

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาคุณลักษณะและสมบัติเชิงหน้าที่ของคอลลาเจนและเจลาตินจาก หนังปลาตาหวานและหนังปลากะพงข้างเหลือง
ผู้เขียน	นายเอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2548

### บทคัดย่อ

จากการสกัดและจำแนกคุณลักษณะของคอลลาเจนชนิดละลายในกรดและชนิดที่ละลายโดยใช้เอนไซม์เปปซินช่วยย่อยสลายจากหนังปลาตาหวานและหนังปลากะพงข้างเหลือง พบว่าคอลลาเจนทั้งสองชนิดในหนังปลาทั้งสองประกอบด้วยสายโซ่แอลฟาสองชนิดที่แตกต่างกัน คือ ชนิดแอลฟา 1 และชนิดแอลฟา 2 โดยสามารถจำแนกคอลลาเจนทั้งสองชนิดได้เป็นคอลลาเจนแบบที่ 1 ซึ่งไม่มีพันธะไดซัลไฟด์เป็นองค์ประกอบ การศึกษารูปแบบเปปไทด์ของคอลลาเจนซึ่งย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรตีเอสชนิดวี 8 และเอนไซม์ไลซิโลเอนโดเปปติเดส บ่งชี้ถึงความแตกต่างของลำดับกรดอะมิโนและลักษณะโครงสร้างของคอลลาเจนทั้งสองชนิดที่สกัดได้จากหนังปลาทั้งสอง การละลายของคอลลาเจนทั้งสองชนิดมีค่าสูงสุดในสภาวะที่เป็นกรด แต่การละลายลดลงในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์

เจลาตินที่สกัดได้จากหนังปลาตาหวานและหนังปลากะพงข้างเหลืองมีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนชนิดไฮดรอกซีโพรลีนเป็นองค์ประกอบในระดับสูง ค่าความแข็งแรงของเจลเจลาตินจากหนังปลากะพงข้างเหลืองสูงกว่าเจลเจลาตินจากหนังปลาตาหวาน เมื่อเติมเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.005 และร้อยละ 0.01 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) มีผลช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจลเจลาตินจากหนังปลาตาหวานและหนังปลากะพงข้างเหลืองตามลำดับ อย่างไรก็ตามความแข็งแรงของเจลเจลาตินลดลงเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส โดยเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนสสามารถเร่งให้เกิดการเชื่อมประสานของโปรตีน โดยเฉพาะโปรตีนองค์ประกอบชนิดเบตาและแกมมา

จากการศึกษาเตรียมฟิล์มบริโกลได้โดยใช้เจลาตินที่สกัดได้จากหนังปลาทั้งสองชนิดพบว่าปริมาณโปรตีนและกลีเซอรอลมีผลต่อสมบัติเชิงกลและการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม โดยฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาตาหวานมีสมบัติเชิงกลดีกว่าฟิล์มเจลาตินจากหนังปลากะพงข้างเหลืองที่ทุกระดับความเข้มข้นของกลีเซอรอล นอกจากนี้ฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาตาหวานประกอบด้วยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งเกิดจากการเชื่อมประสานอยู่น้อยกว่า แต่ประกอบ

ด้วยเปปไทด์ที่เกิดจากการย่อยสลายปริมาณสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเจลาตินผงที่ใช้เตรียมฟิล์ม และฟิล์มเจลาตินจากหนังปลากะพงข้างเหลือง โดยเอนไซม์โปรตีนเนสหรือคอลลาจีเนสชนิดเมทิลโลและชนิดซีรีนมีบทบาทต่อการย่อยสลายโปรตีนองค์ประกอบของเจลาตินจากหนังปลาทูหวาน อย่างไรก็ตามการเติมอีดีทีเอมีผลช่วยเพิ่มการทนต่อแรงดึงและระยะยืดดึงเมื่อขาดของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาทูหวาน

จากการศึกษาปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม โดยเติมพลาสติกไซเซออร์ชนิดไฮโดรฟิลิก และไฮโดรโฟบิก พบว่าชนิด (กลีเซอรอล เอทิลีนไกลคอล ซอร์บิทอล โพลีเอทิลีนไกลคอล 200 และ 400) และความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์มีผลต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาที่แตกต่างกัน เมื่อเติมพลาสติกไซเซออร์ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันพบว่าฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาทั้งสองชนิดที่เติมกลีเซอรอลมีระยะยืดดึงเมื่อขาดสูงสุด แต่ฟิล์มที่เติมเอทิลีนไกลคอลมีการทนต่อแรงดึงสูงสุด และเมื่อเติมพลาสติกไซเซออร์ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นพบว่าฟิล์มที่ได้มีความโปร่งใส ระยะยืดดึงเมื่อขาด การซึมผ่านไอน้ำและการส่องผ่านของแสงสูงขึ้น แต่มีการทนต่อแรงดึงและมีสีเหลืองลดลง นอกจากนี้การศึกษาคัดกรองไขมัน (กรดปาล์มมิติกและกรดสเตียริก) และซูโครสเอสเทอร์ของกรดไขมันมีผลต่อสมบัติของฟิล์ม โดยกรดไขมันมีผลลดการทนต่อแรงดึงของฟิล์ม แต่การเพิ่มปริมาณซูโครสเอสเทอร์ของกรดไขมันมีผลเพิ่มการทนต่อแรงดึงของฟิล์ม การเติมกรดไขมันและซูโครสเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ใช้ทดแทนกลีเซอรอลที่ระดับร้อยละ 25 มีผลให้ระยะยืดดึงเมื่อขาดของฟิล์มเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณของกรดไขมันและซูโครสเอสเทอร์ของกรดไขมันมีผลให้การซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มลดลง อย่างไรก็ตามฟิล์มที่เติมซูโครสเอสเทอร์ของกรดไขมันมีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและความโปร่งใสสูงกว่าฟิล์มที่เติมกรดไขมัน โดยความยาวสายของกรดไขมันและซูโครสเอสเทอร์ของกรดไขมันมีผลต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาแต่ละชนิดแตกต่างกัน

เมื่อเติมบีเอชทีและแอลฟาโทโคฟีรอลที่ระดับความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม ในสารละลายฟิล์มก่อนขึ้นรูป พบการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของเจลาตินกับสารต้านออกซิเดชันที่เติมในแผ่นฟิล์มเจลาตินเมื่อตรวจสอบจากเอฟทีไออาร์สเปกตรัม บีเอชทีและแอลฟาโทโคฟีรอลมีผลลดการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาทั้งสองชนิด แต่มีผลต่อความโปร่งใสของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาทั้งสองชนิดแตกต่างกัน ในระหว่างการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มมีการทนต่อแรงดึงและกิจกรรมการจับอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น แผ่นฟิล์มที่เติมและไม่เติมบีเอชทีหรือแอลฟาโทโคฟีรอลสามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษา

**Thesis Title** Characterization and Functional Properties of Collagen and Gelatin from Bigeye Snapper (*Priacanthus macracanthus*) and Brownstripe Red Snapper (*Lutjanus vitta*) Skins

**Author** Mr. Akkasit Jongjareonrak

**Major Program** Food Technology

**Academic Year** 2005

### ABSTRACT

Acid-solubilized collagen (ASC) and pepsin-solubilized collagen (PSC) were successfully isolated from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*) and brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). Both ASC and PSC from the skin of both species comprised two different  $\alpha$  chains ( $\alpha 1$  and  $\alpha 2$ ) and were characterized to be type I with no disulfide bond. The study on peptide mapping using V8 protease and lysyl endopeptidase suggests the differences in amino acid sequences and collagen conformation between ASC and PSC from both species. Solubility of ASC and PSC from bigeye snapper and brownstripe red snapper skin was maximized in the acidic pH range, but decreased in the presence of NaCl.

Both skin gelatins having high protein and high hydroxyproline content were extracted. The bloom strength of gelatin gel from brownstripe red snapper skin gelatin was greater than that of bigeye snapper skin gelatin ( $P < 0.05$ ). The addition of microbial transglutaminase (MTGase) at concentrations up to 0.005% and 0.01% (w/v) increased the bloom strength of gelatin gel from bigeye snapper and brownstripe red snapper, respectively ( $P < 0.05$ ). However, the bloom strength decreased with further increase in MTGase concentration. MTGase induced the cross-linking of protein components, especially,  $\beta$ - and  $\gamma$ - components.

Edible films were successfully prepared from fish skin gelatin of both species. Both protein and glycerol contents affected the mechanical properties and water vapor permeability (WVP) of resulting gelatin based film. Films prepared from bigeye snapper skin gelatin exhibited the lower mechanical properties than those of brownstripe red snapper at any glycerol concentrations used. The former films contained the lower content of high-molecular-weight cross-links with the concomitant increased degradation peptides, compared with gelatin powder and the latter films. Metallo- and serine-

proteinase/collagenase actively involved in protein hydrolysis in bigeye snapper skin gelatin. Nevertheless, addition of EDTA increased TS and EAB of gelatin film from this species.

Plasticizers, both hydrophilic and hydrophobic, were added into the gelatin based films. Types (glycerol, ethylene glycol, sorbitol, polyethylene glycol 200 and 400) and concentrations of plasticizers affected the properties of fish skin gelatin based films differently. At the same plasticizer concentration, fish skin gelatin films from both species plasticized with glycerol (Gly) showed the greatest EAB ( $P < 0.05$ ), whereas ethylene glycol (EG) plasticized films had the highest TS ( $P < 0.05$ ). Films generally became more transparent and EAB, WVP as well as light transmission of films increased, but TS and yellowness decreased with increasing plasticizer concentrations. Furthermore, the addition of fatty acids (FA) (palmitic acid and stearic acid) and their sucrose esters (FASE) influenced the properties of fish skin gelatin films. TS of films generally decreased with the addition of FA ( $P < 0.05$ ), while gradually increased with increasing FASE amount ( $P < 0.05$ ). Marked increase in EAB was observed when either FA or FASE at a level of 25% substitution was incorporated. WVP of films generally decreased with increasing amount of FA or FASE ( $P < 0.05$ ). However, films containing FASE exhibited the superior WVP barrier property to those added with FA. Films added with FASE were generally more transparent than those with FA. Chain length of FA or FASE affected the properties of films differently, depending upon gelatin sources.

Fish skin gelatin films incorporated with BHT or  $\alpha$ -tocopherol at a level of 200 ppm were prepared. FTIR spectra of films suggest some interaction occurred between gelatin molecules and the antioxidants added. Both BHT and  $\alpha$ -tocopherol decreased WVP of resulting film from skin gelatin of both species ( $P < 0.05$ ) but affected the transparency differently, depending upon gelatin source. All films had the increase in TS and DPPH radical scavenging activity during storage ( $P < 0.05$ ). Films without and with BHT or  $\alpha$ -tocopherol incorporated showed the preventive effect on lard oxidation.