195876

นันทพร อัคนิจ 2550: การสกัดคอลลาเจนจากหนังปลาสีกูดและลักษณะบางประการของคอลลาเจนที่สกัดได้ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร, Ph.D. 76 หน้า

การสกัดคอลลาเจนจากหนังปลาสีกูดสด โดยใช้กรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5 M ร่วมกับเอนไซม์เปปซินความเข้มข้น 0.1% (w/v) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส แล้วตกตะกอนแยกคอลลาเจนโดยปรับสารละลายให้มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.9 M โดยทำการสกัดที่สัดส่วนหนังต่อกรด (กรัมต่อมิลลิลิตร) 1:10 1:15 1:20 และ 1:25 พบว่าเมื่อสัดส่วนของกรดเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณผลได้ของคอลลาเจน (Yield) ลดลง จึงเลือกใช้สัดส่วน 1:10 ในการสกัดคอลลาเจนที่อุณหภูมิต่าง ๆ (4 10 20 และ 28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณผลได้มากที่สุด คือ 439.32 มิลลิกรัมต่อกรัมหนังปลาสดที่หักลบความชื้น จากการศึกษาหน่วยย่อยของคอลลาเจนโดยการทำอิเลคโทรโฟริซิสแบบ SDS-PAGE พบว่าคอลลาเจนที่สกัดได้เป็นคอลลาเจน type I ซึ่งประกอบไปด้วยสาย β $\alpha 1$ และ $\alpha 2$ การสกัดคอลลาเจนที่อุณหภูมิสูง (20 และ 28 องศาเซลเซียส) จะได้เปปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเนื่องจากเกิดการย่อยหนังปลาโดยกรดและเอนไซม์อย่างรวดเร็ว จึงไม่สามารถตกตะกอนด้วยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.9 M ทำให้ปริมาณผลได้ต่ำ คอลลาเจนที่สกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอุณหภูมิในการเสียสภาพเท่ากับ 39.5 องศาเซลเซียส ซึ่งสูงกว่าคอลลาเจนที่สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ที่มีอุณหภูมิในการเสียสภาพเท่ากับ 37.5 องศาเซลเซียส ส่วนคอลลาเจนที่สกัดที่อุณหภูมิ 20 และ 28 องศาเซลเซียส ไม่สามารถวัดอุณหภูมิในการเสียสภาพได้เนื่องจากประกอบด้วยเปปไทด์โมเลกุลขนาดเล็กจำนวนมาก จากการศึกษาการจับตัวกันของคอลลาเจน พบว่า คอลลาเจนที่สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีอัตราเร็วในการจับตัวกันสูงที่สุด ศึกษาโครงสร้างของคอลลาเจนเมตริกซ์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ confocal laser scanning microscope พบว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยคอลลาเจนที่สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีขนาดเท่ากับ 0.5 ไมโครเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าคอลลาเจนที่สกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เส้นผ่าศูนย์กลาง เท่ากับ 0.41 ไมโครเมตร) เมื่อเวลาในการปล่อยให้เกิดการจับตัวเท่ากัน (4 ชั่วโมง) เส้นใยคอลลาเจนจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการจับตัวกัน

195876

Nuntaporn Aukkanit 2007: Collagen Extraction from Silver-line Grunt Skin and Some Characteristics of Extracted Collagen. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Associate Professor Wunwiboon Garnjanagoonchon, Ph.D. 76 pages.

Collagen extraction from fresh silver-line grunt skin was carried out by using 0.5 M acetic acid combined with pepsin at a concentration of 0.1% (w/v) for 6 hours at 28°C. Collagen was precipitated by adjusting NaCl in the solution to a concentration of 0.9 M. The ratios of skin to acetic acid (g/ml) were tested at 1:10, 1:15, 1:20 and 1:25. The results showed that the yield of collagen decreased as ratio of skin to acid increased. Therefore, the ratio 1:10 was used for collagen extraction at different temperatures (4, 10, 20 and 28°C) for 6 hours. The extraction at 10°C with acid ratio at 1:10 gave the highest yield (439.32 mg/ g skin dry basis). The SDS-PAGE pattern of extracted collagen was type I collagen which comprised β $\alpha 1$ $\alpha 2$ chains. Extraction of fish skin at high temperatures (20 and 28°C) resulted in the formation of low molecular weight peptide fragments due to the rapid rate of acid and pepsin digestion which cannot be precipitated by 0.9M NaCl and gave a low yield of extracted collagen. The denaturation temperature of extracted collagen at 4°C is 39.5°C which is higher than that extracted at 10°C which the denaturation temperature is 37.5°C. The denaturation temperature of extracted collagen at 20 and 28°C could not be detected due to its high composition of low molecular weight peptide fragments. The study of collagen self-assembly showed that collagen extracted at 10°C gave the highest rate of collagen self-assembly. Examination of the structure of reconstructed collagen by confocal laser scanning microscope indicated that the fibril diameter of extracted collagen at 10°C is 0.5 μm which is larger than that extracted at 4°C (fibril diameter is 0.41 μm) within the same incubation time of collagen self-assembly (4 hours). The fibrils had a larger diameter when increase incubation time.