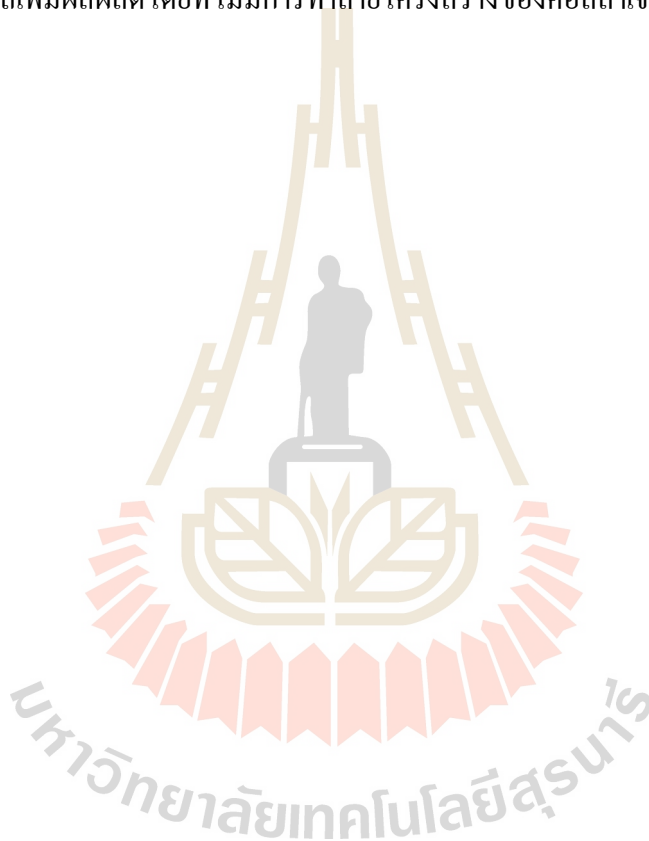


กฤษณพงศ์ แก้วบังเกิด : การสกัดคอลลาเจนจากหลอดลมไก่ด้วยอัลตราซาวด์และ
คุณลักษณะทางชีวเคมี (ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF COLLAGEN
FROM BROILER CHICKEN TRACHEA AND ITS BIOCHEMICAL
CHARACTERIZATION) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.จิรวรรณ ยงสวัสดิกุล,
142 หน้า.

หลอดลมไก่เนื้อเป็นผลิตผลพลอยได้จากโรงชำแหละไก่ โดยปกติจะนำไปผลิตเป็นอาหาร
สัตว์ซึ่งมีมูลค่าต่ำแม้จะมีปริมาณคอลลาเจนสูงก็ตาม โดยทั่วไปการสกัดคอลลาเจนด้วยกรด
และ/หรือเอนไซม์เพปซินมักจะให้ผลผลิต (Yield) ต่ำ การใช้คลื่นอัลตราซาวด์เข้าช่วยในการสกัด
สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของคอลลาเจนได้ วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้คือเพื่อศึกษาปัจจัยของ
ของกระบวนการคลื่นความถี่สูงต่อปริมาณผลผลิตและคุณลักษณะทางชีวเคมีของคอลลาเจนจาก
หลอดลมไก่ การสกัดคอลลาเจนแบบดั้งเดิมกรด (Acid-soluble collagen: AS) และเอนไซม์เพปซิน
(Pepsin-soluble collagen: PS) ที่เวลา 48 ชั่วโมง ทำให้ได้ผลผลิตคอลลาเจนที่ 0.65 และ 3.10%
ตามลำดับ เมื่อประยุกต์คลื่นอัลตราซาวด์ที่ระดับความเข้ม 17.87 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา
20 นาที ตามด้วยการสกัดด้วยกรดเป็นเวลา 42 ชั่วโมง (U-AS) ปริมาณผลผลิตของคอลลาเจน
เพิ่มขึ้นเป็น 1.58% และผลผลิตของคอลลาเจนเพิ่มขึ้นเป็น 6.28% เมื่อใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดต่อ
ด้วยเพปซินเป็นเวลา 36 ชั่วโมง (U-PS) โดยคอลลาเจน PS และ U-PS ที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์
82.84 และ 85.70% ตามลำดับ คอลลาเจนสกัดทุกตัวอย่างประกอบด้วยกรดอะมิโนหลักที่สำคัญคือ
ไกลซีน อะลานีน โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่อง
กราด (Scanning electron microscopy: SEM) เผยให้เห็นว่า คลื่นความถี่สูงไม่ส่งผลต่อการ
เปลี่ยนแปลงโครงสร้างระดับจุลภาคของคอลลาเจน ทุกคอลลาเจนแสดงโครงสร้างเกลียวสามสาย
(Triple helix) ที่ชัดเจนเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเซอร์คูลาร์ไดโครอิกซ์ซิมสเปกโทรสโกปี (Circular
dichroism: CD spectroscopy) ผลจากการวิเคราะห์ฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี
(Fourier Transform Infrared: FT-IR spectroscopy) บ่งชี้ว่า คลื่นความถี่สูงไม่มีผลต่อโครงสร้าง
ระดับทุติยภูมิ โดยทุกตัวอย่างมีโครงสร้างหลักที่สำคัญคือแอลฟาฮีลิกซ์ที่ประมาณ 30% การ
วิเคราะห์การเสถียรภาพธรรมชาติของคอลลาเจนด้วยเทคนิคไมโครดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริ
มิเตอร์ (μ DSC) พบว่า อุณหภูมิการเสถียรภาพ (Denaturation temperature: T_d) ของคอลลาเจนเมื่อ
ละลายในน้ำปราศจากไอออนนั้นสูงกว่าคอลลาเจนที่ละลายในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.5
โมลาร์ ไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีใดๆ อุณหภูมิการเสถียรภาพของคอลลาเจน AS และ U-AS อยู่ที่ 34.3 ถึง
35.1 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิการเสถียรภาพของคอลลาเจน PS และ U-PS อยู่ที่ 45.0 ถึง

45.6 องศาเซลเซียส จากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน คอลลาเจนทุกตัวอย่าง ประกอบด้วยเกลียวแอลฟา 1 และ 2 ที่มีมวลโมเลกุล 135 และ 116 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับคุณลักษณะของคอลลาเจนชนิดที่ 1 (Type I) นอกจากนี้ผลจากการวิเคราะห์รูปแบบ เพปไทด์โดยเทคนิคการแยกสารด้วยโครมาโตกราฟีแบบของเหลวพร้อมแมสสเปคโตรมิเตอร์ (Liquid chromatography with mass spectrometry: LC-MS/MS) บ่งชี้ถึงความคล้ายคลึงของคอลลาเจน PS และ U-PS กับคอลลาเจนชนิดที่ 1 ผลของการศึกษาเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่า หลอดลมไก่เป็นวัตถุดิบทางเลือกหนึ่งที่ใช้สำหรับผลิตคอลลาเจนชนิดที่ 1 และการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยในการสกัดเป็นเทคนิคที่สามารถเพิ่มผลผลิต โดยที่ไม่มีการทำลายโครงสร้างของคอลลาเจน



สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา 2562

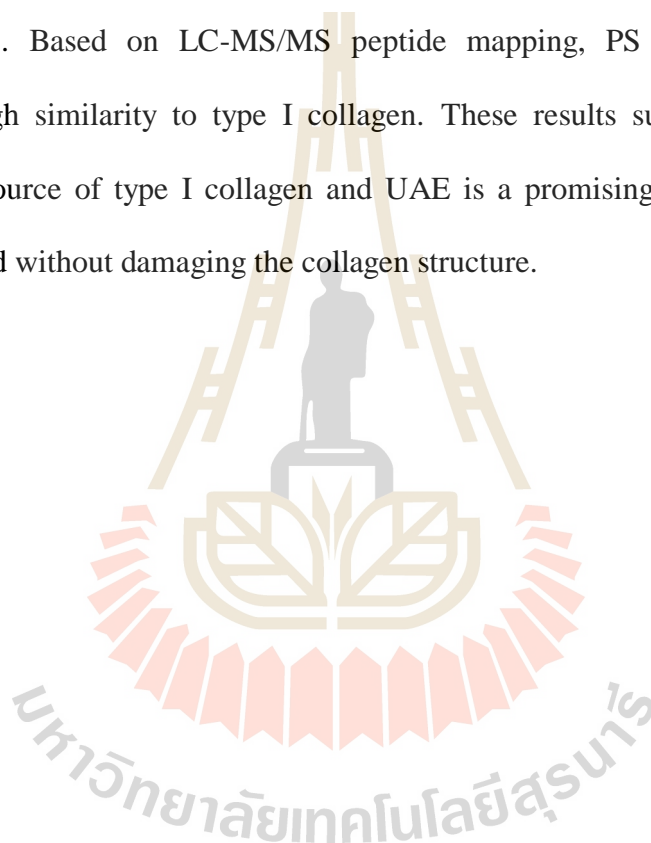
ลายมือชื่อนักศึกษา Dam Pimol
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Dr. Uthairat

KITSANAPONG KAEWBANGKERD : ULTRASOUND-ASSISTED
EXTRACTION OF COLLAGEN FROM BROILER CHICKEN TRACHEA
AND ITS BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION. THESIS ADVISOR :
ASSOC. PROF. JIRAWAT YONGSAWATDIGUL, Ph.D., 142 PP.

TRACHEA/COLLAGEN/ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION/FT-IR/CD

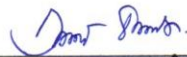
Broiler chicken trachea (T) is a coproduct from chicken slaughterhouse and normally turned into low value animal feed despite their high collagen. Typical collagen extraction by acid and/or pepsin usually results in lower yield. Ultrasound-assisted extraction (UAE) could be a means to improve collagen yield. The objectives of this study were to investigate the effects of ultrasonic parameters on yield and biochemical properties of T collagen. Conventional extraction using acetic acid and pepsin for 48 h resulted in acid-soluble (AS) and pepsin-soluble (PS) collagen with the yield of 0.65 and 3.10%, respectively. When ultrasound intensity of $17.87 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ was applied for 20 min exposure time, followed by acid extraction for 42 h (U-AS), collagen yield was increased to 1.58%. A yield of 6.28% was obtained when ultrasound treatment was followed by pepsin for 36 h (U-PS). Collagen content of PS and U-PS was 82.84 and 85.70%, respectively. Glycine was a major amino acid along with alanine, proline and hydroxyproline. Scanning electron microscopy (SEM) images revealed that ultrasound did not affect the collagen microstructure. All collagens showed an obvious triple helix structure as measured by circular dichroism (CD) spectroscopy. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy indicated that ultrasound did not disturb protein secondary structure where approximately 30% of α -helix content is a major structure in all collagen samples. Micro-differential scanning

calorimetry (μ DSC) demonstrated that the denaturation temperature (T_d) of collagen in the presence of deionized water was higher than collagen solubilized in 0.5 M acetic acid, regardless of the extraction method. Furthermore, T_d values of AS and U-AS collagen were 34.3 to 35.1°C, whereas those of PS and U-PS collagen were 45.0 to 45.6°C. All collagens comprised of $\alpha 1$ and $\alpha 2$ units with molecular weight of approximately 135 and 116 kDa, respectively, corresponding to the type I characteristic. Based on LC-MS/MS peptide mapping, PS and U-PS collagens indicated high similarity to type I collagen. These results suggested that T is an alternative source of type I collagen and UAE is a promising technique that could increase yield without damaging the collagen structure.



School of Food Technology

Academic Year 2019

Student's Signature 

Advisor's Signature 