

THU NHẬN MÀNG SINH HỌC COLLAGEN ĐIỀU TRỊ BỎNG TỪ NGUỒN PHẾ LIỆU CÔNG NGHIỆP CHẾ BIẾN THỰC PHẨM

*PGS.TS. Trần Minh Tâm
KS. Phạm Nguyễn Duy Bình*

A. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bỏng là tai nạn thường gặp trong lao động và sinh hoạt.

Viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác (thuộc Học viện Quân y) tiếp nhận từ 3.500 đến 4.000 bệnh nhân bỏng nặng, rất nặng mỗi năm (số liệu năm 2009). Theo thống kê, cứ 100 người bị bỏng thì có 3 đến 5 người tử vong và khoảng 30 đến 35 người bị các di chứng về sức khỏe, chức năng và tinh thần.

Điều trị bỏng phải nhanh chóng, đồng thời đòi hỏi phải toàn diện: điều trị tại chỗ, điều trị toàn thân kết hợp với dự phòng và điều trị các biến chứng, di chứng. Đối với trường hợp bỏng sâu, diện rộng thì việc điều trị nhất thiết phải ghép da của chính người bị bỏng. Tuy nhiên điều này là không thể, vì người bệnh không có đủ da và không đủ sức khỏe để phẫu thuật.

Việc cấy ghép da đồng loại, da dị loại mở rộng nguồn da thay thế nhưng lại gặp một số trở ngại do tính không tương hợp sinh học cũng như khó khăn trong việc bảo quản. Vì vậy khả năng ứng dụng còn hạn chế.

Điều này thúc đẩy việc sản xuất vật liệu thay thế da - phần lớn có nguồn gốc

từ tự nhiên, có tính tương hợp sinh học cao và có tác dụng tốt cho điều trị bỏng. Tuy nhiên giải pháp này vẫn còn một số hạn chế về chất lượng và giá thành.

Ý tưởng nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học có tác dụng điều trị bỏng trong thời gian ngắn, hiệu quả và ít tốn kém là điều cần thiết, đặc biệt, chế phẩm phải có màng collagen.

Màng collagen có tác dụng điều trị bỏng tốt, có thể được tạo ra bằng nhiều cách. Vấn đề là phải tạo ra màng collagen có chất lượng tốt với chi phí thấp. Đó là mục tiêu của nghiên cứu. Và giải pháp phù hợp hơn cả là tận dụng phế liệu trong công nghiệp chế biến thịt và cá để thu chế phẩm màng collagen.

Hiện nay, việc sử dụng phế liệu từ công nghiệp chế biến thực phẩm ở nước ta còn nhiều hạn chế, có loại đã được sử dụng nhưng hiệu quả chưa cao. Chúng tôi hướng tới việc sử dụng phụ phẩm của công nghiệp chế biến cá da trơn để thu nhận chế phẩm màng sinh học collagen, chữa bỏng. Sau đó, nghiên cứu khảo sát thị trường để thương mại hóa sản phẩm trong điều kiện Việt Nam. Nhiệm vụ đặt ra trong nghiên cứu của chúng tôi là :

- Nghiên cứu xây dựng quy trình trích ly collagen từ da cá.

- Tạo được màng sinh học collagen.

- Thử nghiệm trong điều trị bỏng.

B. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

I. Nội dung nghiên cứu

1. Nghiên cứu khả năng tách loại tạp chất phi collagen ra khỏi nguyên liệu cá.

2. Nghiên cứu quá trình thu nhận collagen.

3. Xây dựng quy trình công nghệ tạo sản phẩm màng sinh học collagen.

4. Thử nghiệm màng sinh học collagen trên chuột nhắt trắng được gây bỏng.

II. Phương pháp nghiên cứu

Đối với nội dung 1: Nghiên cứu khả năng tách loại tạp chất phi collagen ra khỏi nguyên liệu

Chúng tôi sử dụng NaOH làm tác nhân xử lý; tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nồng độ, thời gian sử dụng NaOH đến khả năng tách loại các tạp chất, từ đó chọn ra điều kiện xử lý thích hợp để khả năng loại tạp chất là tốt nhất và kinh tế nhất.

Thí nghiệm được tiến hành song song ở cả nhiệt độ lạnh và nhiệt độ thường trong thời gian 1 giờ và 2 giờ, lặp lại ba lần. Nồng độ NaOH thay đổi lần lượt: 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5%.

Đối với nội dung 2: Nghiên cứu quá trình thu nhận collagen

Chúng tôi tiến hành khảo sát ảnh

hưởng của thời gian xử lý acid ở nhiệt độ 5°C và 30°C; sau đó so sánh hiệu suất và chất lượng dịch trích ly ở hai chế độ xử lý; tiếp đến là khảo sát thời gian trích ly collagen; chọn thời gian thích hợp để thu được lượng collagen nhiều nhất.

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian xử lý acid acetic:

Xử lý ở điều kiện lạnh 5°C với thời gian xử lý lần lượt 60, 90, 120, 150 phút.

Xử lý ở nhiệt độ thường (30°C) với thời gian xử lý acid lần lượt là 5, 10, 15, 20 phút.

So sánh hiệu suất và chất lượng dịch trích ly ở hai chế độ xử lý.

Mục đích: chọn ra điều kiện xử lý acid thích hợp sao cho lượng collagen thu được là tốt nhất.

Các giá trị so sánh: lượng collagen thu nhận, pH.

Đối với nội dung 3: Xây dựng quy trình công nghệ tạo sản phẩm màng sinh học collagen

Phương pháp: Từ các kết quả thu được tiến hành xây dựng quy trình công nghệ tạo sản phẩm màng sinh học collagen.

Đối với nội dung 4: Thử nghiệm màng sinh học collagen trên chuột nhắt trắng được gây bỏng

Chuột nhắt trắng được nuôi ổn định một tuần, bố trí mỗi con một chuồng với cùng điều kiện chăm sóc và ăn uống như nhau.

Chuột được gây mê bằng eter rồi gây bỏng nhiệt khô (độ 2, độ 3) bằng miếng

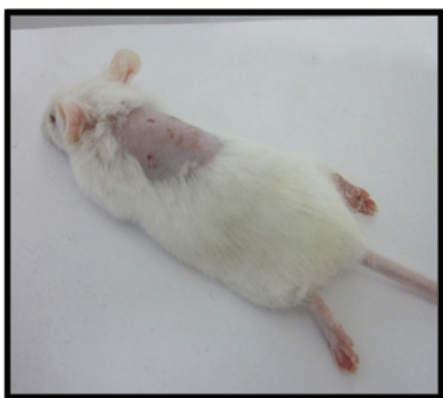
kim loại nung nóng trên ngọn lửa đèn cồn trong 30 giây, thời gian gây bỏng là 3 giây tại vùng lưng chuột.



Sau 2 ngày gây bỏng, cắt lọc hoại tử tại vùng bỏng

Chọn 3 mốc thời gian sau khi điều trị: 4 ngày, 7 ngày, 10 ngày để theo dõi tiến độ lành hóa vết thương bỏng.

Cạo lông chuột từ vùng vai đến lưng.



- Nhận xét dấu hiệu lâm sàng.

- Thu mẫu mô (gồm vùng mô tổn thương và vùng mô lành xung quanh), cố định trong formol 10% rồi gửi sang Bệnh viện Chợ Rẫy làm tiêu bản.

- Đánh giá kết quả giải phẫu bên trong, lành hóa vết thương (Bệnh viện Chợ Rẫy).

C. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

I. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình loại tạp chất phi collagen

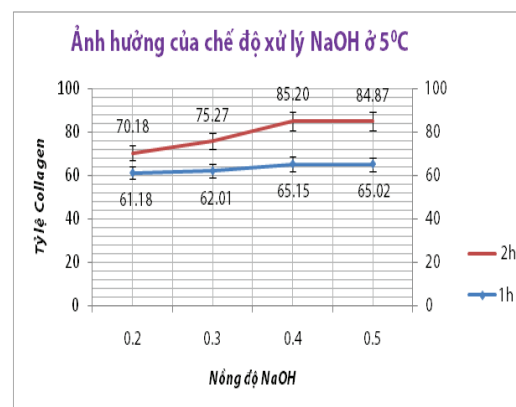
1. Xử lý với NaOH ở nhiệt độ lạnh 5°C

Bảng 1: Tỷ lệ collagen sau khi loại tạp chất

Nồng độ NaOH (%)		0.2	0.3	0.4	0.5
Tỷ lệ collagen (%)	Ngâm 1 giờ	61.18%	62.01%	65.15%	65.02%
	Ngâm 2 giờ	70.18%	75.27%	85.20%	84.87%
Nguyên liệu		150g			

Từ kết quả ở biểu đồ trên, ta thấy độ sạch của nguyên liệu sau khi ngâm NaOH trong 2 giờ sạch hơn nhiều so với 1 giờ. Với thời gian xử lý 1 giờ ở các nồng độ NaOH, ta thấy nồng độ 0,4% cho hiệu quả cao nhất.

Như vậy, xử lý NaOH ở nhiệt độ 5°C, quá trình loại tạp chất cho hiệu quả cao nhất khi ngâm 2 giờ với nồng độ 0.4%.



Hình 1. Biểu đồ ảnh hưởng của chế độ xử lý NaOH ở 5°C

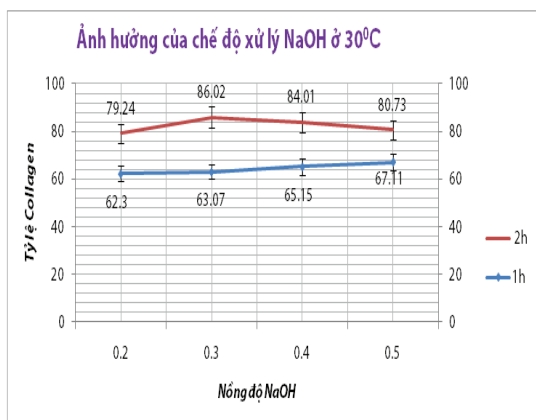
2. Xử lý với NaOH ở nhiệt độ thường (30°C)

Bảng 2: Tỷ lệ collagen sau khi loại tạp chất

Nồng độ NaOH (%)		0.2	0.3	0.4	0.5
Tỷ lệ collagen (%)	Ngâm 1 giờ	62.30%	63.07%	65.15%	67.11%
	Ngâm 2 giờ	79.24%	86.02%	84.01%	80.73%
	Nguyên liệu ban đầu	150			

Từ kết quả bảng 2 và biểu đồ 2 cho thấy độ sạch của nguyên liệu sau khi ngâm NaOH ở nhiệt độ thường gần giống trong nhiệt độ lạnh, ngâm trong 2 giờ sạch hơn nhiều so với 1 giờ. Với thời gian xử lý 1 giờ ở các nồng độ NaOH khác nhau, ta thấy nồng độ 0,3% cho hiệu quả cao nhất.

Như vậy, xử lý NaOH ở nhiệt độ 30°C, quá trình loại tạp chất cho hiệu quả cao nhất khi ngâm 2 giờ với nồng độ 0,3%.



Hình 2. Biểu đồ ảnh hưởng ở chế độ xử lý NaOH 30°C

Với kết quả trên, chúng tôi chọn nhiệt độ xử lý là 30°C, và nồng độ NaOH là 0,3%.

II. Khảo sát thời gian xử lý acid

Ở nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng acid acetic 0,5M làm tác nhân trương nở và

tiến hành khảo sát ảnh hưởng của thời gian xử lý acid đến hiệu suất thu nhận collagen.

1. Xử lý ở nhiệt độ lạnh 5°C với các thời gian ngâm acid khác nhau

Thời gian ngâm acid thay đổi lần lượt: 60, 90, 120, 150 phút.

Bảng 3: Tỷ lệ collagen sau thời gian xử lý acid ở nhiệt độ lạnh 5°C

Thời gian (phút)	60	90	120	150
Tỷ lệ collagen (%)	66.20%	86.58%	84.14%	84.96%
Nguyên liệu ban đầu	150g			

Từ kết quả trên cho thấy hiệu suất chiết collagen tăng khi thời gian xử lý acid tăng từ 60 phút đến 90 phút và sau đó giảm dần khi thời gian xử lý tiếp tục tăng.

Như vậy, thời gian ngâm acid ở nhiệt độ lạnh tốt nhất là 90 phút.

2. Xử lý ở nhiệt độ 30°C

Thời gian ngâm acid thay đổi lần lượt: 5, 10, 15, 20 phút

Bảng 4. Tỷ lệ collagen sau thời gian xử lý acid ở nhiệt độ thường 30°C

Thời gian (phút)	5	10	15	20
Tỷ lệ collagen (%)	66.69%	68.95%	73.32%	70.95%
Nguyên liệu ban đầu	150			

Từ kết quả trên ta thấy hiệu suất chiết collagen tăng khi thời gian xử lý acid tăng từ 5 phút đến 15 phút và sau đó giảm dần

khi thời gian xử lý tiếp tục tăng.

Như vậy, thời gian ngâm acid ở nhiệt độ thường tốt nhất là 15 phút.

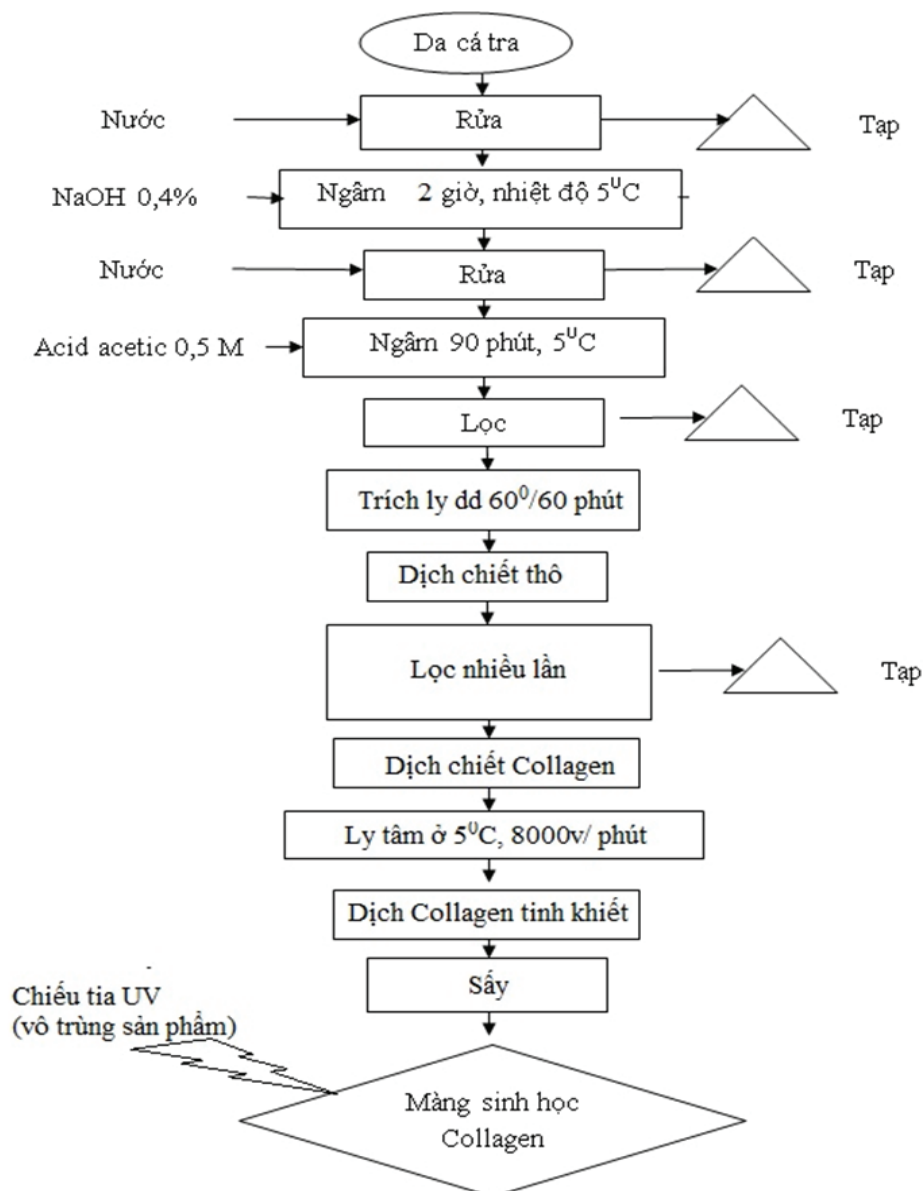
III. Quy trình công nghệ sản xuất màng sinh học collagen

Từ các kết quả khảo sát trên, ta xây dựng quy trình công nghệ sản xuất màng sinh học collagen như sơ đồ 1.

Thuyết minh quy trình

- Rửa: nguyên liệu da cá được rửa đông sau đó rửa sạch bằng nước sạch.

- Ngâm NaOH: để thu nhận collagen có độ tinh sạch cao, trước hết cần loại các tạp chất (protein tạp, lipid, sắc tố...) ra khỏi da nguyên liệu. Những tạp chất này có thể bị hòa tan hoặc phân giải trong dung dịch kiềm loãng. Nguyên liệu ngâm vào dung dịch NaOH 0,4% trong 2 giờ, nhiệt



Sơ đồ 1: Quy trình công nghệ sản xuất màng sinh học collagen

độ lạnh. Rửa lại da cá cho sạch NaOH và tạp chất bám phía ngoài.

- Ngâm da cá trong dung dịch acid acetic nồng độ 0,5 M; thời gian 90 phút.

- Trích ly ở nhiệt độ 60°C, thời gian 60 phút.

- Ly tâm, lọc ở nhiệt độ lạnh.

- Thu được dịch collagen tinh khiết.

- Dung dịch trải ra đĩa petri và sấy khô.

- Thu được sản phẩm màng sinh học collagen.

- Dùng tia UV chiếu để vô trùng sản phẩm. Đóng gói sản phẩm.

IV. Thử nghiệm màng sinh học collagen trên chuột nhắt trắng được gây bỏng

Chuột được gây bỏng nhiệt khô, bong lớp thượng bì, phá hủy tới lớp trung bì, mạch máu xung huyết, vết bỏng da cấp.

Sự khác biệt giữa các nhóm điều trị và thời gian điều trị được đánh giá trên mức độ biểu hiện của từng chỉ tiêu. Cụ thể:

Bảng 5: Diễn tiến lành hóa vết thương ở nhóm chuột thí nghiệm theo các mốc thời gian

Nhóm điều trị	Thời gian điều trị		
	4 ngày	7 ngày	10 ngày
Đối chứng	C	C	C
Đắp gạc	C	C	B
Đắp màng sinh học Collagen	C	B	A

Chú thích:

A, B, C là Tiêu chuẩn đánh giá mức độ lành hóa vết thương (Bệnh viện Chợ Rẫy)

Mức độ A: Tái tạo tốt, viêm nhẹ, sắp lành. +++

Mức độ B: Tái tạo tốt, còn viêm và phù ++

Mức độ C: Tái tạo trung bình, viêm, phù nề. +

- Nhóm đối chứng (không điều trị):

+ Ngày 4: số lượng bạch cầu đa nhân trung tính rất nhiều, đại thực bào, bạch cầu xuyên mạch nhiều để bảo vệ và dọn sạch vùng vết thương, viêm sâu và có hoại tử mô, thượng bì bắt đầu tái tạo.

+ Ngày 7: lượng bạch cầu đa nhân trung tính vẫn còn nhiều, còn đại thực bào và bạch cầu xuyên mạch, cơ thể cần phải huy động bạch cầu đến để bảo vệ vùng vết thương, chưa ngăn chặn được sự nhiễm khuẩn, thượng bì tái tạo.

+ Ngày 10: số lượng bạch cầu đã giảm tuy nhiên có hiện tượng bội nhiễm vi khuẩn và nấm, vết thương chưa sạch, còn loét rộng.

- Nhóm đắp gạc:

+ Ngày 4: có sự hiện diện của bạch cầu đa nhân trung tính và đại thực bào, quá trình tái tạo thượng bì hình thành.

+ Ngày 7: còn bạch cầu xuyên mạch và đại thực bào, chưa ngăn chặn được sự xâm nhiễm, có bội nhiễm vi khuẩn và nấm tại vùng vết thương, viêm sâu, có tái tạo thượng bì.

+ Ngày 10: số lượng bạch cầu giảm, vết thương sạch thúc đẩy quá trình lành hóa, viêm trung bì, còn loét.

- Nhóm đắp màng sinh học collagen:

+ Ngày 4: có nhiều bạch cầu đa nhân

trung tính, đại thực bào, bạch cầu xuyên mạch để bảo vệ vùng thương tổn, thượng bì bắt đầu tái tạo.

+ Ngày 7: lượng bạch cầu giảm, còn bạch cầu xuyên mạch, viêm bì nông, loét nhẹ, thượng bì tái tạo, vết thương sạch.

+ Ngày 10: còn ít bạch cầu, không có nhiễm trùng, vết thương sạch giai đoạn sắp lành.

IV. KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu, chúng tôi có một số kết luận sau:

1. Đã xác định được điều kiện tối ưu để loại tạp chất phi collagen trên da nguyên liệu là da cá.

2. Khảo sát được điều kiện tối ưu để thu nhận collagen tinh khiết.

3. Đã tạo ra thành phẩm màng sinh học collagen trị bỏng.

4. Xây dựng được quy trình sản xuất màng sinh học collagen.

Việc nghiên cứu thành công màng sinh học collagen với kết quả khả quan như trên đã mở ra một cơ hội mới. Cùng với đó, nó đem lại một dòng sản phẩm tạo nguồn lợi cho xã hội không chỉ về mặt kinh tế mà còn về tính nhân văn, góp phần tìm kiếm những sản phẩm tốt để điều trị và bảo vệ sức khỏe con người. Ngoài ra, sản phẩm giúp bảo vệ môi trường vì tận dụng được nguồn phế thải công nghiệp chế biến thực phẩm nói chung và ngành thủy sản nói riêng.

Căn cứ vào kết quả đánh giá mô học, rút ra kết luận:

Màng sinh học collagen có tác dụng hỗ trợ điều trị bỏng tốt. Sản phẩm này khả thi về mặt chất lượng.

PGS.TS. Trần Minh Tâm
Trưởng khoa Công nghệ Sinh học,
KS. Phạm Nguyễn Duy Bình

Đồng tác giả bài viết, KS. Phạm Nguyễn Duy Bình (cựu sinh viên khóa 14, ngành Công nghệ Sinh học, trường ĐH Văn Lang), là 1 trong 100 gương mặt trẻ được chọn tham gia Hội trại Khởi nghiệp (25 – 31/8/2012) do mạng lưới Khởi nghiệp trẻ Việt Nam – VYE tổ chức. Ý tưởng chế tạo da nhân tạo thay thế da người bị bỏng của KS. Phạm Nguyễn Duy Bình đã đạt giải nhất trong Hội trại (trong tổng số 24 ý tưởng tham gia).

(<http://tuoitre.vn>)