

เป็นหนังสือภาษาอังกฤษ



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การแยกสกัดและการจำแนกลักษณะของคอลลาเจนจากเท้าไก่

Extraction and Characterization of Collagen from Chicken Feet

โดย ดร. มณี วิทยานนท์

กุมภาพันธ์ 2551

Abstract

Project Code: TRG4580012

Project Title: Extraction and Characterization of Collagen from Chicken Feet

Investigator: Manee Vittayanont, Ph.D. Prince of Songkla University

E-mail Address: manee.v@psu.ac.th

Project Period: 1 Year

This work aimed at the isolation methods and some important properties of collagen from chicken feet. The information gained is expected to be useful for further production and application of collagen and gelatin products from chicken feet. The experiment comprises of 3 main parts (1) Separation of non-collagenous proteins and fat. (2) Collagen extraction by acid solubilization, pepsin solubilization and a combination of acid solubilization with alkaline or protease enzyme pre-treatment, and (3) Characterization of the acid solubilized collagen from whole ground chicken feet, and from tendon and skin components.

When compared to the starting material, collagen content in the washed and de-fated sample increased by 4 times while moisture and fat content were reduced 3.4 and 35.5 times, respectively. A 30% collagen remained in residue after soaking in acetic acid (HOAc) at 4°C for 7 weeks indicating a high content of insoluble fraction of collagen in chicken feet. The collagen extraction was more efficient by increasing HOAc concentration. Extraction using > 0.75M HOAc or for longer than 5 weeks altered collagen molecules. Only 1.3% lyophilized weight of ASC was obtained, while 11.4% PSC was obtained from chicken feet suggesting that PSC was a major fraction of chicken feet collagen. Use of alkaline and protease enzyme pre-treatments increased ASC yield by 2.5 and 9 times, respectively. ASC appeared to be major part of the skin collagen (2.8 times to PSC) while PSC constituted at 1.4 times to ASC in the tendon.

Effects of pre-treatment, extraction medium and collagen source: skin, tendon and whole foot, on sub-unit pattern, thermal transition, amino acid composition and rheological properties of the extracted collagen were studied. SDS-PAGE indicated that type I was the

major component of all collagen samples. A slightly smaller α -chain size was detected in enzyme pretreated ASC and PSC. DSC profiles indicated that ASC (from non- and pretreated samples) and PSC had almost similar onset temperature (40°C) and T_g (42°C). All ASC and PSC samples had typical amino acid composition pattern of collagen. The content of Gly was highest followed by Pro, HyP and Ala. The imino acid was constituted around 25% of total amino acid composition of chicken feet collagen. The viscoelastic behavior as a function of temperature revealed a unique temperature dependence reversible assembling and unfolding of collagen triple helices. Corresponding to their G' and $\text{Tan}\delta$, ASC exhibited more elastic solid-like behavior from stronger network bonding of unfolded helices than PSC. According to its comparable high imino acid content and T_g value to those of mammalian collagen, chicken feet collagen has the high possibility for being used as an alternative.

Keywords: Extraction, Characterization, Skin, Tendon, Chicken feet, Collagen

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG4580012

ชื่อโครงการ: การแยกสกัดและการจำแนกลักษณะของคอลลาเจนจากเท้าไก่

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: ดร. มณี วิทยานนท์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

E-mail Address: manee.v@psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 ปี

งานวิจัยชิ้นนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาวิธีการแยกสกัด และสมบัติที่สำคัญบางประการของคอลลาเจนจากเท้าไก่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการผลิตและใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์คอลลาเจนและหรือเจลาตินจากเท้าไก่ต่อไป การศึกษาแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือ (1) การล้างเพื่อกำจัดไขมันและโปรตีนอื่นๆที่ไม่ใช่คอลลาเจน (2) การสกัดคอลลาเจนโดยใช้กรดอะซิติก เปปซิน และวิธีร่วมระหว่างการเตรียมตัวอย่างด้วยด่าง หรือ เอ็นไซม์ก่อนการสกัดด้วยกรด และ(3) การจำแนกลักษณะของคอลลาเจนที่สกัดได้ทั้งจากเท้าไก่บดรวม และจากเฉพาะส่วนเอ็น และหนัง

การล้างช่วยให้วัตถุดิบมีปริมาณคอลลาเจนมากขึ้น เท้าและลดปริมาณน้ำและไขมันลง 3.4 และ 35.5 เท่าตามลำดับ เท้าไก่ประกอบด้วยคอลลาเจนที่ไม่ละลายด้วยกรดอยู่สูง การเพิ่มความเข้มข้นของกรดอะซิติกและเวลาในการสกัดมีผลให้การละลายเร็วขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้กรดที่เข้มข้นกว่า 0.75 โมลาร์หรือสกัดเป็นเวลานานกว่า 5 อาทิตย์ที่ 4 องศาเซลเซียสมีผลให้โมเลกุลของคอลลาเจนเปลี่ยนแปลงไปจากสภาพธรรมชาติ เท้าไก่บดรวมและส่วนเอ็นมีคอลลาเจนที่ละลายด้วยเปปซิน(PSC)เป็นส่วนใหญ่ แต่คอลลาเจนที่ละลายด้วยกรด (ASC) เป็นชนิดหลักในส่วนหนังของเท้าไก่ การใช้ด่างหรือโปรติเอสในการเตรียมวัตถุดิบช่วยเพิ่มผลผลิต ASC ถึง 2.5 และ 9 เท่าตามลำดับ

การศึกษาผลของวิธีการเตรียมวัตถุดิบ ชนิดสารที่ใช้สกัดหรือละลายคอลลาเจน ตลอดจนส่วนของเท้าไก่ที่ใช้ต่อ รูปแบบหน่วยย่อย ความคงตัวต่อความร้อน องค์ประกอบกรดอะมิโน ตลอดจนลักษณะทางรีโอโลยีของคอลลาเจนที่ได้ พบว่ารูปแบบหน่วยย่อยของคอลลาเจนที่ได้มีลักษณะโดยทั่วไปของคอลลาเจน type I โดยที่ α -chain ของ ASC จากตัวอย่างที่เตรียมด้วยเอ็นไซม์กับของPSCมีขนาดเล็กกว่าตัวอย่างอื่นเล็กน้อย ส่วนค่าความคงตัวต่อความร้อนระบุโดยอุณหภูมิที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะธรรมชาติ (T_d) ของทุกตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกัน คือประมาณ 42 องศาเซลเซียส นอกจากนี้คอลลาเจนที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโน (Pro+Hyp) เฉลี่ย 25%ของกรดอะมิโนทั้งหมด ลักษณะการเปลี่ยนแปลงค่า G' และ $\tan\delta$ ซึ่งเป็นค่าแสดงพฤติกรรมการเป็นของกึ่งแข็งกึ่งเหลวระหว่างการเย็นลงแล้วร้อนขึ้นของสารละลายคอลลาเจน บ่งชี้ลักษณะการผันกลับได้ของการสร้างพันธะระหว่างเกลียวคอลลาเจนที่คลายตัวเป็นโครงข่ายเจล โดยพบว่า ASC มีการสร้างพันธะ

โครงข่ายระหว่างสายคอลลาเจนที่แข็งแรงกว่า PSC เนื่องจากปริมาณกรดอิมิโนและค่า T_g ของคอลลาเจนที่ได้จากเท้าไก่มีค่าสูงใกล้เคียงกับคอลลาเจนจากสัตว์บกที่ใช้โดยทั่วไป จึงแสดงว่าคอลลาเจนจากเท้าไก่มีโอกาสเป็นสารทดแทนคอลลาเจนทางการค้าได้

คำหลัก การสกัด การจำแนกลักษณะ คอลลาเจน หนั่ง เอ็น เท้าไก่