

ปริมาณผลผลิตและรูปแบบโปรตีนคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำ (*Liza subviridis*) ที่สกัดด้วยเปปซินความเข้มข้นแตกต่างกัน

Yield and protein pattern of collagen extracted from Greenback mullet (*Liza subviridis*) scale by different pepsin concentrations

มะลิวัลย์ กุตะโก^{1*}, ทนงศักดิ์ โตเจริญ¹, มลฤดี สอนธิ¹, รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ¹
และ จันทรจรัส วัฒนะโชติ²

Maliwan Kutako^{1*}, Tanongsak Tocharoen¹, Molruedee Sonthi¹,
Rachanimuk Hiransuchalert¹ and Janjarus Watanachote²

บทคัดย่อ: การศึกษานี้ได้เก็บตัวอย่างเกล็ดปลากระบอกดำ (*Liza subviridis*) จากตลาดสดท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี เพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตคอลลาเจน โดยนำเกล็ดปลามาล้างน้ำกลั่น ตากแห้ง กำจัดแคลเซียม เม็ดสี และโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนออก จากนั้นจึงสกัดคอลลาเจนโดยแช่เกล็ดปลาในกรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ (พีเอช 2.5) ร่วมกับเอนไซม์เปปซินที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0, 1.25, 2.5 และ 5% ของน้ำหนักเกล็ดปลา เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าการใช้เปปซิน 5% ของน้ำหนักเกล็ดปลา ให้ปริมาณผลผลิตของคอลลาเจนสูงที่สุดเท่ากับ 0.89% ซึ่งสูงกว่าการใช้เปปซิน 1.25 และ 2.5% และให้ปริมาณผลผลิตของคอลลาเจนสูงกว่าการสกัดแบบไม่ใช้เปปซินถึง 11 เท่า จากการวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนของคอลลาเจนด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่าคอลลาเจนที่สกัดได้เป็น type I ซึ่งประกอบด้วยสาย β , α_1 และ α_2 ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 233 122 และ 110 kDa ตามลำดับ

คำสำคัญ: คอลลาเจน, เปปซิน, SDS-PAGE, เกล็ดปลากระบอกดำ

ABSTRACT: In this study, Greenback mullet (*Liza subviridis*) scale from the Tha Mai fresh market in Chanthaburi province was used as source of collagen. Scales were washed with distilled water, dried and removed calcium, pigments and non-collagenous proteins. Thereafter, treated scales were immersed in 0.5 M acetic acid (pH 2.5) and digested with different pepsin concentrations at 0, 1.25, 2.5 and 5% (w/w) for 72 hours. The results showed that 5% pepsin gave the highest collagen yield at 0.89% than 1.25 and 2.5% pepsin. In addition, 5% pepsin could increase the collagen 11-folds of 0% pepsin. The subunit compositions of this collagen were examined by SDS-PAGE. Greenback mullet scale collagen was shown type I that composed of β , α_1 and α_2 subunits with molecular weight of 233, 122 and 110 kDa, respectively.

Keywords: collagen, pepsin, SDS-PAGE, scales of Greenback Mullet

¹ คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

Faculty of Marine Technology, Burapha University Chanthaburi Campus

² สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

Institute of Marine Science, Burapha University

* Corresponding author: maliwan@buu.ac.th

บทนำ

คอลลาลาเจน type I เป็นโปรตีนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่พบได้ทั้งในผิวหนัง เอ็นและกระดูกของสิ่งมีชีวิต มีประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมโดยนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง (Ikoma et al., 2003) สัตว์น้ำถือเป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับผลิตคอลลาลาเจนที่น่าสนใจเพราะมีความปลอดภัย เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้วัตถุดิบจากส่วนกระดูกและเอ็นจากวัวและหมูที่อาจเสี่ยงต่อโรคปากและเท้าเปื่อยได้ (Zhang et al., 2011) ทั้งนี้เกล็ดปลาเป็นของเหลือทิ้ง และหากกำจัดไม่ถูกวิธีจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่ศึกษาแล้วพบว่าเกล็ดปลามีสารประกอบที่มีประโยชน์ โดยเฉพาะคอลลาลาเจนที่สกัดได้จากเกล็ดปลา เช่น เกล็ดปลาใน (*Cyprinus carpio*) และปลานิล (*Oreochromis niloticus*) มีคอลลาลาเจนเท่ากับคือ 1.35% ของน้ำหนักแห้ง (Ikoma et al., 2003; Duan et al., 2009)

ปลาระบบอกดำ (*Liza subviridis*) เป็นปลาทะเลที่ทำรายได้ตลอดปีให้แก่ชาวประมงบริเวณชายฝั่งทะเลอ่าวไทยเพราะประชาชนนิยมบริโภค จากสถิติการจับสัตว์น้ำในปี พ.ศ. 2543 พบว่ามีปริมาณการจับปลาระบบอก 8,374 ตัน คิดเป็นมูลค่า 393.44 ล้านบาท (กรมประมง, 2543) และ พรทิภา (2552) ยังพบว่าชาวประมงในชุมชนบางสระแก้ว อ. แหลมสิงห์ จ.จันทบุรี สามารถจับปลาระบบอกดำได้เฉลี่ยต่อปีประมาณ 1,145.28 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 78,838.32 บาทต่อปีต่อครัวเรือน ดังนั้นเกล็ดปลาระบบอกดำที่เป็นของเหลือทิ้งจึงมีปริมาณมากเพียงพอสำหรับนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตคอลลาลาเจนได้ ซึ่งวิธีการสกัดคอลลาลาเจนจากเกล็ดปลาชนิดต่างๆ นั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น สกัดด้วยกรดร่วมกับความร้อนและตามด้วยการสกัดด้วยกรดร่วมกับเอนไซม์เปปซิน ซึ่งลักษณะของคอลลาลาเจน type I อาจจะเสียสภาพได้เพราะมีความร้อนสูง และอีกหนึ่งวิธีคือการสกัดด้วยกรดร่วมกับเปปซินเพียงอย่างเดียวซึ่งมีข้อดีคือโครงสร้างคอลลาลาเจนไม่เสียสภาพ (นันทพร, 2550; ฉลองขวัญ, 2551)

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงได้นำเกล็ดปลาระบบอกดำจากตลาดสดท่าใหม่ อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี มาสกัดคอลลาลาเจนโดยสกัดด้วยกรดร่วมกับเปปซินเพียงครั้งเดียว และแปรผันความเข้มข้นของเปปซิน 4 ระดับ คือ 0, 1.25, 2.5 และ 5% ของน้ำหนักเกล็ดปลาภายหลังการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาลาเจนและเม็ดสี จากนั้นได้ศึกษาหน่วยย่อยของคอลลาลาเจนที่สกัดได้ด้วยเทคนิค SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางการเพิ่มมูลค่าให้กับเกล็ดปลาระบบอกดำที่เป็นของเหลือทิ้งในท้องตลาดได้

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่างเกล็ดปลาระบบอกดำ

เก็บตัวอย่างเกล็ดปลาระบบอกดำจากตลาดสดท่าใหม่ จ.จันทบุรี จากนั้นนำเกล็ดปลามาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปาเพื่อกำจัดเมือกและกลิ่นคาว และล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง นำไปตากแห้งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เพื่อเป็นตัวอย่างในการทดลองต่อไป

การกำจัดแคลเซียมออกจากเกล็ดปลาระบบอกดำ

ดัดแปลงวิธีการจาก Fahmi et al. (2004) โดยแช่เกล็ดปลาแห้งในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.2 นอร์มอล ในอัตราส่วนเกล็ดปลาระบบอกดำต่อสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเท่ากับ 1:6 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง และกวนเป็นประจำทุกชั่วโมง จากนั้นล้างเกล็ดปลาล้างน้ำ ค่าพีเอชเท่ากับ 7 แล้วจึงนำไปผ่านขั้นตอนการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาลาเจนและเม็ดสีต่อไป

การกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาลาเจนและเม็ดสีออกจากเกล็ดปลาปลาระบบอกดำ

ใช้วิธีที่ดัดแปลงจากฉลองขวัญ (2551) โดยแช่เกล็ดปลาในสารละลายไฮเดรียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ด้วยอัตราส่วนเกล็ดปลาต่อสารละลายไฮเดรียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1:5 ซึ่งมีกรกวนตลอดและ

เปลี่ยนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นประจำทุก 2 ชั่วโมง จนกระทั่งครบ 6 ชั่วโมง จากนั้นล้างเกล็ดปลาด้วยน้ำกลั่นจนมีค่าพีเอชเท่ากับ 7 จึงนำไปสกัดคอลลาเจน

การสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำด้วยเอนไซม์เปปซินที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

วิธีการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำดัดแปลงวิธีของนันทพร (2550) โดยสกัดคอลลาเจนด้วยกรดอะซิติกร่วมกับเอนไซม์เปปซินเพียงรอบเดียวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เริ่มจากแช่เกล็ดปลาในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.5 โมลาร์ (พีเอช 2.5) ด้วยอัตราส่วนเกล็ดปลาต่อกรดอะซิติกเท่ากับ 1:5 และเติมเอนไซม์เปปซิน (activity 600-1,200 units/mg protein, Fluka Biochemika, Germany) ด้วยความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 1.25, 2.5 และ 5% (w/w) แต่ละความเข้มข้นทำ 3 ซ้ำ บ่มนาน 72 ชั่วโมง และกวนตลอดเวลา จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกเกล็ดปลาออกและนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ 20,000 g นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารละลายส่วนบนไปตกตะกอนคอลลาเจนโดยเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.9 โมลาร์ ปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง และแยกตะกอนไปละลายในกรดอะซิติก (0.5 โมลาร์) ด้วยอัตราส่วนตะกอนต่อกรดอะซิติกเท่ากับ 1:4 แล้วจึงนำสารละลายคอลลาเจนไปทำให้บริสุทธิ์ โดยบรรจุลงในถุงไดอะไลซิส (CelluSep T4, MW cut off 12,000-14,000, Membrane Filtration Products, Inc., USA) แล้วแช่ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน และเปลี่ยนน้ำเป็นประจำทุก 6 ชั่วโมง จนครบเวลา 24 ชั่วโมง และนำคอลลาเจนไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dry) จากนั้นชั่งน้ำหนักและคำนวณหาปริมาณผลผลิตของคอลลาเจนที่สกัดได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณผลผลิตของคอลลาเจน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักคอลลาเจนหลังจากการทำแห้ง (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักเกล็ดปลาที่ผ่านการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนและเม็ดสี (กรัม)}}$$

การทดลองได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) โดยสกัดคอลลาเจนด้วยเปปซินความเข้มข้นแตกต่างกัน จากนั้นนำผลผลิตคอลลาเจนที่ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนและความแตกต่างโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ

การศึกษารูปแบบหน่วยย่อยโปรตีนคอลลาเจนด้วยเทคนิค SDS-PAGE

ใช้เทคนิค SDS-PAGE ตามวิธีของ Laemmli (1970) โดยเตรียมตัวอย่างคอลลาเจนที่สกัดได้ผสมกับ Sample buffer (ประกอบด้วย 0.6 โมลาร์ tris-HCl ค่าพีเอชเท่ากับ 6.8, 2% SDS, 10% Glycerol, 0.025% Bromophenol blue, 0.1 มิลลิโมลาร์ DTT) อัตราส่วนคอลลาเจนต่อ Sample buffer เท่ากับ 1:1 นำไปต้มในน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปแยกรูปแบบโปรตีนโดยใช้โพลีอะคริลลาไมด์เจลที่มี 4% Stacking gel และ 7.5% Separating gel ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 220 โวลต์ และกระแสไฟฟ้า 20 มิลลิแอมแปร์ (552BR Mini-protein Tetra System, Bio-RAD) นาน 60 นาที จากนั้นนำเจลแช่ในสารละลายย้อม (ประกอบด้วย 4% Acetic acid และ 16% Ethanol) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วแช่ในน้ำกลั่น 2 ครั้งๆ ละ 5 นาที แล้วย้อมสีเจลด้วย Protein staining solution (PageBlue, Fremont Life sciences, USA)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ปริมาณผลผลิตของคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำที่สกัดด้วยเอนไซม์เปปซินที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำด้วยกรดอะซิติกร่วมกับเปปซิน โดยทำการสกัดเพียงรอบเดียว ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และแปรผันระดับความเข้มข้นของเปปซิน 0, 1.25, 2.5 และ

5% ตามลำดับ พบว่าการสกัดด้วยกรดอะซิติกร่วมกับเปปซิน 5% สามารถให้ปริมาณผลผลิตของคอลลาเจนมากที่สุดเท่ากับ 0.89% รองลงมาคือ การใช้เอนไซม์เปปซิน 2.5, 1.25 และ 0% ตามลำดับ ที่ให้ผลผลิตของคอลลาเจน 0.7, 0.61 และ 0.08% ตามลำดับ (Figure 1) แสดงว่าการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำโดยใช้กรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว (เปปซิน 0%) มีผลผลิตคอลลาเจนแตกต่างจากการใช้กรดอะซิติกร่วมกับเปปซินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และการเพิ่มเปปซินเป็น 1.25, 2.5 และ 5% กลับให้ผลผลิตคอลลาเจนไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่สามารถทำให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดคอลลาเจน

เพิ่มขึ้นเป็น 8, 9 และ 11 เท่าของปริมาณผลผลิตคอลลาเจนที่สกัดโดยใช้กรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว ตามลำดับ ซึ่งคอลลาเจนประกอบด้วยไกลซีน (glycine) อะลานีน (alanine) โพรลีน (proline) ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline) และกรดอะมิโนชนิดอื่น และเอนไซม์เปปซินมีความจำเพาะในการย่อยพันธะเปปไทด์ที่ต่อกันด้วยกรดอะมิโนชนิดอะโรมาติกจึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์จากการย่อยเป็นเปปไทด์สายยาวและการเพิ่มความเข้มข้นเปปซินจะส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยได้เร็วขึ้นจึงทำให้พบปริมาณคอลลาเจนเพิ่มขึ้น (Devlin, 1997)

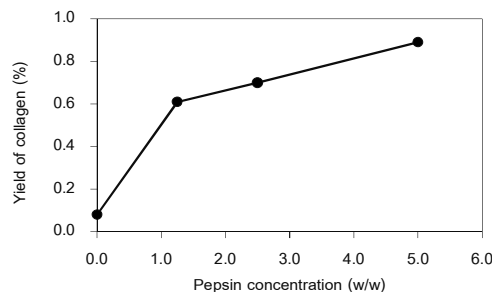


Figure 1 Yield of collagen in Greenback mullet scale extracted by different pepsin concentrations.

เกล็ดปลามีคอลลาเจนน้อยกว่าในส่วนอื่นๆ ของปลา เช่น หนังปลาที่อาจพบคอลลาเจนในช่วง 3.68-24.0% (Hema et al., 2013) แต่เกล็ดปลาก็ถือได้ว่าเป็นแหล่งวัตถุดิบที่น่าสนใจเพราะสามารถหาได้ง่ายและยังมีปริมาณมาก ซึ่งการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลามีหลายวิธี เช่น ใช้กรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ สกัดเกล็ดปลาคาร์พและได้คอลลาเจน 7% (Kimura et al. 1991) หรือใช้ Tris-HCl (พีเอช 7.5) 0.05 โมลาร์ ร่วมกับ ethylene diamine tetraacetate (EDTA) 0.5 โมลาร์ ได้คอลลาเจนประมาณ 5% (Nomura et al., 1996) หรือใช้เปปซินความเข้มข้น 2.5% ร่วมกับกรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ สกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระพงแดงและเกล็ดปลานิลและได้คอลลาเจนเท่ากับ 0.83 และ 0.82% ตามลำดับ (ฉลองขวัญ, 2551) จึงเห็นได้ว่าแต่ละวิธีสามารถให้ผลได้คอลลาเจนที่แตกต่างกัน

ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลาด้วยเพราะองค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลามีสัดส่วนกรดอะมิโนและการเสียสภาพของคอลลาเจนจากเกล็ดปลาในแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน (Bailey and Light, 1989) และในงานวิจัยนี้พบว่าการใช้กรดอะซิติกร่วมกับเปปซิน 5% สามารถให้ปริมาณผลผลิตของคอลลาเจนมากที่สุดเพียง 0.89% ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณของกรดอะมิโนทั้งหมดในเกล็ดปลากระบอกดำมีปริมาณน้อยหรือการใช้กรดสกัดร่วมด้วยจึงมีอุณหภูมิสูงและส่งผลคอลลาเจนเสียสภาพได้ (นันทพร, 2550) อย่างไรก็ตามผลผลิตคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำมีปริมาณใกล้เคียงกับการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลาในด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ได้ผลผลิตคอลลาเจน 1.35% (Duan et al., 2009) และการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลาแพะทองเหลือง (*Parupeneus*

heptacanthus) ด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 0.5 โมลาร์ และกรดอะซิติกร่วมกับเอนไซม์เปปซินได้ผลผลิตคอลลาเจน 0.46 และ 1.20% ตามลำดับ (Matmaroh et al., 2011)

ผลการศึกษารูปแบบโปรตีนคอลลาเจนด้วยเทคนิค SDS-PAGE

Figure 2 แสดงรูปแบบโปรตีนคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลากระบอกดำโดยใช้กรดอะซิติกร่วมกับเปปซินความเข้มข้นแตกต่างกัน ซึ่งหน่วยย่อยของโปรตีนคอลลาเจนมีแถบโปรตีนเด่นเพียง 3 แถบ คือ แถบที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 233, 122 และ 110 kDa และคาดว่าคอลลาเจนที่สกัดได้จะเป็น type I ซึ่งเป็นตำแหน่งของสาย β , $\alpha 1$ และ $\alpha 2$ ตามลำดับ ทั้งนี้เพราะคอลลาเจนที่สกัดจากหนัง เกล็ดและครีบของปลา

ส่วนใหญ่เป็น type I ที่ประกอบด้วยสาย β , $\alpha 1$ และ $\alpha 2$ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 220.673, 132.044 และ 120.065 kDa ตามลำดับ และหากเป็นคอลลาเจนจากกระดูกปลาจะมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 229.229, 139.798 และ 124.720 kDa ตามลำดับ (Friess, 1998; Olsen et al. 2003) ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลของสาย β , $\alpha 1$ และ $\alpha 2$ ที่ได้จากการทดลองนี้มีความใกล้เคียงกับข้อมูลที่กล่าวในข้างต้น และเมื่อเปรียบเทียบรูปแบบคอลลาเจน (Figure 2) พบว่าคอลลาเจนที่สกัดด้วยกรดอะซิติกร่วมกับเปปซินจะมีความบริสุทธิ์สูงกว่าคอลลาเจนที่สกัดโดยใช้กรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว (0% pepsin) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเปปซินมีความจำเพาะในการย่อยพันธะเปปไทด์ที่ต่อกันด้วยกรดอะมิโนชนิดอะโรมาติกได้ดีจึงไม่เกิดผลิตภัณฑ์อื่นขึ้น

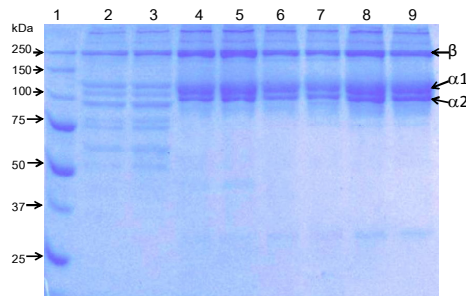


Figure 2 SDS-PAGE pattern of extracted collagen from Greenback mullet scale

Lane 1, protein marker; Lane 2-3, extracted collagen using 0% pepsin; Lane 4-5, 1.25% pepsin; Lane 6-7, 2.5% pepsin; Lane 8-9, 5% pepsin

สรุป

การสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำโดยใช้กรดอะซิติกร่วมกับเปปซิน 5% ให้ผลผลิตของคอลลาเจนมากที่สุด 0.89% รองลงมาคือเปปซินเข้มข้น 1.25 และ 2.5% ให้ผลผลิตของคอลลาเจน 0.61 และ 0.70% ตามลำดับ โดยปริมาณผลผลิตคอลลาเจนที่ได้ไม่แตกต่างกัน แต่ผลผลิตของคอลลาเจนจะมากกว่าการสกัดแบบไม่ใช้เปปซิน (หรือใช้กรดอะซิติกเพียง

อย่างเดียว) ถึง 8, 9 และ 11 เท่า ตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถใช้กรดอะซิติกร่วมกับเปปซิน 1.25% สกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำได้ และคอลลาเจนที่สกัดได้เป็น type I ที่ประกอบด้วยสาย β , $\alpha 1$ และ $\alpha 2$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 233 122 และ 110 kDa ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเกล็ดปลากระบอกดำสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตคอลลาเจน type I ได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการผลิตผลงานทางวิชาการและการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2557 คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2543. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2543. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2546. ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง.
- ฉลองขวัญ พิพัฒน์เจริญวงศ์. 2551. คอลลาเจนจากเกล็ดปลา: การสกัดและคุณสมบัติบางประการ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นันทพร อัครนิจ. 2550. การสกัดคอลลาเจนจากหนังปลาสีทูต และลักษณะบางประการของคอลลาเจนที่สกัดได้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พรทิภา จินดาศรี. 2552. การประเมินการอนุรักษ์ปลากระบอกดำของชุมชนบ้านบางสระแก้ว อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยบูรพา, จันทบุรี.
- Bailey, A.J., and N.D. Light. 1989. Connective Tissue in Meat and Meat Product. Elsevier Sciences Publishers, New York.
- Devlin, T.M. 1997. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. 4th edition. Wiley-Liss, Inc., New York.
- Duan, R., J. Zhang, X. Du, X. Yao, and K. Konno. 2009. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). Food Chem. 112: 702–706.
- Fahmi, A., S. Morimura, H.G. Guo, T. Shigematsu, K. Kida, and Y. Uemura. 2004. Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sea bream scales. Process Biochem. 39: 1195–1200.
- Friess, W. 1998. Collagen – biomaterial for drug delivery. Eur. J. Phar. and Biophar. 45: 113-136.
- Hema, G.S., K. Shynia, S. Mathew, R. Anandan, G. Ninan, and P.T. Lakshmanan. 2013. A simple method for isolation of fish skin collagen- biochemical characterization of skin collagen extracted from Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*), Dog Shark (*Scoliodon sorrakowah*), and Rohu (*Labeo rohita*). Ann Biol Res. 4: 271-278.
- Ikoma, T., H. Kobayashi, J. Tanaka, D. Walsh, and S. Mann. 2003. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticas*. Int. J. Biol Macromol. 32: 199-204.
- Kimura, S., Y. Miyauchi, and N. Uchida. 1991. Scale and bone type I collagens of carp (*Cyprinus carpio*). Comp. Biochem. Physiol. 99: 473-476.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-685.
- Matmaroh, K., S. Benjakul, T. Prodpran, A.B. Encarnacion, and H. Kishimura. 2011. Characteristics of acid soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of Spotted golden goatfish (*Parupeneus hepatacanthus*). Food Chem. 129: 1179-1186.
- Nomura, Y., H. Sakai, Y. Ishii, and K. Shira. 1996. Preparation and some properties of type I collagen from fish scales. Biosci. Biotech. Biochem. 60: 2092–2094.
- Olsen, D., C. Yang, M. Bodo, R. Chang, S. Leigh, J. Baez, D. Carmichael, M. Perälä, E. Hämäläinen, M. Jarvinen, and J. Polarek. 2003. Recombinant collagen and gelatin for drug delivery. Adv. Drug Delivery Reviews. 55: 1547–1567.
- Zhang, F., A. Wang, Z. Li, S. He, and L. Shao. 2011. Preparation and characterization of collagen from fresh water fish scales. Food Nutri Sci. 2: 8181-823.