



NGHIÊN CỨU ĐỘNG HỌC TRÍCH LY COLLAGEN TỪ DA CÁ TRA (*PANGASIUS HYPOPTHALMUS*)

Kinetic of collagen extraction from the skin of tra fish (*Pangasius hypophthalmus*)

Lê Thị Thu Hương^{1,a}, Nguyễn Hoàng Dũng^{2,b}, Phan Đình Tuấn^{3,c}

¹Khoa Kỹ Thuật Hóa Học & Môi Trường, Trường Đại học Lạc Hồng, Đồng Nai, Việt Nam

²Khoa Kỹ Thuật Hóa Học, Trường Đại học Bách Khoa, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Trường Đại học Tài Nguyên và Môi Trường, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

^alethuhuong1976@yahoo.com, ^bdzung@hcmut.edu.vn, ^cpdtuan@hcmunre.edu.vn

TÓM TẮT. Mô hình động học trích ly collagen từ da cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) được đề xuất dựa trên cơ sở nghiên cứu so sánh ba mô hình động học là mô hình khuếch tán Fick, mô hình Peleg và mô hình động học bậc hai. Trên cơ sở đánh giá mức độ tương thích của ba mô hình với thực nghiệm theo hệ số tương quan - R^2 , sai số toàn phương trung bình - RMSD và sai số tuyệt đối trung bình - P (%); kết quả tính toán cho thấy mô hình động học bậc hai có các hệ số: $R^2 > 0,998$; $P < 6,489\%$ và $RMSD < 0,415$ có mức độ tương thích với thực nghiệm cao nhất. Dùng mô hình bậc hai để mô tả động học trích ly collagen từ da cá tra theo sự ảnh hưởng của ba yếu tố nồng độ acid acetic, tỷ số dung môi/ da cá và hàm lượng enzyme pepsin. Sai số giữa số liệu tính toán theo mô hình động học bậc hai và thực nghiệm dao động trong khoảng 0,33 % - 4,39 %; điều đó chứng tỏ mô hình dự đoán tương thích tốt với thực nghiệm.

TỪ KHOÁ: *pangasius hypophthalmus*, động học trích ly, collagen

ABSTRACT. The empirical kinetic models for collagen extraction from the skin of tra fish (*Pangasius hypophthalmus*) were studied using three kinetic models, namely the second order rate, Fick's law diffusion and Peleg's models. On the basis of assessing three models with experiment according to the correlation coefficient R^2 , root mean square deviation - RMSD and P(%); The second order rate law was found to be the best model capable of predicting the extraction data with $R^2 > 0,998$; $P - \text{value} < 6,489\%$ and $RMSD < 0,415$. Kinetic model base on the second order equation was successfully developed to describe the extraction processes with different processing variables: acetic acid concentration, liquid to solid ratio, and pepsin content. The verification of the developed model showed that the experimental values agreed with the predicted ones, with percentage error differences in range of 0,33% - 4,39 %.

KEYWORDS: *pangasius hypophthalmus*, kinetic, collagen

1. GIỚI THIỆU

Collagen là một loại protein chủ yếu của chất nền ngoại bào và mô liên kết [1], [2]. Collagen chiếm 30 % tổng lượng protein của cơ thể, đóng vai trò then chốt trong thành phần cấu tạo của các mô liên kết như da, gân, xương, dây chằng,... Collagen là một loại vật liệu sinh học được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp sản xuất mỹ phẩm, thực phẩm và dược phẩm [3], [4].

Trích ly collagen từ da cá Tra bằng dung dịch acid acetic bổ sung enzyme pepsin là quá trình trích ly rắn - lỏng. Đến nay đã có nhiều nghiên cứu mô tả động học và cơ chế của quá trình trích ly rắn- lỏng của các tác giả: Taralka S.V và Garkal D.J [5] sử dụng mô hình chuyển khối, mô hình động học bậc hai và mô hình khuếch tán để nghiên cứu quá trình trích ly các thành phần hoạt tính từ một số loại thảo dược; Stela Jokic và cộng sự [6] giả định quá trình trích ly tuân theo quy luật hấp phụ và sử dụng ba mô hình (mô hình Peleg, mô hình Page và mô hình logarith) để nghiên cứu quá trình tách chiết polyphenol tổng từ hạt đậu nành bằng dung môi nước và ethanol; Simeonov và cộng sự [7] sử dụng mô hình khuếch tán để nghiên cứu động học quá trình trích ly furostanoal saponin từ cây tật lê (*Tribulus terrestris*); Ana Bucic Kojic và cộng sự [8] sử dụng mô hình hấp phụ của Peleg để nghiên cứu động học của quá trình trích ly polyphenol từ hạt nho,... Nhìn chung các phương pháp nghiên cứu động học trích ly rắn - lỏng có thể dựa trên cơ sở sau: định luật khuếch tán Fick, quy luật động học bậc hai hoặc quy luật hấp phụ Peleg.

Nghiên cứu động học trích ly collagen từ da cá tra nhằm lựa chọn các thông số công nghệ thích hợp và thông qua mô hình hóa về động học trích ly để dự đoán được hàm lượng collagen theo thời gian trích ly, tăng khả năng chủ động điều khiển quá trình trích ly có ý nghĩa lớn trong quá trình sản xuất collagen, giúp tiết kiệm thời gian, năng lượng và chi phí sản xuất.

2. NỘI DUNG

2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu là da cá Tra thu nhận từ Công ty Cổ phần Thủy Sản Việt An (QL 91, Khóm Thạnh An, P. Mỹ Thới, Tp. Long Xuyên, tỉnh An Giang) và được xử lý theo phương pháp của Lê Thị Thu Hương et al [9].

2.2 Phương pháp trích ly collagen

Collagen được trích ly theo phương pháp của Nagai và Suzuki [10] với một số cải tiến cho phù hợp với đối tượng và mục tiêu nghiên cứu. Da cá sau xử lý sẽ được cắt nhỏ đến kích cỡ khoảng (3 x 3) mm để đem trích ly collagen bằng dung dịch acid acetic kết hợp với enzyme pepsin.

Nhiệt độ trong quá trình tách chiết collagen luôn duy trì ở 4 °C nhằm ức chế hoạt động của các enzyme và hệ vi sinh

Received: June, 10th, 2019

Accepted: July, 18th, 2019

*Corresponding Author

Email: lethuhuong1976@yahoo.com

vật trong da cá, ngăn ngừa sự phân giải protein [11], [12]. Phương pháp khuấy thường được sử dụng để gia tăng tốc độ khuếch tán collagen từ da cá vào môi trường trích ly [13], [14], [15]; trong nghiên cứu trích ly collagen từ da cá tra, tốc độ khuấy được chọn là 200 vòng/phút.

Khảo sát hiệu suất trích ly collagen (η) theo thời gian (t): 2; 4; 6; 8; 12; 24 h. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly collagen như: nồng độ acid acetic (M), hàm lượng enzyme pepsin (khối lượng enzyme pepsin / khối lượng da cá) và tỉ số dung môi/da cá (ml/g) thay đổi trong khoảng sau:

Nồng độ acid acetic (M): 0,25; 0,35; 0,45; 0,55; 0,65; 0,75
 Hàm lượng enzyme pepsin (%): 0,25; 0,35; 0,45; 0,55; 0,65; 0,75; 0,85

Tỉ số dung môi/da cá = L/S (ml/g): 20; 40; 60; 80; 100

Với mỗi thí nghiệm chỉ thay đổi thông số của một yếu tố, các yếu tố còn lại ấn định ở giá trị cố định.

Hiệu suất trích ly collagen (%) = (Hàm lượng hydroxyproline trong dung dịch / Hàm lượng hydroxyproline trong da cá) * 100

2.3 Các mô hình động học nghiên cứu

Ba mô hình động học hai tham số là mô hình khuếch tán Fick, mô hình Peleg và mô hình động học bậc hai dùng trong nghiên cứu động học trích ly collagen dựa trên các giả định sau: (1) Miếng da cá có kích thước, bề dày đồng nhất (m); (2) Sự phân bố của collagen trên miếng da là đồng nhất; (3) Sự khuếch tán của collagen chỉ xảy ra theo chiều từ trung tâm đến bề mặt miếng da cá.

2.3.1 Mô hình hấp phụ Peleg

Theo Bucic – Kojic và cộng sự (2007) [8] Quá trình trích ly rắn – lỏng theo mô hình Peleg có dạng như sau:

$$C = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 \cdot t} \quad (2.1)$$

Với C là nồng độ collagen trong dung dịch tại thời điểm t (mg collagen/g da cá), C_0 là nồng độ collagen trong dung dịch tại thời điểm ban đầu $t=0$, K_1 là hằng số tốc độ trích ly Peleg (phút.g da cá/mg collagen) và K_2 (g da cá/mg collagen) là hằng số cân bằng Peleg (khi quá trình trích ly đạt đến trạng thái cân bằng $t \rightarrow \infty$).

Để giải phương trình (2.1) có thể đặt ra các giả định (điều kiện biên) như sau: Nồng độ collagen trong dung dịch tại thời điểm ban đầu bằng 0 ($C_0 = 0$) nên phương trình (2.1) có dạng như sau:

$$C = \frac{t}{K_1 + K_2 \cdot t} \quad (2.2)$$

Hay

$$\frac{t}{C} = K_1 + K_2 t \quad (2.3)$$

Phương trình (2.3) được dùng để kiểm tra sự tương thích giữa kết quả thực nghiệm và mô hình.

Hằng số tốc độ trích ly Peleg – K_1 liên quan với tốc độ trích ly ban đầu ở thời điểm t_0 theo phương trình sau $B_0 = 1/K_1$ (mg collagen/g da cá. phút) và hằng số cân bằng Peleg – K_2 liên quan với hàm lượng collagen cân bằng C^* khi $t \rightarrow \infty$ theo phương trình sau $C^* = 1/K_2$ (mg collagen/g da cá).

2.3.2 Mô hình khuếch tán Fick

Theo Boucher và cộng sự [16] tốc độ khuếch tán của chất tan từ bên trong đến bề mặt chất rắn sẽ kiểm soát toàn bộ quá trình trích ly và được tính toán theo phương trình sau:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (2.4)$$

Với C là nồng độ collagen trong dung dịch ở thời điểm t (mol/m³); D là hằng số khuếch tán (m²/h); t là thời gian trích ly (h); x là bề dày miếng da cá (m).

Theo Warren L. McCabe và cộng sự [17] lấy tích phân phương trình (2.4) kết hợp với các giả định đã đặt ra ta có phương trình sau:

$$\frac{\bar{C} - C^*}{C_0 - C^*} = \frac{8}{\pi^2} \left(e^{-a_1 \beta} + \frac{1}{9} e^{-9a_1 \beta} + \frac{1}{25} e^{-25a_1 \beta} + \dots \right) = \varphi(\beta) \quad (2.5)$$

Với \bar{C} là nồng độ trung bình của collagen trong da cá ở thời điểm t

$$\beta = \frac{Dt}{r_p^2} \quad a_1 = \left(\frac{\pi}{2}\right)^2 \quad x = 2r_p$$

Như vậy hệ số khuếch tán D có thể xác định qua phương trình sau:

$$D = \frac{\beta r_p^2}{t} \quad (2.6)$$

Theo Perez và cộng sự (2011) [18], với thời gian trích ly đủ dài chỉ có số hạng thứ nhất có ý nghĩa, các số hạng thứ hai trở đi rất nhỏ nên phương trình (2.5) có thể viết dưới dạng sau:

$$\frac{\bar{C} - C^*}{C_0 - C^*} = \frac{8}{\pi^2} e^{-a_1 \beta} = \frac{8}{\pi^2} e^{-\frac{\pi^2 Dt}{4r_p^2}} \quad (2.7)$$

Phương trình (2.7) còn có thể viết dưới dạng sau:

$$y = \frac{C_0 - \bar{C}}{C_0 - C^*} = 1 - \frac{8}{\pi^2} e^{-\frac{\pi^2 Dt}{4r_p^2}} \quad (2.8)$$

Với y là hiệu suất trích ly collagen.

Đặt $Y = 1 - y$ ta có:

$$Y = \frac{8}{\pi^2} e^{-\frac{\pi^2 Dt}{4r_p^2}} \quad (2.9)$$

Lấy logarit (2.9) ta được:

$$\ln Y = \ln \frac{8}{\pi^2} - \frac{\pi^2 Dt}{4r_p^2} \quad (2.9)$$

Phương trình (2.9) được dùng để vẽ đồ thị $\ln Y$ theo t và xác định hệ số khuếch tán D.

2.3.3 Mô hình động học bậc hai

Theo Handayani A.D và cộng sự [19], tốc độ phân giải collagen từ da cá vào dung dịch acid acetic xảy ra theo phương trình sau:

$$\frac{dC}{dt} = k(C_e - C)^2 \quad (2.10)$$

Với k là hằng số tốc độ trích ly bậc hai (g da cá/mg collagen.giờ), C_e là nồng độ cân bằng của collagen trong dung dịch (mg collagen/g da cá) và C nồng độ của collagen trong dung dịch ở thời điểm t (mg collagen/g da cá).

Tích phân phương trình (2.10) với các giả định đã đặt và điều kiện biên: $t = 0 \div t$; $C = 0 \div C$ ta được:

$$\int_0^C \frac{1}{(C_e - C)^2} dC = k \int_0^t dt \quad (2.11)$$

$$\left[\frac{1}{C_e - C} \right]_0^C = k [t]_0^t \quad (2.12)$$

$$\left[\frac{1}{C_e - C} \right] - \left[\frac{1}{C_e} \right] = kt \quad (2.13)$$

$$\frac{C}{C_e^2 - C_e C} = kt \quad (2.14)$$

$$C = kt(C_e^2 - C_e C) \quad (2.15)$$

$$C(1 + ktC_e) = ktC_e^2 \quad (2.16)$$

$$C = \frac{ktC_e^2}{1 + ktC_e} \quad (2.17)$$

Phương trình (2.17) được biến đổi về dạng tuyến tính như sau:

$$\frac{t}{C} = \frac{1}{kC_e^2} + \frac{t}{C_e} \quad (2.18)$$

Khi t tiến đến 0, tốc độ trích ly collagen ban đầu h (mg collagen/g da cá. giờ) được tính như sau:

$$h = kC_e^2 \quad (2.19)$$

Thế (2.19) vào (2.18) và sắp xếp lại ta có phương trình sau

$$C = \frac{t}{\frac{1}{h} + \frac{t}{C_e}} \quad (2.20)$$

Từ phương trình (2.18) vẽ đồ thị hàm số t/C theo t dựa vào kết quả thực nghiệm và phương pháp bình phương cực tiểu ta sẽ xác định được hằng số tốc độ trích ly (k), tốc độ trích ly collagen ban đầu (h) và nồng độ collagen trong dung dịch khi đạt trạng thái cân bằng (C_e).

Trong trường hợp quá trình trích ly collagen tuân theo quy luật động học bậc hai, ta có thể dùng mô hình này để khảo sát ảnh hưởng của các biến số nồng độ acid acetic, hàm lượng enzyme pepsin và tỷ số R/L đến hiệu suất trích ly collagen bởi vì k , h , C_e đều có mối quan hệ với các biến số trên.

2.4 Phương pháp xác định hàm lượng hydroxyproline

Định lượng hydroxyproline theo phương pháp của Ignat'eva N.Y và cộng sự (2007) [20].

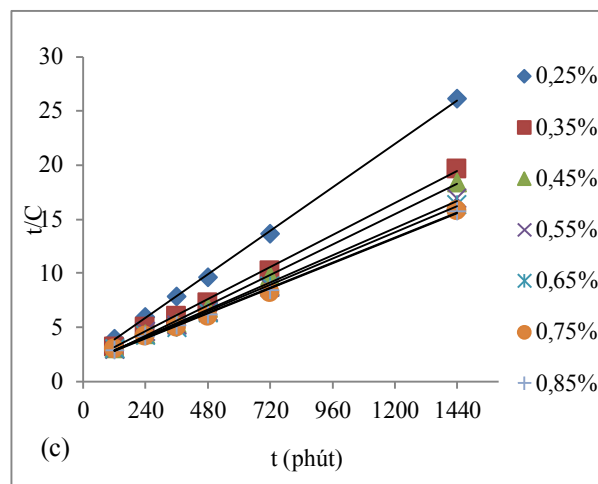
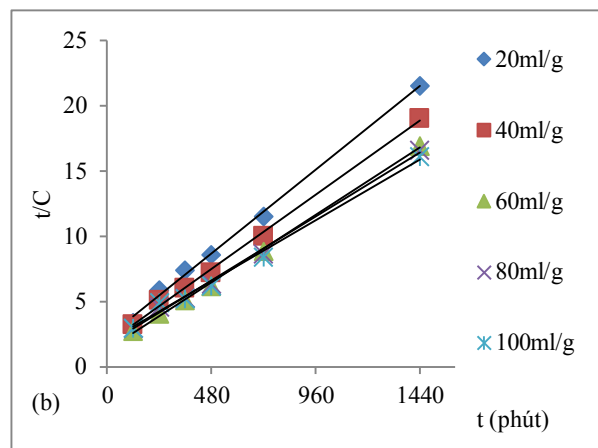
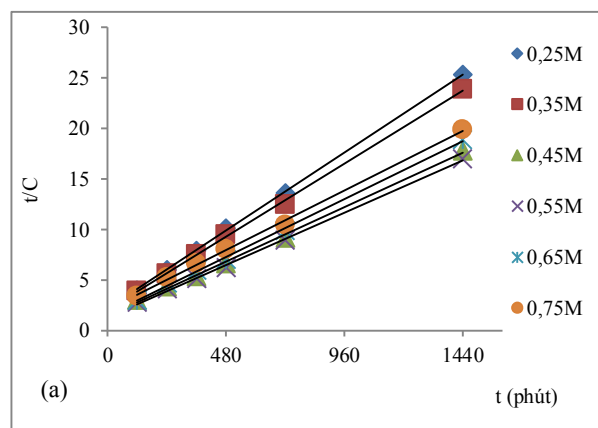
2.5 Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được thực hiện 3 lần lặp lại để tính giá trị trung bình, xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 97-2003, phần mềm Design Expert (Software Version 10, Stat-Ease Inc), phần mềm thống kê R-3.2.2.

3. KẾT QUẢ

3.1 Nghiên cứu động học của quá trình trích ly collagen theo mô hình Peleg

Cơ sở để đánh giá sự phù hợp của một mô hình dựa vào hệ số tương quan tuyến tính R^2 , sai số bình phương trung bình RMSD và giá trị sai số tuyệt đối trung bình P . Giá trị $R \approx 1$, RMSD và P càng nhỏ thì mô hình càng tốt [21]. Quá trình trích ly collagen từ da cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) dưới tác động của các yếu tố nồng độ acid acetic, tỷ số L/S, hàm lượng enzyme pepsin được trình bày ở hình 1. (a), (b), (c) theo mô hình Peleg cho thấy có sự tương quan chặt chẽ giữa mô hình và thực nghiệm, với hệ số tương quan $0,99 \leq R^2 \leq 1$; sai số bình phương trung bình RMSD < 0,53 và sai số tuyệt đối trung bình $P < 7\%$.



Hình 1. Kết quả thực nghiệm (các ký hiệu) và mô hình (đường liền nét) của quá trình trích ly collagen từ da cá tra theo mô hình Peleg dưới tác động của (a)- Nồng độ acid acetic; (b)- Tỷ số L/S và (c) - Hàm lượng enzyme pepsin.

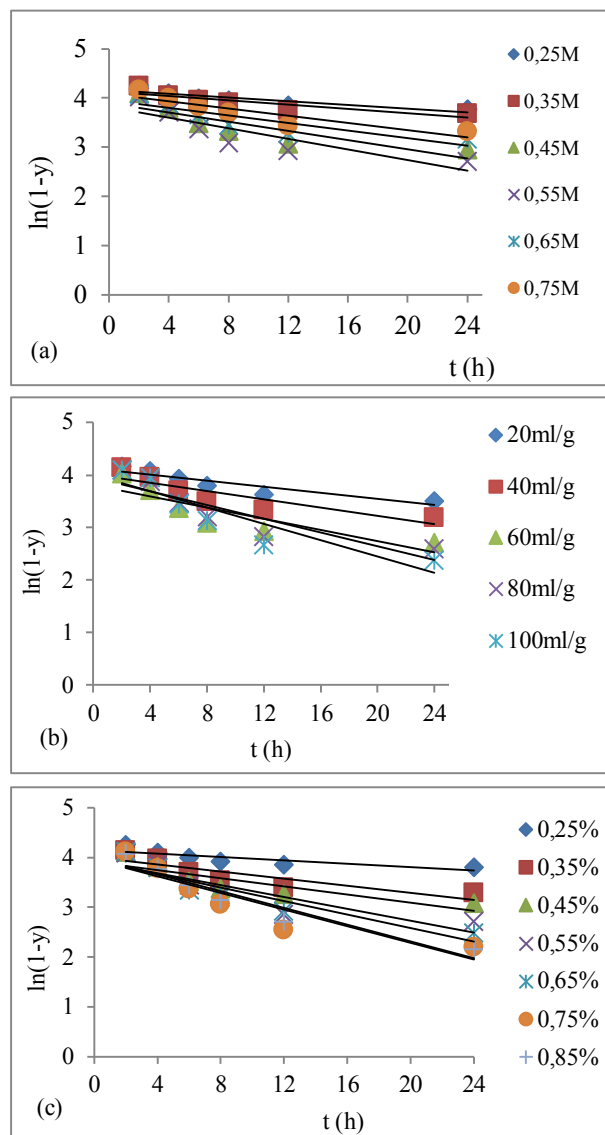
Bên cạnh đó, Bảng 1 trình bày các thông số tốc độ trích ly ($1/K_1$) và hàm lượng collagen khi hệ trích ly đạt trạng thái cân bằng ($1/K_2$) của mô hình Peleg theo sự ảnh hưởng của các yếu tố nồng độ acid acetic, tỷ số L/S và hàm lượng enzyme pepsin: ở nồng độ acid acetic là 0,55M tốc độ trích ly collagen đạt cao nhất là 0,784 (mg collagen/g da cá. phút) và hàm lượng collagen tương ứng là 92,585 (mg collagen/g da cá); ở tỷ số L/S = 60 ml/g tốc độ trích ly collagen đạt cao nhất là 0,784 (mg collagen/g da cá. phút) và hàm lượng collagen tương ứng là 95,276 (mg collagen/g da cá); ở hàm lượng pepsin là 0,45 % tốc độ trích ly collagen đạt cao nhất là 0,697 (mg collagen/g da cá. phút) và hàm lượng collagen tương ứng là 85,537 (mg collagen/g da cá).

Bảng 1. Các thông số động học và giá trị tương quan thống kê của quá trình trích ly collagen từ da cá tra theo mô hình Peleg

Yếu tố ảnh hưởng	Các hệ số thực nghiệm		Giá trị tương quan thống kê		
	1/K ₁ (mg collagen/g da cá. phút)	1/K ₂ (mg collagen/g da cá)	R ²	RMSD	P (%)
Nồng độ acid acetic (M)					
0,25	0,469	62,048	1,000	0,140	1,03
0,35	0,497	66,155	0,999	0,210	1,61
0,45	0,701	89,054	0,998	0,276	3,73
0,55	0,784	92,585	0,998	0,237	3,79
0,65	0,652	83,697	0,998	0,211	2,43
0,75	0,490	81,273	0,988	0,314	3,45
L/S (ml/g)					
20	0,446	74,554	0,997	0,423	5,46
40	0,561	83,927	0,998	0,276	3,09
60	0,784	95,276	0,996	0,237	3,81
80	0,586	100,590	0,996	0,314	3,51
100	0,528	104,425	0,992	0,448	6,25
Pepsin (%)					
0,25	0,540	59,690	1,000	0,235	1,99
0,35	0,600	80,896	0,996	0,372	3,64
0,45	0,697	85,537	0,998	0,293	4,27
0,55	0,615	95,514	0,997	0,456	4,59
0,65	0,606	98,776	0,999	0,211	3,60
0,75	0,594	103,530	0,996	0,349	4,85
0,85	0,579	103,426	0,999	0,271	2,63

3.2 Nghiên cứu động học của quá trình trích ly collagen theo mô hình khuếch tán Fick

Quá trình trích ly collagen từ da cá tra dưới tác động của các yếu tố nồng độ acid acetic, tỷ số L/S, hàm lượng enzyme pepsin được trình bày ở hình 2. (a), (b), (c) theo mô hình khuếch tán Fick thể hiện mối tương quan giữa mô hình và thực nghiệm, với hệ số tương quan R² thay đổi trong khoảng 0,67 ≤ R² ≤ 0,93; mức độ tương thích giữa mô hình và thực nghiệm tăng dần khi gia tăng hàm lượng và tỷ lệ của các yếu tố ảnh hưởng; hệ số sai số bình phương trung bình RMSD < 0,27 và sai số tuyệt đối trung bình P < 8,5%.

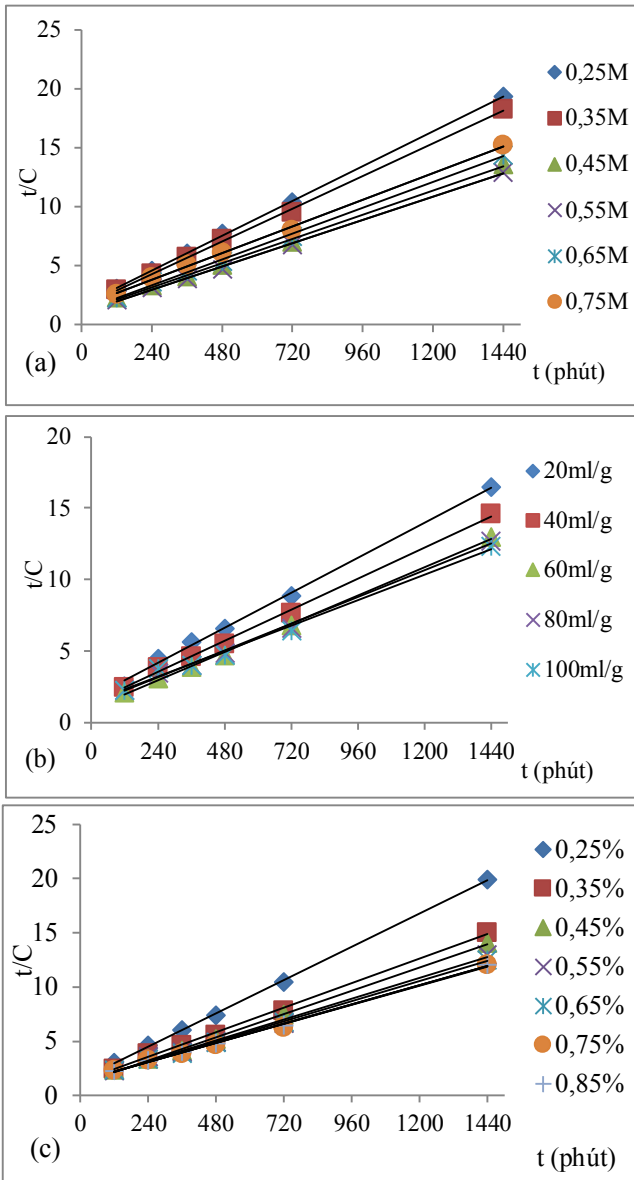


Hình 2. Kết quả thực nghiệm (các ký hiệu) và mô hình (đường liền nét) của quá trình trích ly collagen từ da cá tra theo mô hình khuếch tán Fick dưới tác động của (a) - của nồng độ acid acetic; (b) - Tỷ số L/S và (c) - Hàm lượng enzyme pepsin.

3.3 Nghiên cứu động học của quá trình trích ly collagen theo mô hình động học bậc hai

Quá trình trích ly collagen từ da cá tra dưới tác động của các yếu tố nồng độ acid acetic, tỷ số L/S, hàm lượng enzyme pepsin được trình bày ở hình 3. (a), (b), (c) theo mô hình động học bậc hai cho thấy có sự tương quan chặt chẽ giữa mô hình và thực nghiệm, với hệ số tương quan 0,998 ≤ R² ≤ 1; sai số bình phương trung bình RMSD < 0,415 và sai số tuyệt đối trung bình P < 6,489 %.

So sánh ba mô hình: Peleg, khuếch tán Fick và động học bậc hai dựa trên cơ sở đánh giá các hệ số R², RMSD và P (%) được trình bày ở bảng 2 cho thấy mức độ tương thích với thực nghiệm sắp xếp theo thứ tự tăng dần của hệ số tương quan tuyến tính R² như sau: Mô hình Fick < mô hình Peleg < mô hình động học bậc hai. Như vậy dựa vào hệ số tương quan R² có thể thấy mô hình khuếch tán Fick tương thích kém với thực nghiệm. Hai mô hình còn lại cho thấy hệ số R² của mô hình bậc hai cao hơn mô hình Peleg. Đồng thời, xét về giá trị sai số bình phương trung bình (RMSD) và sai số tuyệt đối trung bình (P) nhận thấy, các hệ số của mô hình bậc hai (0,424 và 5,279) thấp hơn mô hình Peleg (0,456 và 6,253).



Hình 3. Kết quả thực nghiệm (các ký hiệu) và mô hình (đường liền nét) của quá trình trích ly collagen từ da cá tra theo mô hình động học bậc hai dưới tác động của (a) - Nồng độ acid acetic; (b)- Tỷ số L/S và (c)- Hàm lượng enzyme pepsin

Bảng 2. Hàm lượng collagen xác định từ thực nghiệm và mô hình dự đoán theo thời gian trích ly ở các nồng độ acid acetic, hàm lượng enzyme pepsin, tỷ số L/S khác nhau

Acetic (M)	Thời gian (phút)	C _t tính toán (mg/g)	C _t thực nghiệm (mg/g)	Sai số (%)
0,474	240	74,07	76,89	1,99
0,474	480	89,23	92,92	2,61
0,474	720	95,77	94,10	1,18
0,474	960	99,41	101,25	1,30
0,474	1200	101,73	102,69	0,68
0,474	1440	103,33	106,37	2,15
L/S(ml/g)				
55,247	240	75,01	75,94	0,66
55,247	480	91,90	92,37	0,33
55,247	720	99,36	101,89	1,79

55,247	960	103,56	105,12	1,10
55,247	1200	106,26	109,08	2,00
55,247	1440	108,14	112,15	2,84
Pepsin				
0,494	240	75,43	74,57	0,61
0,494	480	92,43	96,98	3,22
0,494	720	99,93	102,49	1,81
0,494	960	104,16	108,34	2,95
0,494	1200	106,87	113,08	4,39
0,494	1440	108,76	114,89	4,33

Tóm lại, trên cơ sở so sánh các hệ số R², RMSD và P cho thấy: mô hình động học bậc hai có mức độ tương thích với thực nghiệm cao nhất và cũng đủ đơn giản, dễ áp dụng. Do đó, mô hình động học bậc hai được chọn để mô tả động học trích ly collagen.

3.4 Xác định hàm lượng collagen và tốc độ trích ly theo mô hình động học bậc hai

Phương trình động học bậc hai $C = \frac{t}{\frac{1}{h} + \frac{t}{C_e}}$ thể hiện sự phụ

thuộc của hàm lượng collagen theo thời gian, tốc độ trích ly ban đầu (h) và hàm lượng collagen cân bằng (C_e). Để xác định hàm lượng collagen theo nồng độ acid, tỷ số L/S và hàm lượng enzyme pepsin, ta cần xác định các hệ số k, h, C_e phụ thuộc nồng độ acid, tỷ số L/S và hàm lượng enzyme pepsin.

- Xác hệ số k, h, C_e phụ thuộc vào nồng độ acid acetic (A) bằng cách vẽ đồ thị hàm số theo số liệu được trình bày ở bảng 1; Dựa vào hệ số tương quan R² ≈ 1 để chọn hàm đa thức thể hiện mối liên hệ giữa k, h, C với acid acetic [22].

$$k_{(A)} = 7.10^{-7}A^2 - 0,0001A + 0,0001 \quad (R^2 = 0,844) \quad (3.1)$$

$$C_{e(A)} = -494,8A^3 + 368,4A^2 + 84,7A + 41,98 \quad (R^2 = 0,842) \quad (3.2)$$

$$h_{(A)} = -15,97A^3 + 18,58A^2 - 5,56A + 1,07 \quad (R^2 = 0,904) \quad (3.3)$$

Thế (3.3), (3.4) vào phương trình (2.20) ta được phương trình:

$$C_t = \frac{t}{\frac{1}{[-15,97A^3 + 18,58A^2 - 5,56A - 1,07]} + \frac{t}{[-494,8A^3 + 368,4A^2 + 84,7A + 41,98]}} \quad (3.4)$$

Phương trình (3.4) có thể dùng để dự đoán hàm lượng collagen trong dịch trích ly (hoặc hiệu suất trích ly collagen) theo sự thay đổi nồng độ acid acetic (0,25 - 0,75M); trong thời gian 0- 24 giờ, với hàm lượng pepsin là 0,5% và tỷ lệ L/S là 60 ml/g.

Xác hệ số k, h, C_e phụ thuộc vào tỷ lệ L/S (R) và hàm lượng enzyme pepsin (E) theo cách tương tự như đối với acid acetic.

3.5 Kiểm tra sự phù hợp của mô hình động học bậc hai với thực nghiệm

Kết quả xác định hàm lượng collagen từ thực nghiệm và hàm lượng collagen tính được từ phương trình dự đoán (3.4) ở nồng độ acid acetic 0,474 M; tỷ lệ lỏng/rắn 55,247 ml/g; hàm lượng pepsin 0,494 % theo thời gian trích ly. Mức độ chênh lệch giữa số liệu tính toán và thực nghiệm dao động

trong khoảng 0,33 % – 4,39 % (với độ tin cậy 95 %); điều đó cho thấy phương trình dự đoán tương thích tốt với thực nghiệm. Phương trình (3.4) có thể dùng để dự đoán hàm lượng collagen theo thời gian trích ly với nồng độ acid acetic trong vùng khảo sát.

4. KẾT LUẬN

Đánh giá mức độ tương thích với thực nghiệm của ba mô hình động học trích ly (Peleg, Fick và mô hình bậc hai) theo các hệ số R^2 , RMSD, P (%) nhận thấy mô hình động học bậc hai có độ tương thích cao nhất, tiếp theo là mô hình Peleg và thấp nhất là mô hình khuếch tán Fick. Trên cơ sở mô hình động học bậc hai xác định được, có thể dự đoán hàm lượng collagen thu được theo thời gian trích ly, tốc độ trích ly và thời điểm mà hệ trích ly đạt đến cân bằng.

5. CẢM ƠN

Tác giả xin cảm ơn Trường Đại học Lạc Hồng và Trường Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện về thời gian, trang thiết bị thực nghiệm để tác giả thực hiện nghiên cứu này.

6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Shoulders, M.; Raines, R. Collagen structure and stability. *Ann. Rev. Biochem.*, **2009**, 78, 929-958.
- [2] Gordon, M.; Hahn, R. Collagens. *Cell Tissue Res.* **2010**, 339, 247-257.
- [3] Nair, L.; Laurencin, C. Biodegradable polymers as biomaterial. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, 32, 762-798.
- [4] Rao, K. Recent developments of collagen based materials for medical applications and drug delivery system. *Journal of Biomaterial Science*, **1995**, 7, 623-631.
- [5] Taralka, S. V.; Garkal, D. J. Solid-liquid extraction process of active ingredients from medicinal plants mathematical models. *International Journal of Chemical Sciences and Applications*, **2010**, 1, 82-85.
- [6] Jokic, S.; Velic, D.; Bilic, M.; Bocic-Kojic, A.; Planinic, M.; Tomas, S. Modelling of the process of solid - liquid extraction of total polyphenols from soybeans. *Czech Journal Food Science*, **2010**, 28 (3), 206-212.
- [7] Simeonov, E.; Koleva, V.; Chilver, C. Solid liquid extraction of furostanal saponins from *Tribulus terrestris*. *Journal of University of Chemical Technology and Metallurgy*, **2011**, 46, 309-314.
- [8] Bucic-Kojic, A.; Planinic, M.; Tomas, S.; Bilic, M. & Velic, D. Study of solid- liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, **2007**, 81, 236-242.
- [9] Le Thi Thu Huong; Nguyen Ngoc Truong; Nguyen Hoang Dung; Phan Dinh Tuan. Treatment of Tra fish (*Pangasius hypophthalmus*) skin for collagen extraction. *Journal of Science and Technology*, **2010**, 48, 319-328.
- [10] Nagai, T.; Suzuki, N. Isolation and characterization of collagen from zhitostomous jellyfish (*Rhopilema asamushi*). *Food Chemistry*, **2000**, 70, 205-208.
- [11] Ghaly, A.E.; Dave, D.; Budge, S.; Brooks, M. S. Fish spoilage mechanism and preservation techniques: Review. *American Journal of Applied Sciences*, **2010**, 7, 859-877.
- [12] Aukkanit, N.; Garnjanagoonchorn, W. Temperature effects on type I pepsin solubilised collagen extraction from silver - line grunt skin and its in vitro fibril self- assembly. *Journal of Science Food Agriculture*, **2010**, 90, 2627-2632.
- [13] Wang, L.; Yang, B.; Du, X. Q. Extraction of acid soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Journal of Food Process Engineering*, **2009**, 32, 743-751.
- [14] Kiew, L. P.; Mat Don, M. Screening of significant factors in collagen extraction from hybrid *Clarias* sp. using a statistical tool. *International Food Research Journal*, **2013**, 20, 1913-1920.
- [15] Nagai, T. Collagen from Diamondback Squid (*Thy-sanoteuthis rhombus*) Outer Skin. *Zeitschrift fur Naturforschung*, **2004**, 59, 271-275.
- [16] Boucher, D. F.; Brier, J. C.; Osburn, J. O. Extraction of oil from a porous solid. *Transfer American Institute Chemical Engineering*, **1942**, 38, 967-993.
- [17] Warren, L. M.; Julian, C. S.; Harriott, P. *Unit Operation of Chemical Engineering*; McGraw Hill Companies, **2005**.
- [18] Perez, E. E.; Carelli, A. A.; Crapiste, G. H. Temperature-dependent diffusion coefficient of oil from different sunflower seeds during extraction with hexane. *Journal of Food Engineering*, **2011**, 105, 180-185.
- [19] Handayani, A. D.; Sutrisno; Indraswati, N.; Ismadji, S. Extraction of astaxanthin from giant tiger (*Panaeus monodon*) shrimp waste using palm oil: Studies of extraction kinetics and thermodynamic. *Bioresource Technology*, **2008**, 99, 4414-4419.
- [20] Ignat'eva, N. Y.; Danilov, N. A.; Averkiev, S. V.; Obrezkova, M. V.; Lunin, W.; Sobol, E. N. Determination of hydroxyproline in tissues and the evaluation of the collagen content of the tissues. *Journal of Analytical Chemistry*, **2007**, 62, 51-57.
- [21] 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*, **2010**, 6, 1-18.
- [22] Kittiphattanabawon, P.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Kishimura, H.; Shahidi, F. Isolation and characterisation of collagen from the skin of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*). *Food Chemistry*, **2010**, 119, 1519-1526.