ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดและการจำแนกคุณสมบัติของคอลลาเจนและเจลาตินจากหนังและกระดูกปลาตาหวาน

ผู้เขียน นายพณัฐ กิตติพัฒนบวร

สาขาวิชา เทคโนโลยีอาหาร

ปีการศึกษา 2546

บทคัดย่อ

จากการศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติของคอลลาเจนที่ละลายในกรดจากหนังและกระดูกปลาตาหวาน พบว่าการสกัดคอลลาเจนจากหนังและกระดูกให้ผลผลิตร้อยละ 10.94 และ 1.59 ของน้ำหนักเปียก ตามลำดับ คอลลาเจนจากหนังและกระดูกประกอบด้วยเถ้าและไขมันปริมาณน้อย โดยมีไกลซีนเป็นกรดอะมิโนหลัก นอกจากนี้ประกอบด้วยอะลานีน โพรลีน กรดกลูตามิก และไฮดรอกซีโพรลีนปริมาณสูง จากการศึกษารูปแบบของโปรตีนโดยใช้เทคนิคอิเลกโตรโฟลิซิส พบว่าคอลลาเจนจากหนังและกระดูกมีรูปแบบของโปรตีนไม่แตกต่างกัน โดยประกอบด้วยแถบโปรตีน $\alpha 1$ และ $\alpha 2$ และสามารถจำแนกเป็นคอลลาเจนชนิด type I อย่างไรก็ตามรูปแบบของโปรตีนของคอลลาเจนจากหนังและกระดูกซึ่งถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส V8 และไลซิลเอนโดเปปติเดสมีความแตกต่างกันเล็กน้อย แต่แตกต่างกับคอลลาเจนจากหนังลูกวัวอย่างชัดเจน คอลลาเจนแห้งที่แช่ในกรดอะซิติกมีค่า T_{max} และเอนธัลปีลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับคอลลาเจนแห้งที่แช่ในน้ำกลั่น โดยกรดอาจมีผลให้ คอลลาเจนเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และจากการศึกษาผลของพีเอชและโซเดียมคลอไรด์ต่อการละลายของคอลลาเจน พบว่าคอลลาเจนจากหนังและกระดูกมีการละลายสูงสุดที่ พีเอช 2 และ 5 ตามลำดับ และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของการละลายที่ระดับความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์น้อยกว่าร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แต่อย่างไรก็ตามการละลายลดลงอย่างมากเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงกว่าร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

การสกัดเจลาตินจากหนังและกระดูก สามารถกระทำได้โดยการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนในหนังและกระดูกโดยแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.025 นอร์มอล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง ทำการกำจัดแร่ธาตุในกระดูกที่ผ่านการกำจัดโปรตีนโดยการแช่ในสารละลายกรดซิตริกเข้มข้น 1.2 โมลาร์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 4 ครั้ง หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.6 โมลาร์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง หลังจากนั้นทำให้หนังและกระดูกบวมโดยการแช่ในสารละลายกรดซิตริก หรือกรดอะซิติกเข้มข้น 0.05

ถึง 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 40 นาที จำนวน 3 ครั้ง ก่อนทำการสกัดเจลาตินจากหนังและกระดูก โดยการแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยให้ผลผลิตร้อยละ 6.29 ถึง 7.76 และร้อยละ 1.19 ถึง 2.25 ของน้ำหนักเปียก สำหรับเจลาตินจากหนัง และกระดูก ตามลำดับ และเมื่อตรวจสอบความแข็งแรงของเจลของเจลาตินจากหนัง พบว่าการทำให้หนังบวมด้วยการแช่ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ก่อนการสกัดเจลาติน ให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุด

เจลาตินจากหนังประกอบด้วยโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก และมีไขมันปริมาณน้อย แต่มีเถ้าในปริมาณสูง (ร้อยละ 5.98) เมื่อศึกษารูปแบบของโปรตีน พบว่าเจลาตินและ คอลลาเจนจากหนังมีรูปแบบโปรตีนแตกต่างกันเล็กน้อย ความแข็งแรงของเจล และค่าความสว่างของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น เจลาตินมีการละลายสูงสุดและต่ำสุดที่พีเอช 3 และ 8 ตามลำดับ คุณสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และการเกิดฟองของเจลาตินเพิ่มขึ้น เมื่อความ เข้มข้นของเจลาตินเพิ่มขึ้น เจลาตินมีกิจกรรมการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ต่ำกว่าแต่ให้ความคงตัวของอิมัลชันสูงกว่าไข่ขาว โดยทั่วไปคุณสมบัติการเกิดฟองของเจลตินใกล้เคียงกับไข่ขาว

เอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 0.005 ถึง 0.25 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สามารถเพิ่มความแข็งแรงเจลของเจลาตินจากหนังอย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.01 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ความแข็งแรงของเจลสูงสุด อย่างไรก็ตามการใช้แมกนีเซียมซัลเฟตมีผลลดความแข็งแรงของเจลโดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น

การใช้เอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ร้อยละ 0.01 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และบ่มเป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องให้ความแข็งแรงของเจลสูงสุด จากการศึกษาโดยใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟลิซิส พบว่าสายโซ่แกมมามีความว่องไวต่อการเชื่อมประสานที่เหนี่ยวนำด้วยเอนไซม์ทรานส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์ เมื่อเปรียบเทียบกับสายโซ่เบต้า และแอลฟา

Thesis Title	Extraction and Characterization of Collagen and Gelatin from Bigeye Snapper (*Priacanthus tayenus*) Skin and Bone
Author	Mr.Phanat Kittiphattanabawon
Major Program	Food Technology
Academic Year	2003

Abstract

Compositions and some properties of acid soluble collagens (ASC) from the skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) were investigated. Skin and bone collagens were extracted with the yields of 10.94 and 1.59 % on the basis of wet weight, respectively. Collagens from skin and bone contained the negligible amount of ash and fat. For amino acid composition, glycine constituted as the major amino acid. Collagens also consisted of high content of alanine, proline, glutamic acid and hydroxyproline. Similar electrophoretic patterns of skin and bone collagens were observed. Both collagens comprised two different α chains, $\alpha 1$ and $\alpha 2$ and classified to be type I collagen. However, peptide maps of bigeye snapper skin and bone collagens digested by V8 protease and lysyl endopeptidase revealed the differences between skin and bone collagen, in which both were completely different from

those of calf skin collagen. Collagen rehydrated in acetic acid had the lowered T_{max} and enthalpy, compared with those rehydrated in deionized water, suggesting the conformational change caused by acid. Skin and bone collagens had the highest solubility at pH 2 and 5, respectively. No changes in solubility were observed in presence of NaCl up to 3% (w/v). However, a sharp decrease in solubility was found with NaCl above 3% (w/v).

Gelaitn from bigeye snapper skin and bone was prepared by deproteinization in 0.025 N NaOH for 1 h with 2 repetitions. Only deproteinized bone was then subjected to demineralization with either 1.2 M citric acid for 4 h or 0.6 M HCl for 2 h. Swelling process was carried out by soaking the pretreated bone and skin in 0.05-0.2 M citric or acetic acid for 40 min with 3 repetitions. Gelatin was then extracted using hot water (45 °C) for 12 h. The yields of skin and bone gelatin were 6.29-7.76% and 1.19-2.25% (wet basis), respectively. The highest bloom strength of gelatin gel from skin was obtained when skins were swollen with 0.2 M acetic acid, prior to extraction.

Skin gelatin contained protein as the major component and low fat content. However, it consisted of high ash content (5.98%). Some differences in protein patterns between skin

gelatin and collagen were observed. Bloom strength of skin gelatin gel and L*-value of gelatin gel increased with increasing pHs. Highest and lowest solubility was observed at pH 3 and 8, respectively. Emulsifying and foaming properties of gelatin increased with increasing concentrations. Gelatin exhibited the lower emulsifying activity but greater emulsifying stability than egg white. Similar foaming properties were generally observed between skin gelatin and egg white.

MTGase with the concentration ranging from 0.005 to 0.25%(w/v) effectively increased the bloom strength of gelatin. Addition of 0.01%(w/v) MTGase resulted in the highest bloom strength. Conversely, $MgSO_4$ showed the detrimental effect on gelatin gel, especially, with increasing concentrations.

The highest bloom strength was observed with the addition of 0.01% (w/v) MTGase and incubation time of 2 h at room temperature. Electrophoresis study revealed that γ-component was more susceptible to cross-linking induced by MTGase, compared with β- and α-components.