Vietnam Journal of Catalysis and Adsorption
Tạp chí xúc tác và hấp phụ Việt Nam

https://jca.edu.vn

Nghiên cứu chiết xuất hydroxyapatite từ xương cá rô phi (*Oreochromis niloticus*)

Study on the extraction of hydroxyapatite from tilapia bones (*Oreochromis niloticus*)

Bạch Thị Linh[1], Nguyễn Tiến Hoàng[1], Lê Hải Đăng[2], Vũ Viết Doanh[1,*]

[1] *Khoa Dược, Trường Đại học Kinh doanh và Công nghệ Hà Nội, 29A ngõ 124, Vĩnh Tuy, Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam*
[2] *Khoa Hoá học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 136 Xuân Thuỷ, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*
** Email: vuvietdoanh.hnue@gmail.com*

ARTICLE INFO

Received: 12/06/2025
Accepted: 20/08/2025
Published: 30/09/2025

Keywords:
Hydroxyapatite (HAp);
Potentiometric titration;
Oreochromis niloticus;
Tilapia bones.

ABSTRACT

In this study, hydroxyapatite (HAp) was successfully extracted from tilapia bones (Oreochromis niloticus). X-ray diffraction (XRD) analysis revealed characteristic peaks corresponding to HAp, indicating high phase purity. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) confirmed the presence of phosphate (PO_4^{3-}), hydroxyl (OH^-), and carbonate (CO_3^{2-}) groups. A notable reduction in absorption bands related to organic matter and carbonate groups was observed following calcination at 700 °C for 3 hours. Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) identified calcium (Ca), phosphorus (P), oxygen (O), and carbon (C), with a Ca/P molar ratio of approximately 1.80, which is indicative of type B HAp. Scanning electron microscope (SEM) images show that the sample after calcination has a porous structure and agglomerated particles. Furthermore, potentiometric titration determined the calcium content to be 36.24%. These findings demonstrate that tilapia bone is an inexpensive, eco-friendly, and viable raw material for the production of hydroxyapatite, with potential applications in biomedical and nutraceutical fields.

Giới thiệu chung

Calcium (Ca) là một nguyên tố khoáng thiết yếu đối với sự phát triển và duy trì sức khỏe con người [1,2]. Trong cơ thể, calcium tồn tại chủ yếu dưới dạng khoáng chất hydroxyapatite ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) có mặt trong xương và răng. Một phần nhỏ calcium tham gia vào các quá trình chuyển hóa như co cơ, dẫn truyền xung thần kinh, vận chuyển ion qua màng tế bào, hoạt hóa enzyme và điều hòa nội tiết tố.

Trên thực tế, calcium được hấp thu từ các nguồn thực phẩm thông qua chế độ ăn uống, cách thức này an toàn, dễ thực hiện và ít gây tác dụng phụ [2]. Bên cạnh đó, trong những trường hợp cơ thể thiếu hụt calcium nghiêm trọng hoặc do nguyên nhân bệnh lý, các chế phẩm hoặc thuốc chứa calcium carbonate, calcium chloride, calcium gluconate, calcium glycerophosphate, calcium citrate, hydroxyapatite thường được sử dụng [3]. Trong đó, hydroxyapatite (kí hiệu là HAp) được đánh giá cao trong lĩnh vực y sinh do khả năng tương thích sinh học, độ bền hóa học cao, có thể giải phóng ion calcium và phosphate theo nhu cầu cơ thể, giúp tăng hiệu quả trong việc bổ sung khoáng chất và phục hồi mô xương bị tổn thương [4].

Cho đến nay, các phương pháp phổ biến được sử dụng để tổng hợp HAp bao gồm kết tủa, sol-gel, thủy nhiệt và chiết xuất từ nguồn tự nhiên [5,6]. Trong đó, chiết xuất HAp từ xương của các loài cá nhận được

https://doi.org/10.62239/jca.2025.051

quan tâm lớn vì nguồn nguyên liệu dồi dào từ ngành thủy hải sản và chi phí chiết xuất thấp [7]. Tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu chiết xuất HAp cá được thực hiện, sử dụng xương từ các loài như cá mú [6], cá tra [8], cá ngừ [9], cá chẽm [10], cá rô phi [11]. Tuy nhiên, theo tìm hiểu của chúng tôi, hầu hết các nghiên cứu vẫn đang dừng ở quy mô phòng thí nghiệm.

Tại Việt Nam, cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) đã được đưa vào quy hoạch phát triển nuôi từ năm 2016 [12], và xác định là một trong những đối tượng nuôi chủ lực trong chương trình Quốc gia phát triển nuôi trồng thủy sản giai đoạn 2021-2030 [13]. Do vậy, việc tiến hành thực hiện nghiên cứu chiết xuất HAp từ nguồn phụ phẩm xương cá rô phi không chỉ góp phần nâng cao giá trị sử dụng, giảm thiểu lãng phí mà còn thúc đẩy mô hình kinh tế tuần hoàn trong ngành thủy sản.

Trong nghiên cứu này, HAp được chiết xuất từ xương cá rô phi thông qua quy trình hai bước gồm xử lý kiềm và nung ủ ở nhiệt độ cao. Kết quả thu được từ các phép đo là cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo về ứng dụng HAp trong lĩnh vực y sinh và thực phẩm bổ sung calcium.

Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

Hóa chất

Các hoá chất gốc dùng trong nghiên cứu gồm: Sodium hydroxide (dung dịch chuẩn NaOH 1,0 N, Merck - Đức); nitric acid (HNO_3 68%, Xilong - Trung Quốc); disodium ethylenediaminetetraacetate (dung dịch chuẩn Na_2EDTA 0,01 M, Merck - Đức); amoniac (NH_4OH 25-28%, Xilong - Trung Quốc); ammonium chloride (NH_4Cl 99,5%, Xilong - Trung Quốc).

Chiết xuất HAp

Quy trình chiết xuất HAp từ xương cá rô phi được thực hiện như trong Hình 1, trên cơ sở áp dụng quy trình hai bước gồm xử lý kiềm và nung ủ ở nhiệt độ cao [5,8,14]. Các thông số thực nghiệm được lựa chọn dựa trên kết quả khảo sát sơ bộ nhằm thu được HAp có độ tinh khiết cao. Đầu tiên, cá rô phi sống được phi lê để thu lấy phần xương còn lẫn mô mềm (Hình 1a). Phần xương này sau đó được hầm trong nồi áp suất ở nhiệt độ cao trong 30 phút nhằm làm mềm mô và hỗ trợ tách bỏ phần thịt còn sót lại (Hình 1b). Sau quá trình hầm, xương được rửa sạch rồi cho vào cốc chứa dung dịch NaOH 0,1 M, đun sôi trên bếp điện trong khoảng 20 phút, sau đó gạn bỏ phần dung dịch. Quá trình xử lý kiềm được lặp lại nhiều lần cho đến khi dung dịch gạn trở nên trong suốt. Tiếp theo, mẫu được lọc và rửa bằng nước cất đến khi dịch lọc có pH trung tính, thu được phần chất rắn màu trắng (Hình 1c). Làm khô chất rắn bằng tủ sấy ở 100 °C trong 2 giờ thu mẫu bột "Không nung" (Hình 1d). Một phần của mẫu này tiếp tục được nung ủ ở nhiệt độ 700 °C trong 3 giờ, với tốc độ gia nhiệt 10 °C/phút (Hình 1e) để tinh thể hóa cấu trúc thu được bột HAp thu mẫu bột "Nung 700°C/3 giờ" có màu xám (Hình 1f).

Hình 1: Quy trình chiết xuất HAp từ xương cá rô phi

Xác định đặc trưng cấu trúc và thành phần

Hai mẫu trước và sau khi nung ủ được tiến hành phân tích đặc trưng về cấu trúc và tính chất. Cấu trúc tinh thể được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD), sử dụng thiết bị Bruker D8 Advance (Đức) với bức xạ Cu-K_α λ = 1,5406 Å. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) được đo bằng máy FTIR Nexus Spectrometer để xác định các nhóm chức đặc trưng trong cấu trúc. Thành phần, hàm lượng và phân bố nguyên tố trong mẫu được phân tích bằng phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX), sử dụng kính hiển vi để bàn Hitachi TM4000/TM4000Plus (Nhật Bản) tích hợp đầu dò EDX. Kính hiển vi điện tử quét phân giải cao (SEM) được sử dụng để quan sát hình thái mẫu vật liệu, thực hiện trên thiết bị SEM S-4800 (Nhật Bản).

Xác định hàm lượng Ca bằng phép chuẩn độ điện thế

Cân chính xác 200,1 mg mẫu đã được nung ở 700 °C trong 3 giờ cho vào bình định mức 100 mL, thêm tiếp 3 mL dung dịch HNO_3 2 M để hòa tan hoàn toàn mẫu. Thêm nước cất, định mức đến vạch và lắc đều để thu được dung dịch phân tích. Xác định hàm lượng Ca

https://doi.org/10.62239/jca.2025.051

được thực hiện bằng phương pháp chuẩn độ điện thế sử dụng máy Titrino 848 Plus (Metrohm, Thụy Sĩ) kết nối với điện cực chọn lọc ion Ca^{2+} (mã: 6.0502.150) và điện cực so sánh Ag/AgCl (mã: 6.0726.100). Dung dịch chuẩn là Na_2EDTA 0,02 M. Tiến hành chuẩn độ, lấy 10 mL dung dịch mẫu, thêm 10 mL dung dịch đệm NH_4Cl/NH_3 (pH = 10) vào cốc chuẩn độ để tạo môi trường tối ưu cho phản ứng tạo phức. Hai điện cực và burette sau đó được nhúng vào dung dịch. Quá trình chuẩn độ được tiến hành tự động, theo dõi sự thay đổi điện thế (mV) theo thể tích dung dịch chuẩn Na_2EDTA được thêm vào. Thể tích Na_2EDTA ứng với điểm tương đương được xác định tự động. Thực hiện chuẩn độ lặp lại 6 lần và tính giá trị thể tích trung bình (V_{Na_2EDTA}).

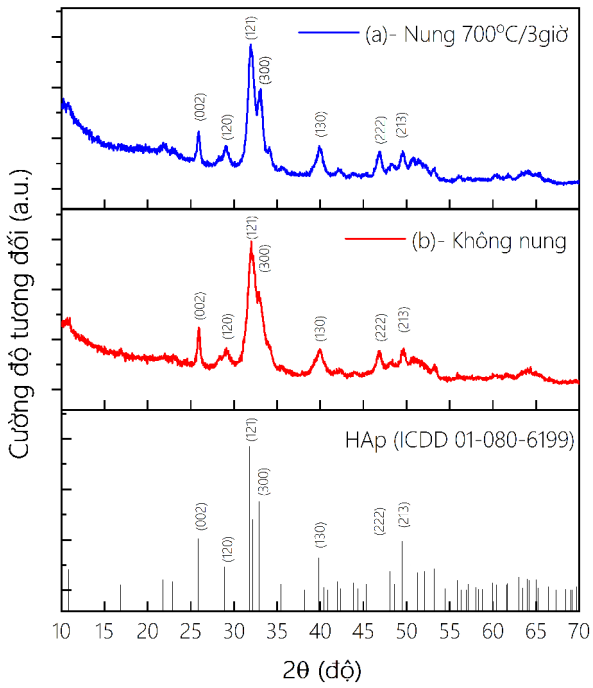
Hàm lượng Ca trong mẫu được tính theo công thức:

$$\%Ca = \frac{0,02.V_{Na_2EDTA}.40,078}{200,1}.\frac{100}{10}.100\% \qquad (1)$$

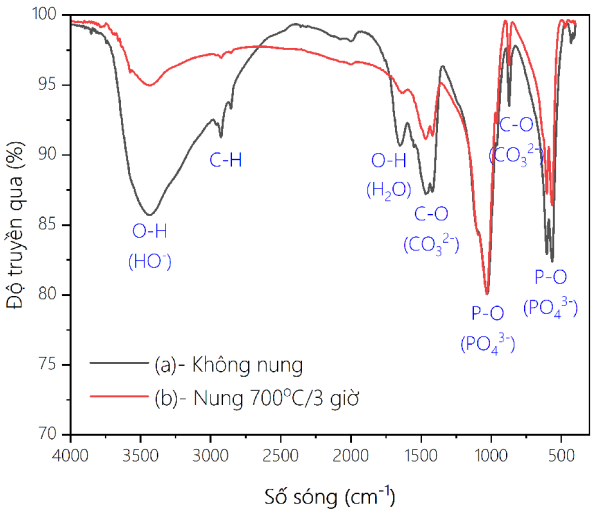
Kết quả và thảo luận

Kết quả từ giản đồ nhiễu xạ tia X ở Hình 2 cho thấy cả 2 mẫu xương cá rô phi trước và sau khi nung đều xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ tại các vị trí 2θ ≈ 25,8°; 29,0°; 32,0°; 33,1°; 39,9°; 46,8° và 49,5°, tương ứng với các mặt tinh thể (002), (120), (121), (300), (130), (222) và (213), phù hợp với dữ liệu chuẩn của HAp (ICDD 01-080-6199). Trong đó, mẫu nung ủ có độ rộng các chân peak nhiễu xạ nhỏ hơn và đỉnh nhiễu xạ ứng với họ mặt phẳng (300) rõ nét hơn. Ngoài ra, không quan sát thấy sự hiện diện rõ ràng của các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng cho cấu trúc tinh thể của CaO hay $Ca_3(PO_4)_2$ (β-TCP), cho thấy quá trình chiết xuất và xử lý nhiệt đã tạo ra vật liệu HAp với độ tinh khiết tương đối cao.

Hình 3 là kết quả phép đo phổ FTIR, có thể thấy cả hai mẫu đều có các dải hấp thụ đặc trưng cho cấu trúc hydroxyapatite (HAp). Các vân tại khoảng 570, 600 và 1030 cm^{-1} tương ứng với dao động uốn và dao động kéo giãn của nhóm phosphate (PO_4^{3-}), là nhóm đặc trưng trong mạng tinh thể của HAp [11]. Các vân tại 1420, 1460 và 870 cm^{-1} gán cho dao động của nhóm carbonate (CO_3^{2-}) [15]. Sau khi nung, độ hấp thụ các dải này giảm đáng kể do sự phân hủy nhóm carbonate ở nhiệt độ cao. Vân tù ở khoảng 3440 cm^{-1} và vân tại 1650 cm^{-1} được gán cho dao động của nhóm hydroxyl (OH^-) và nước hấp phụ (H_2O) [16]. Sau khi nung ủ, độ hấp thụ của các vân này giảm, phù hợp với quá bay hơi của nước và mất nhóm OH^- trên bề mặt vật liệu. Đáng chú ý, vân tại 2850 và 2930 cm^{-1} đặc trưng cho liên kết C–H xuất hiện rõ ở mẫu không nung nhưng gần như biến mất sau nung, thể hiện các chất hữu cơ như collagen, lipid đã bị phân hủy và/hoặc bay hơi dưới tác dụng của nhiệt [17]. Như vậy quá trình nung ủ tại 700°C trong 3 giờ đã làm tăng mức độ kết tinh của HAp và góp phần loại bỏ các thành phần không mong muốn như nước, nhóm OH^-, CO_3^{2-} và tạp chất hữu cơ.



Hình 2: Giản đồ XRD của không nung (a) và nung 700°C/3 giờ (b), đối chiếu với thẻ chuẩn của HAp.

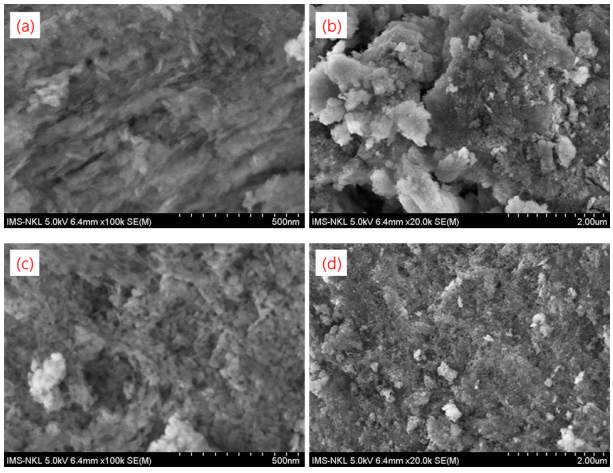


Hình 3: Phổ FTIR của mẫu không nung (a) và nung 700°C/3 giờ (b).

Hình 4 là ảnh hình thái bề mặt của hai mẫu vật liệu trước và sau khi nung ở 700°C trong 3 giờ. Mẫu không nung có cấu trúc lớp xếp chồng (Hình 4a), phân bố kích cỡ không đồng đều (Hình 4b), có thể do ảnh hưởng của sự có mặt của colagen và chất hữu cơ trong mẫu.

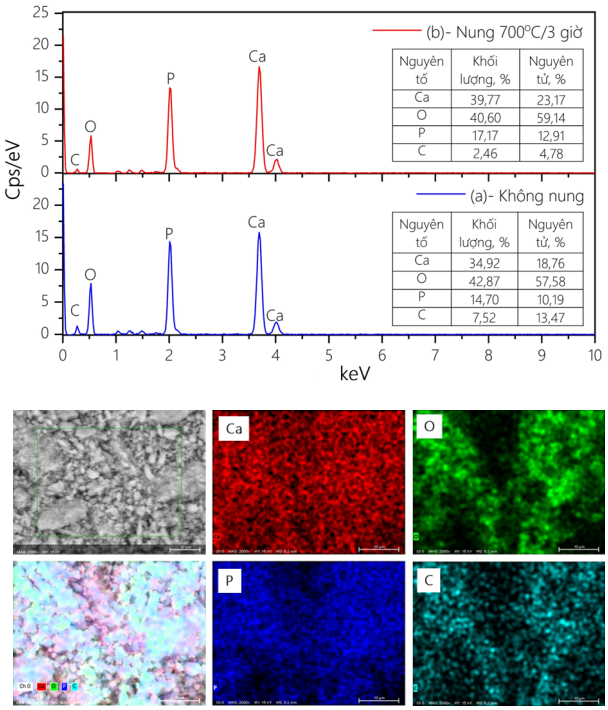
https://doi.org/10.62239/jca.2025.051

Sau khi nung, hình thái bề mặt thay đổi rõ rệt, cấu trúc xốp, các hạt tương đối đồng đều nhưng kết tụ lại (Hình 4c, 4d). Nhìn chung, quá trình nung giúp ổn định cấu trúc và tăng chất lượng tinh thể HAp. Sự thay đổi hình thái này có thể hỗ trợ cải thiện khả năng giải phóng và hấp thu calcium, phù hợp với mục tiêu ứng dụng HAp làm trong thực phẩm bổ sung calcium.



Hình 4: Ảnh SEM của mẫu không nung (a, b) và nung 700°C/3 giờ (c, d).

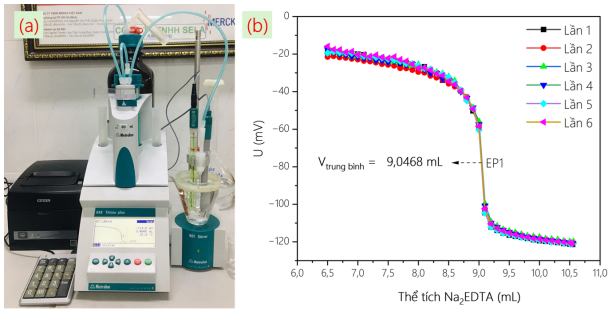
Thành phần nguyên tố của hai mẫu không nung và nung ở 700°C trong 3 giờ xác định bằng phổ EDX được thể hiện ở Hình 5.



Hình 5: Phổ EDX của mẫu không nung (a), nung 700°C/3 giờ (b) và ảnh SEM-Mapping mẫu nung 700°C/3 giờ.

Tỷ lệ nguyên tử Ca/P của mẫu không nung là 1,84 và giảm xuống 1,80 sau khi nung, hai giá trị này đều cao hơn tỷ lệ lý tưởng 1,67 của HAp chuẩn và trong xương người. Điều này một phần là do sự tồn tại của ion CO_3^{2-} thay thế một phần vị trí PO_4^{3-} trong cấu trúc tinh thể tạo thành HAp loại B. Hàm lượng nguyên tử C giảm từ 13,47% ở mẫu không nung xuống 4,78% ở mẫu nung 700°C/3 giờ là do sự phân hủy nhóm CO_3^{2-} và các thành phần hữu cơ trong quá trình nung. Bên cạnh đó, ảnh SEM-Mapping của mẫu nung ở 700°C/3 giờ cũng cho thấy sự hiện diện đồng đều của các nguyên tố Ca, P và O và nguyên tố C có nguồn gốc từ nhóm CO_3^{2-}. Nhìn chung, kết quả từ phổ EDX và ảnh SEM-Mapping phù hợp với kết quả từ phổ FTIR và tương đồng với một số nghiên cứu về HAp sinh học chiết xuất từ xương cá [18,19].

Hàm lượng Ca trong mẫu nung ở 700 °C trong 3 giờ được xác định bằng phương pháp chuẩn độ điện thế (Hình 6). Mẫu vật liệu tan hoàn toàn trong HNO_3 cho thấy sự giải phóng tốt Ca^{2+} trong môi trường acid. Thể tích dung dịch chuẩn Na_2EDTA 0,02 M cần để phản ứng với vừa đủ với Ca^{2+} trung bình sau 6 lần đo là 9,0468 mL, tương ứng với hàm lượng Ca trong mẫu tính theo công thức (1) là 36,24%. Giá trị này thấp hơn so với kết quả thu được từ phổ EDX, nhưng lại khá gần với hàm lượng lý thuyết của hydroxyapatite (khoảng 39,9%). Sự sai khác giữa hai phương pháp có thể một phần do độ chính xác kém của phép đo phổ EDX khi phân tích các nguyên tố nhẹ như C và O.



Hình 6: Máy chuẩn độ điện thế Titrino 848 plus (a) và đường cong chuẩn độ xác định hàm lượng Ca^{2+} trong mẫu nung 700°C/3 giờ bằng dung dịch chuẩn Na_2EDTA (b).

Kết luận

HAp đã được chiết xuất thành công từ xương cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) thông qua các bước làm sạch, xử lý kiềm và nung nhiệt. Kết quả phép đo đặc trưng cấu trúc, thành phần xác nhận sau quá trình xử lý ở nhiệt độ cao vật liệu thu được có cấu trúc HAp loại B

https://doi.org/10.62239/jca.2025.051

với sự thay thế một phần nhóm PO_4^{3-} bởi CO_3^{2-}, tỷ lệ nguyên tử Ca/P là 1,80. Ảnh SEM cho thấy vật liệu có cấu trúc xốp đặc trưng của HAp có nguồn gốc sinh học, với sự thay đổi hình thái rõ rệt sau khi nung ủ. Ngoài ra, kết quả hòa tan bằng HNO_3 và phép chuẩn độ điện thế cho thấy khả năng giải phóng ion Ca^{2+} của HAp trong môi trường acid và hàm lượng Ca^{2+} gần với giá trị lý thuyết.

Phần xác định hàm lượng ion kim loại nặng (As, Pb, Hg,...), cùng với đánh giá an toàn sinh học của vật liệu HAp đã chiết xuất, bao gồm độc tính tế bào và khả năng tương thích sinh học sẽ được tiến hành trong các nghiên cứu tiếp theo nhằm làm rõ hơn khả năng ứng dụng trong sản xuất thực phẩm bổ sung calcium.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Kinh doanh và Công nghệ Hà Nội thông qua Đề tài Nghiên cứu Khoa học của Sinh viên, quyết định số 3065/QĐ-BGH, 10/06/2025.

Tài liệu tham khảo

1. J. Shlisky, R. Mandlik, S. Askari, S. Abrams, J. M. Belizan, M. W. Bourassa, G. Cormick, A. Driller-Colangelo, F. Gomes, A. Khadilkar, Ann. N. Y. Acad. Sci., 1512 (2022) 10–28. https://doi.org/10.1111/nyas.14758
2. K. C. Flowers, K. E. Shipman, A. R. Shipman, N. J. Gittoes, J. Lab. Precis. Med., 9 (2024) 1–18. https://doi.org/10.21037/jlpm-24-6
3. D. A. Straub, Nutr. Clin. Pract., 22 (2007) 286–296. https://doi.org/10.1177/0115426507022003286
4. L. C. Palmer, C. J. Newcomb, S. R. Kaltz, E. D. Spoerke, S. I. Stupp, Chem. Rev., 108 (2008) 4754–4783. https://doi.org/10.1021/cr8004422
5. S. Sathiyavimal, S. Vasantharaj, F. LewisOscar, R. Selvaraj, K. Brindhadevi, A. Pugazhendhi, Prog. Org. Coat., 147 (2020) 105858. https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.105858
6. P. V. Nam, N. Van Hoa, T. S. Trung, Ceram. Int., 45 (2019) 20141–20147. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.06.280
7. Z. Seikh, B. De, D. Ghosh, S. Saha, S. Bera, G. Mandal, A. Sinha, J. Inst. Eng. India Ser. D, (2024) 1–9. https://doi.org/10.1007/s40033-024-00778-6
8. H. Q. Phong, N. V. Nhã, P. Đ. Khôi, Y. Takagi, T. M. Phú, H. L. Hương, L. T. M. Thủy, N. T. B. Thuyền, Can Tho Univ. J. Sci., 56 (2020) 199–211. https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.056
9. N. Trí, N. T. M. Phương, N. T. T. Vân, N. P. Anh, D. H. T. Linh, N. T. H. Nơ, P. H. Phương, Đ. V. H. Thiện, H. K. P. Hạ, Can Tho Univ. J. Sci., 57 (2021) 9–17. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.109
10. L. H. K. Hy, D. V. Ha, P. X. Ky, N. P. Anh, P. B. Vy, D. T. Thiet, Am. J. Chem. Biochem. Eng., 5 (2021) 32–40. https://doi.org/10.11648/j.ajcbe.20210501.15
11. N. T. Chinh, V. Q. Manh, V. Q. Trung, T. D. M. Trang, T. Hoang, Vietnam J. Chem., 57 (2019) 225–228. https://doi.org/10.1002/vjch.201900021
12. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, Quyết định số 1639/QĐ-BNN-TCTS (2016).
13. Chính phủ, Quyết định số 985/QĐ-TTg (2022).
14. L. H. K. Hỷ, Đ. V. Hà, P. X. Kỳ, N. P. Anh, Đ. T. Thiết, P. B. Vy, J. Mar. Sci. Technol., 20 (2020) 173–186. https://doi.org/10.15625/1859-3097/15659
15. S. K. Dermawan, Z. M. M. Ismail, M. Z. Jaffri, H. Z. Abdullah, J. Phys.: Conf. Ser., 2169 (2022) 012034. https://doi.org/10.1088/1742-6596/2169/1/012034
16. A. Espinosa-Duque, M. Palencia, M. A. Mora, J. Sci. Technol. Appl., 21 (2024) 1–6. https://doi.org/10.34294/j.jsta.26.21.122
17. A. Fara, G. Pragash, H. Z. Abdullah, Adv. Mater. Res., 1125 (2015) 474–478. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1125.474
18. A. Fara, H. Abdullah, AIP Conf. Proc., 1669 (2015) 012034. https://doi.org/10.1063/1.4919215
19. M. S. F. Hussin, H. Z. Abdullah, M. I. Idris, M. A. A. Wahap, Heliyon, 8 (2022) e10356. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10356