tại 3422,54cm⁻¹ được gán cho dao động kéo dãn của nhóm N-H (Amide A), có thể bị chồng lấp với dao động của nhóm O-H do liên kết hydro hoặc độ ẩm còn lại trong mẫu, phản ánh sự hiện diện của các liên kết peptit. Đỉnh mạnh tại 1652,09cm⁻¹ tương ứng với băng Amide I, đại diện cho dao động kéo dãn của liên kết C=O trong khung polypeptit - đặc trưng cho cấu trúc bậc hai của protein như α -helix và β -sheet. Bên cạnh đó, đỉnh tại 1123,91cm⁻¹ biểu thị dao động của liên kết C-O-C hoặc nhóm ester/carbohydrate, cho thấy khả năng hiện diện của polysaccharide liên kết với collagen. Dao động uốn CH₂ được xác định tại 1441,98cm⁻¹, phản ánh cấu trúc mạch

bên của amino acid. Đỉnh tại $1074,97\text{cm}^{-1}$ được gán cho dao động C–O, có thể đến từ các nhóm hydroxyl và ether trong polysaccharide hoặc mucopolysaccharide. Băng tại $1127,93\text{cm}^{-1}$ tương ứng với Amide III, đại diện cho dao động kết hợp giữa C–N và N–H uốn cong trong chuỗi peptit. Các đỉnh nhỏ hơn tại $875,76\text{cm}^{-1}$; $621,67\text{cm}^{-1}$ và $581,64\text{cm}^{-1}$ phản ánh dao động ngoài mặt phẳng của C–H, biến dạng vòng và dao động của phosphate hoặc cấu trúc vòng, cho thấy khả năng tồn tại của các amino acid đặc biệt như proline hoặc một số tạp chất vô cơ. Cuối cùng, đỉnh tại $527,97\text{cm}^{-1}$ được cho là dao động bộ khung phân tử, đặc trưng cho các hệ phân tử lớn như protein (hình 1).

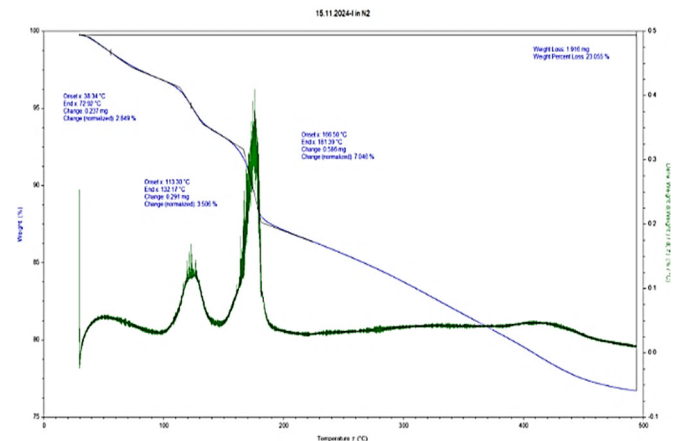
Phổ nhiệt vi sai quét (DSC) của collagen chiết xuất từ vây cá rô phi cho thấy ba vùng hấp thụ nhiệt đặc trưng. Đỉnh endothermic đầu tiên tại $80,01^\circ\text{C}$ ($\Delta H = 36,763\text{J/g}$) phản ánh sự bay hơi của nước tự do và nước liên kết yếu. Vai hấp thụ thứ hai tại $133,29^\circ\text{C}$ ($\Delta H = 3,966\text{J/g}$) có thể liên quan đến sự biến tính cục bộ của các vùng cấu trúc kém ổn định. Đỉnh nhiệt chính tại $160,76^\circ\text{C}$ ($\Delta H = 13,02\text{J/g}$), bắt đầu từ khoảng $150,11^\circ\text{C}$, đại diện cho quá trình phá vỡ hoàn toàn cấu trúc xoắn ba đặc trưng của collagen loại I. Sự phân bố enthalpy theo từng giai đoạn phản ánh mức năng lượng cần thiết để phá vỡ liên kết hydrogen và peptit, cho phép đánh giá mức độ ổn định nhiệt của mẫu. Với nhiệt độ biến tính cao ($\sim 160,7^\circ\text{C}$), mẫu collagen cho thấy độ bền nhiệt tốt, phù hợp cho các ứng dụng trong thực phẩm chức năng, mỹ phẩm và vật liệu sinh học (hình 2).



Hình 2. Nhiệt quét vi sai (DSC) của collagen chiết từ vây cá rô phi

Phân tích phổ TGA cho thấy collagen chiết xuất từ vây cá rô phi trải qua ba giai đoạn mất khối lượng chính trong quá trình gia nhiệt. Giai đoạn đầu tiên diễn ra từ $38,94^\circ\text{C}$ đến $78,79^\circ\text{C}$, tương ứng với sự bay hơi của nước tự do hoặc nước hấp phụ vật lý không liên kết bền với cấu trúc collagen, gây ra mức mất khối lượng khoảng 2,85%. Giai đoạn thứ hai, từ $113,93^\circ\text{C}$ đến $157,29^\circ\text{C}$, phản ánh sự giải

phóng của nước liên kết chặt (bound water) và một số nhóm chức dễ bay hơi như $-\text{COOH}$ và $-\text{NH}_2$, với mức mất khối lượng ước tính khoảng 5,40%. Giai đoạn cuối cùng, trong khoảng từ $161,50^\circ\text{C}$ đến $185,06^\circ\text{C}$, là quá trình phân hủy mạnh mẽ nhất khi cấu trúc xoắn ba đặc trưng của collagen bị phá vỡ hoàn toàn, dẫn đến mất khối lượng lớn nhất, khoảng 7,05%. Sau 200°C , mặc dù không có đỉnh rõ rệt, đường cong TGA tiếp tục giảm dần, phản ánh quá trình phân hủy bền vững hoặc carbon hóa của các thành phần còn lại trong mẫu (hình 3).

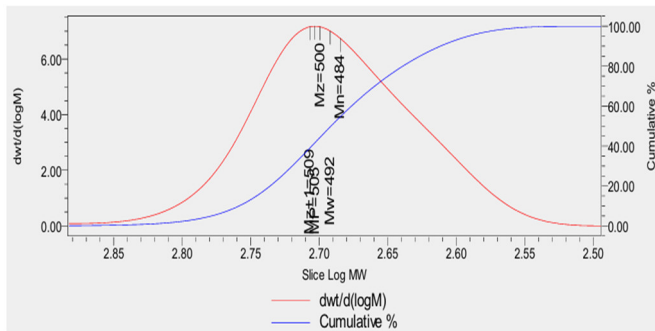


Hình 3. Nhiệt trọng lượng (TGA) của collagen chiết từ vây cá rô phi

Mặc dù ba giai đoạn mất khối lượng ban đầu phù hợp với các đặc trưng nhiệt học của collagen, tổng lượng khối lượng mất đi chỉ chiếm khoảng 15,3%, cho thấy lượng chất không phân hủy vẫn chiếm tỷ lệ cao ($\approx 84,7\%$ tại 500°C). Kết quả này cho thấy mẫu có thể còn chứa tạp chất vô cơ hoặc muối khoáng khó phân hủy. Đây là hạn chế kỹ thuật cần được khắc phục trong nghiên cứu tiếp theo thông qua các bước xử lý loại ion hoặc tinh sạch sâu hơn (ví dụ: thẩm tách, khử khoáng). Mặc dù vậy, các giai đoạn mất khối lượng đặc trưng trong khoảng $100 - 200^\circ\text{C}$ vẫn phản ánh đúng bản chất của peptide có cấu trúc xoắn ba bị biến tính một phần.

Phân tích sắc ký thẩm thấu gel (GPC) cho thấy collagen chiết xuất từ vây cá rô phi có khối lượng phân tử trung bình theo khối lượng (M_w) là 492Da, trung bình theo số lượng (M_n) là 484Da, và khối lượng phân tử đỉnh (M_z) khoảng 500Da. Độ phân tán M_w/M_n đạt 1,02 cho thấy mẫu có độ đồng nhất rất cao về kích thước phân tử (hình 4). Đường cong phân bố log(M) hiển thị rõ ràng, đối xứng, phản ánh quá trình thủy phân có kiểm soát, không tạo ra nhiều phân đoạn bất thường. Với đặc điểm khối lượng phân tử thấp và phân bố hẹp, sản phẩm được xác định là collagen peptide - dạng collagen thủy phân phân tử thấp, khác biệt rõ rệt so với collagen type I nguyên vẹn thường có M_w từ 95 - 140kDa theo các nghiên cứu SDS-PAGE từ

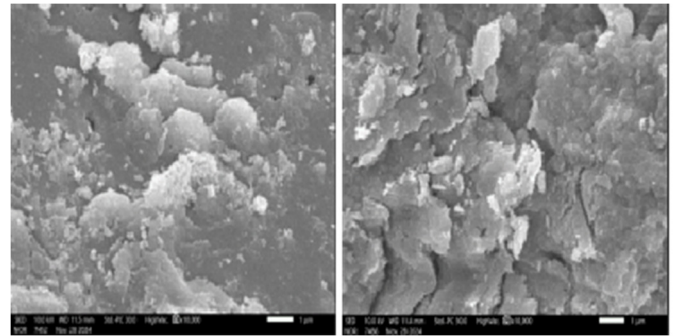
vây cá nước ngọt [14, 15]. Dạng peptide có ưu thế vượt trội về khả năng hấp thu sinh học, đặc biệt phù hợp cho các ứng dụng trong thực phẩm chức năng và mỹ phẩm.



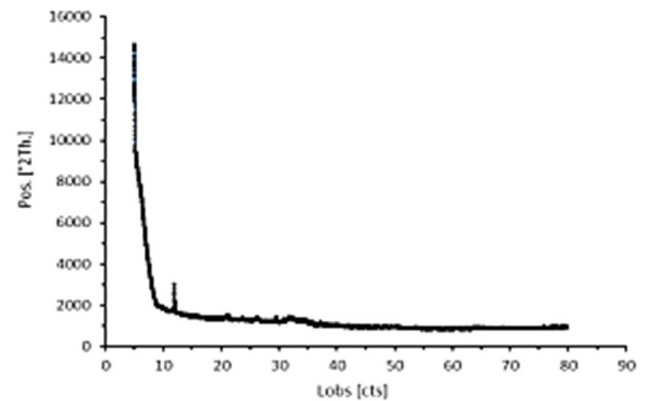
Hình 4. Phân phối vi sai và tính lũy khối lượng phân tử của collagen

Hình ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của collagen chiết xuất từ vây cá rô phi (Hình 5a) cho thấy bề mặt vật liệu có cấu trúc không đồng nhất, gồm các mảnh dạng tấm và khối liên kết vi mô. Mẫu có hiện tượng kết tụ từng lớp, xen kẽ vùng rỗng và đặc, phản ánh đặc tính phân mảnh của collagen sau xử lý hóa học. Bề mặt xuất hiện nhiều nếp gấp, vi nứt và lỗ nhỏ, cho thấy sự phá vỡ cấu trúc nguyên sinh, nhưng vẫn giữ được định hướng không gian dạng sợi đặc trưng của collagen. Các đặc điểm hình thái này thường gặp trong collagen được chiết tách ở điều kiện axit yếu hoặc nhiệt độ thấp, và có ý nghĩa tích cực đối với các ứng dụng sinh học như tái tạo mô, dẫn thuốc hoặc làm vật liệu sinh học xốp. Tuy nhiên, do kỹ thuật SEM chỉ phản ánh bề mặt hình thái chứ không xác định chính xác loại collagen (I, II, III...), nên việc phân loại cần được thực hiện bằng các phương pháp đặc hiệu như SDS-PAGE, xác định trình tự acid amin, hoặc phân tích protein định danh [16]. Trong nghiên cứu này, phổ nhiễu xạ XRD của collagen chiết xuất từ vây cá rô phi ghi nhận một đỉnh rõ tại $2\theta \approx 7,5^\circ$, tương ứng với khoảng cách lớp d-spacing khoảng 1,17nm - đặc trưng cho mặt phẳng (002) phản ánh cấu trúc xoắn ba α -chain của collagen type I. Sự hiện diện của đỉnh này chứng tỏ rằng cấu trúc bậc hai vẫn được bảo tồn một phần sau các bước xử lý bằng kiềm, oxy hóa và chiết axit. Ngoài đỉnh này, phổ không xuất hiện thêm các pic nhiễu xạ sắc nét trong vùng $10^\circ - 80^\circ$ (hình 5b), phản ánh tính chất bán kết tinh - thường gặp ở collagen peptide sau thủy phân. Phổ XRD của mẫu với pic tại $2\theta \approx 7,5^\circ$ được đánh dấu rõ, trong khi nền phổ phẳng ở vùng góc lớn xác nhận cấu trúc gần như vô định hình, tương đồng với nghiên cứu trước [16, 17], cũng ghi nhận pic XRD ở vùng $7 - 8^\circ$ khi phân tích collagen từ da và vây cá, nhưng không có các đỉnh phụ do sự mất trật tự mạng. Dạng cấu trúc này được xem là lợi thế trong các ứng dụng thực phẩm chức năng và mỹ phẩm nhờ tăng tính hòa tan,

sinh khả dụng và khả năng hấp thu qua tiêu hóa hoặc biểu bì [16].



a)



b)

Hình 5. a) SEM 1μm của collagen; b) phổ XRD của collagen

3.3. Đặc tính sinh học của collagen

Hoạt tính sinh học của collagen peptide được đánh giá thông qua các chỉ số phản ánh khả năng chống oxy hóa và kháng khuẩn - những tiêu chí quan trọng trong định hướng ứng dụng vào thực phẩm chức năng và mỹ phẩm. Tổng khả năng chống oxy hóa (TAC) được xác định theo phương pháp phosphomolybdenum, đạt $0,27 \pm 0,013\text{mg ascorbic acid/mL}$. Khả năng khử sắt (FRAP) thông qua phản ứng $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ đạt $0,21 \pm 0,010\text{mg Fe}^{2+}/\text{mL}$, cho thấy khả năng truyền điện tử đáng kể - một trong những cơ chế chống oxy hóa chính. Khả năng bắt gốc tự do DPPH ở nồng độ 1000ppm đạt $59 \pm 4,72\%$, phản ánh hiệu quả loại bỏ gốc tự do ở mức trung bình khá. Các giá trị này tương đương hoặc cao hơn một số nghiên cứu trước về collagen từ cá nước ngọt, khẳng định tiềm năng sử dụng collagen peptide từ vây cá rô phi như một nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên. Tuy nhiên, do chỉ khảo sát ở một nồng độ duy nhất, nghiên cứu chưa đủ cơ sở để xác định giá trị IC_{50} hoặc EC_{50} - các chỉ số định lượng chuẩn hóa thường dùng để đánh giá mức độ hoạt tính sinh học. Đây là một hạn chế đã được nhận diện và sẽ được mở rộng trong các nghiên cứu tiếp theo với phổ

nồng độ rộng hơn. Về hoạt tính kháng khuẩn, thử nghiệm với chủng *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bằng phương pháp khuếch tán đĩa không ghi nhận được vùng ức chế rõ rệt, cho thấy collagen peptide không có tác dụng kháng khuẩn đáng kể ở các nồng độ khảo sát. Điều này phù hợp với cơ chế sinh học đã biết, khi collagen bản chất không phải là hợp chất có đặc tính kháng khuẩn mạnh. Nếu ứng dụng trong bảo quản sinh học hoặc mỹ phẩm có yêu cầu kháng khuẩn, cần kết hợp với các tác nhân bổ sung như polyphenol, peptide hoạt tính, hoặc tinh dầu thiên nhiên. Dữ liệu hình ảnh minh họa cho hoạt tính sinh học chưa được trình bày trong nghiên cứu này do không ghi nhận được vùng ức chế rõ rệt trong thử nghiệm kháng khuẩn và không thực hiện đo phổ UV-Vis định tính. Tuy nhiên, các chỉ số chống oxy hóa (TAC, FRAP, DPPH) đã được xác định bằng phương pháp UV-Vis định lượng, sử dụng chuẩn ngoại và lặp lại ba lần, cho kết quả ở mức ổn định và có ý nghĩa thống kê. Các kết quả này bước đầu cho thấy collagen peptide từ vảy cá rô phi có tiềm năng chống oxy hóa đáng chú ý, phù hợp để phát triển các sản phẩm bổ sung vi chất, thực phẩm chức năng và chế phẩm chăm sóc da. Mặc dù không thể hiện khả năng kháng khuẩn rõ rệt, collagen vẫn duy trì cấu trúc type I, có trọng lượng phân tử thấp (492Da) và hình thái sợi sinh học, là những yếu tố quan trọng cho khả năng hấp thu và tương thích sinh học. Các đặc điểm này là cơ sở khoa học vững chắc cho việc ứng dụng collagen trong mỹ phẩm tái tạo da, chống lão hóa, cũng như trong thực phẩm chức năng giúp bổ sung protein và hỗ trợ sức khỏe làn da. Hơn nữa, việc tận dụng phụ phẩm vảy cá để sản xuất collagen sinh học góp phần thúc đẩy kinh tế tuần hoàn và phát triển sản phẩm thân thiện môi trường. Một hạn chế của nghiên cứu hiện tại là chưa phân tích thành phần kim loại nặng và các chỉ tiêu an toàn nguyên liệu theo quy định của Bộ Y tế. Các phân tích này sẽ được tiến hành trong giai đoạn tiếp theo nhằm hoàn thiện hồ sơ ứng dụng của sản phẩm collagen peptide vào lĩnh vực thực phẩm chức năng và mỹ phẩm.



Hình 6. Collagen peptide

4. KẾT LUẬN

Quy trình chiết collagen peptide từ vảy cá rô phi đã được thiết lập dựa trên khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đơn biến, cho hiệu suất thu hồi đạt $78,0 \pm 2,4\%$ và hàm lượng collagen $7,2 \pm 0,3\%$ so với nguyên liệu thô. Dưới điều kiện khảo sát phù hợp (xử lý NaOH 0,5N, H_2O_2 4%, chiết bằng CH_3COOH 1N trong 24 giờ ở $4^\circ C$), sản phẩm thu được là collagen peptide có khối lượng phân tử thấp ($M_w \approx 492Da$), với độ đồng nhất cao ($M_w/M_n \approx 1,02$). Phân tích FTIR xác nhận sự hiện diện của các băng amide A, I và III đặc trưng của cấu trúc collagen. Phổ XRD và dữ liệu DSC cũng thể hiện đặc điểm nhiệt và tinh thể phù hợp với collagen type I. Tuy nhiên, do chưa thực hiện SDS-PAGE hoặc phân tích acid amin, nên chưa thể khẳng định chính thức về loại collagen. Về hoạt tính sinh học, collagen peptide cho thấy khả năng chống oxy hóa ở mức trung bình thông qua các chỉ số TAC, FRAP và DPPH, trong khi không ghi nhận hiệu quả kháng khuẩn rõ rệt với *Staphylococcus aureus*. Các kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng của collagen peptide từ vảy cá rô phi trong thực phẩm chức năng, mỹ phẩm và vật liệu sinh học. Trong giai đoạn tiếp theo, cần bổ sung phân tích hàm lượng kim loại nặng, IC_{50} và đánh giá thêm các chỉ tiêu an toàn nguyên liệu theo quy định Bộ Y tế để hướng tới ứng dụng thực tiễn. Nghiên cứu góp phần làm rõ khả năng tận dụng phụ phẩm thủy sản theo hướng sinh học bền vững và cung cấp dữ liệu nền tảng cho phát triển sản phẩm collagen có giá trị gia tăng.

LỜI CẢM ƠN

Tác giả xin trân trọng cảm ơn Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh, Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh và Viện Hải dương học Nha Trang - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện, hỗ trợ cơ sở vật chất và chuyên môn trong suốt quá trình thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Ibrahim N.A., Yogeswaran L., Izzat Z., Mohd R.W.M.F., Antonella M., Busra F.M., "A comprehensive review on collagen type I development of biomaterials for tissue engineering: from biosynthesis to bioscaffold," *Biomedicine*, 10(9), 2307, 2022. doi: 10.3390/biomedicine10092307.
- [2]. Ye-Seon L., Ye-Jin O., Seon-Yeong H., Jong-Young K., Sik Y., "Marine collagen as a promising biomaterial for biomedical applications," *Mar Drugs*, 17(8), 467, 2019. doi: 10.3390/md17080467
- [3]. Hsiuying W., "A review of the effects of collagen treatment in clinical studies," *Polymers (Basel)*, 13(22), 3868, 2021. doi: 10.3390/polym13223868.

- [4]. Isa O.E., Monsuru A.S., Abdulwakil O.S., Raimot T.A., Lateef B., Sarat O.H., Rashidat A., "Chapter: Halal Harvesting: Exploring Aquatic Seafood and By-products as Ethical and Sustainable Alternatives for Fisheries," in book: *Green and Blue Economy Frameworks for Halal Industry Sustainability*, Springer, 369–399, 2025.
- [5]. Hafez J., Alberto L., Manuela M.S., Pejman G.B., Lei N., Houman A., Amin S., "Fish Collagen: Extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering," *Polymers* (Basel), 12(10), 2230, 2020. doi: 10.3390/polym12102230.
- [6]. Manjudevi M., Kamaraj J.A.M., Ling S.W., "Application of the circular economy to fish scale waste," *Sustainable Chemistry for the Environment*, 8, 00170, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.scenv.2024.100170>.
- [7]. Wala A.H., Mohamed S., Maha K., Sanaa K., Hussein F.H., Sami E.K., "Hydrolyzed collagen: Exploring its applications in the food and beverage industries and assessing its impact on human health - A comprehensive review," *Heliyon*, 10(16), e36433, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36433>.
- [8]. Jyun-Yuan H., Tzyy-Yue W., Ting-Yuan T., Ming-Jer T., Hsi-Hui L., Yuan-Yu H., "Assessment of tilapia skin collagen for biomedical research applications in comparison with mammalian collagen," *Molecules*, 29(2), 402, 2024. doi: 10.3390/molecules29020402.
- [9]. AOAC Official Method 990.26 (AOAC, 1996).
- [10]. Shoulders M.D., Raines R.T., "Collagen structure and stability," *Annual Review of Biochemistry*, 78, 929-958, 2009.
- [11]. Prieto P., Pineda M., Aguilar M., "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E," *Anal. Biochem.*, 269, 337-341, 1999.
- [12]. Zhu Q.Y., Hackman R.M., Ensunsa J.L., Holt R.R., Keen C.L., "Antioxidative activities of oolong tea," *J. Agric. Food Chem.*, 50, 6929-6934, 2002.
- [13]. Blois M.S., "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical," *Nature*, 26, 1199-1200, 1958.
- [14]. Nguyen T.C., Vu Q.M., Vu Q.T., Tran D.L., Mai D.H., Nguyen Q.T., Nguyen D.T., Thai H., "Characterization of collagen derived from tropical freshwater carp fish scale wastes and its amino acid sequence," *Natural Product Communications*, 14(9), 1-8, 2019. <https://doi.org/10.1177/1934578X19866288>
- [15]. Zhang B., Chen Y., Wei X., Li M., Wang M., "Optimization of conditions for collagen extraction from the swim bladders of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology," *International Journal of Food Engineering*, 6(3), 11, 2010. <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1772>
- [16]. Jafari H., Lista A., Siekapen M.M., Ghaffari-Bohlouli P., Nie L., Alimoradi H., Shavandi A., "Fish collagen: Extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering," *Polymers*, 12(10), 2230, 2020. <https://doi.org/10.3390/polym12102230>
- [17]. Liu D., Liang L., Regenstien J.M., Zhou P., "Extraction and characterization of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)," *Food Chemistry*, 133(4), 1441-1448, 2012.

AUTHORS INFORMATION

**Le Thanh Vu¹, Le Huong Thuy¹, Dang Xuan Cuong²,
Tran Thi Thanh Van³**

¹Industrial University of Ho Chi Minh City, Vietnam

²Ho Chi Minh City University of Industry and Trade, Vietnam

³Institute of Oceanography, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Vietnam