การใช้ประโยชน์จากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเป็นอาหารเสริม และผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

พัชรพงษ์ พานิช

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2561

การใช้ประโยชน์จากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเป็นอาหารเสริมและผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

พัชรพงษ์ พานิช

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การใช้ประโยชน์จากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเป็นอาหารเสริม
และผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

พัชรพงษ์ พานิช

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(อาจารย์ ดร.มธุรส ชัยหาญ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร .....
(อาจารย์ ดร.สุดาพร ตงศิริ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง การใช้ประโยชน์จากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเป็นอาหารเสริมและผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

ชื่อผู้เขียน นายพัชรพงษ์ พานิช

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล

บทคัดย่อ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาสวาย *(Pangasianodon hypophthalmus*) เป็นปลาน้ำจืดที่ได้รับความนิยมในการบริโภค และ พบมีผลพลอยได้ที่เหลือเป็นจำนวนมาก เช่น เกล็ดปลานิล และ หนังปลาสวายที่สามารถนำไปเพิ่มมูลค่าโดยสกัดเป็นคอลลาเจนได้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ หาวิธีการสกัดคอลลาเจนที่เหมาะสมและประเมินปริมาณของคอลลาเจนที่สกัดได้จากเกล็ดปลานิล และ หนังปลาสวาย แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ชีวภาพเพื่อสนับสนุนการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอาง ผลจากการศึกษา พบว่า ผลผลิตคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย เท่ากับ 21.67±2.19% และ 17.00±1.15% ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของคอลลาเจนที่สกัดได้กับคอลลาเจนในท้องตลาด พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่าสูงที่สุดพบในคอลลาเจนในท้องตลาด (0.0706±0.0001 mg of Trolox) ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ช่วยป้องกันการเพิ่มเม็ดสีผิว พบว่า คอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลมีฤทธิ์การยับยั้งสูงที่สุด (0.0713±0.0010 mg of Kojic acid) นอกจากนี้ ในส่วนต้นทุนการผลิต คอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลมีต้นทุนการผลิตต่ำที่สุด จึงได้นำคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลไปพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เวชสำอางบำรุงผิวหน้า และ ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งที่อุณหภูมิ 4°C และ 45°C สลับกันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ พบว่า มีความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ลักษณะสีของครีม ค่าพีเอช และ เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไม่เปลี่ยนแปลง และเมื่อนำไปทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในระดับดีมาก และ มีความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์สูงเมื่อมีการวางจำหน่ายในท้องตลาด

Title UTILITY OF FISH SCALE FROM NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*, Linn) AND SKIN OF STRIPED CATFISH (*Pangasianodon hypophthalmus,* Sauvage) AS NUTRACEUTICAL AND COSMECEUTICAL PRODUCTS

Author Mr.Patcharapong panich

Degree Master of Science in Fisheries Technology and Aquatic Resources

Advisor Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Doungporn Amornlerdpison

ABSTRACT

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) are freshwater fish and which are a popular food consumptiom. Leftover products from Nile tilapia are scale and from Striped catfish products such as skin. These by-products can value be added as fish collagen. Therefore, this study was performed to carry out the appropriate extraction method and evaluate the percentage yield of collagen form Nile tilapia scale and Striped catfish skin as well as analyze biological activities to support the development on cosmeceutical products. The result showed that the percentage yield of collagen form Nile tilapia scale and Striped catfish skin were 21.67±2.19% and 17.00±1.15%, respectively. The analysis of biological activities compared three collagen samples, collagen from Nile tilapia scale, Striped catfish skin and commercial collagen. The commercial collagen had the highest effect on antioxidant activity (0.0706±0.0001 mg of Trolox) whereas collagen from Nile tilapia scale had the highest anti-tyrosinase activity which displayed the effect on anti-hyperpigment (0.0713±0.0010 mg of Kojic acid). In addition, the production cost of collagen form Nile tilapia scale was the cheapest. The cosmeceutical product in term of facial serum has been developed using collagen extracted from Nile tilapia scale. The accelerated stability was tested

by heating and cooling at 45°C and 4°C intervals in 24 hours for 6 cycles. It was found that the viscosity slightly increased whereas the color characteristics, pH and texture of the product stayed unchanged. The product satisfaction using 30 volunteers were estimated. Overall the volunteers showed extreme satisfaction and the demand of the product was high when available.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง การใช้ประโยชน์จากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเป็นอาหารเสริมและผลิตภัณฑ์เวชสำอาง ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ในการให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของการทำวิจัย และให้ความช่วยเหลือ ดูแลเอาใจใส่อย่างดีมาโดยตลอด จนการทำวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณ คุณรัตนภรณ์ จันทร์ทิพย์ คุณอุเทน จำใจ คุณณัฐวุฒิ หวังสมนึก คุณธีระวัฒน์ รัตนพจน์และพี่ๆน้องๆ ในห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือด้านการทำวิจัย เทคนิค การวิเคราะห์ต่างๆ ตลอดมา การตรวจเอกสาร ค่อยแก้ไข และปรับแต่งในการทำวิจัยครั้งนี้ออกมาสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นอกจากนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนทุนการวิจัยครั้งนี้และคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำที่อนุเคราะห์สถานที่และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ให้เสร็จสิ้นอย่างสมบูรณ์ ตลอดจนมารดาที่เป็นกำลังใจให้ตลอดมา จนเสร็จสิ้นการวิจัย จึงขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

พัชรพงษ์ พานิช

มกราคม 2561

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ค

ABSTRACT ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย 1

ขอบเขตของการวิจัย 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

ขอบเขตการวิจัย 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร 4

ปลานิล 4

ปลาสวาย 5

เกล็ดปลา 7

หนังปลา 10

คอลลาเจน 11

คอลลาเจนจากเกล็ดปลา 17

คอลลาเจนจากหนังปลา 20

การนำคอลลาเจนมาประยุกต์ใช้ 22

บทที่ 3 วิธีการวิจัย 24

วิธีการเตรียมตัวอย่าง 24

หน้า

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลาและหนังปลา 24
การกำจัดแคลเซียมออกจากเกล็ดปลา 25
การกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนและเม็ดสีออกจากเกล็ดปลาและหนังปลา 25
การสกัดคอลลาเจน 25
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 26
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิด 26
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส 27
การพัฒนาผลิตภัณฑ์ 27
การทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ 28
วิเคราะห์ผลทางสถิติ 28
สถานที่ทำการวิจัย 28
ระยะเวลาทำการวิจัย 28
บทที่ 4 ผลการวิจัย และวิจารณ์ 29
องค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลา 29
ปริมาณร้อยละของผลผลิตคอลลาเจน 29
ลักษณะของสารสกัดคอลลาเจน 30
คุณสมบัติการละลายน้ำ 32
ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 33
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 34
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส 37
ต้นทุนการผลิต 39
การพัฒนาผลิตภัณฑ์ 39
ผลการทดสอบความพึงพอใจผลิตภัณฑ์ 42

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 44
ข้อเสนอแนะ 44
บรรณานุกรม 46
ภาคผนวก 51
ก. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี 52
ข. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ 58
ค. ขั้นตอนการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล 59
ขั้นตอนการนำคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอาง 67
ง. การประมาณราคาต้นทุนการผลิต (คอลลาเจน 100 กรัม) 68
จ. การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ 69
ประวัติผู้วิจัย 72

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ชนิดของคอลลาเจน ส่วนประกอบของหน่วยย่อย และตำแหน่งที่พบของคอลลาเจน 15

2 องค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลา sea bream ก่อนและหลังการกำจัดแคลเซียม (% w/w)..... 18

3 องค์ประกอบของกรดอะมิโน (residues/1000 total residues)..... 19

4 องค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย 29

5 ปริมาณร้อยละผลผลิตของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย 30

6 ปริมาณคอลลาเจน (Hydroxyproline) ของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย..... 30

7 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS scavenging activity ของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวาย และคอลลาเจนท้องตลาด 36

8 การเปรียบเทียบค่า IC_{50} ในการต้านอนุมูลอิสระของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด 36

9 การเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด 38

10 การเปรียบเทียบค่า IC_{50} ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด..... 38

11 การเปรียบเทียบต้นการผลิต ของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด (คอลลาเจน 100 กรัม)..... 39

12 การทดสอบความคงตัวผลิตภัณฑ์จากการเก็บที่อุณหภูมิห้อง (RT) อุณหภูมิ 4°C และ 45 °C เป็นเวลา 45 วัน 40

13 ทดสอบความคงตัวผลิตภัณฑ์โดยใช้ความเย็นสลับความร้อนที่ 4 °C และ 45 °C รวม 6 รอบ 41

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 ปลานิล 4
2 ปลาสวาย 5
3 โครงสร้างของเกล็ดแบบพลาคอยด์ 8
4 ลักษณะเกล็ดของปลาในแต่ละชนิด 9
5 โครงสร้างของ collagen 13
6 การเปรียบเทียบกันของ collagen Type I กับคอลลาเจนหนังหมูและเกล็ดปลา 19
7 วิธีการ Two – Fold dilution 27
8 คอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล 31
9 คอลลาเจนจากหนังปลาสวาย 31
10 คอลลาเจนจากท้องตลาด (สกัดมาจากปลาทะเล) 32
11 เปรียบคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด 32
12 คุณสมบัติการละลายน้ำ 32
13 เปรียบเทียบคุณสมบัติการละลายน้ำคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด 33
14 ผลการยับยั้ง Staphylococcus aureus โดยคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด 33
15 ผลการยับยั้ง Staphylococcus epidermidis โดยคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด 34
16 ผลการยับยั้ง Propionibacterium acnes โดยคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด 34
17 ความสัมพันธ์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับระดับความเข้มข้นของคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน 35
18 เปรียบเทียบ %inhibition ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด กับสารมาตรฐาน (Koji acid) 38
19 ผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากคอลลาเจนเกล็ดปลานิล 40
20 เปรียบเทียบระหว่างก่อน (A) และหลัง (B) ผ่าน heating-cooling cycle 41

21 ผลการทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงหน้าผสมคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล 43

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ปลานิลและปลาสวายเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยมาจนถึงปัจจุบัน ในปี 2556 ปลานิลมีผลผลิตจากการจับทั้งหมด (รวมเพาะเลี้ยง) ถึง 217,600 ตัน คิดเป็นมูลค่า 10,805.6 ล้านบาท หรือร้อยละ 29.18 ส่วนปลาสวายมีผลผลิตจากการจับทั้งหมด (รวมเพาะเลี้ยง) ปริมาณ 28,600 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,016.9 ล้านบาท หรือร้อยละ 2.75 ของมูลค่าสัตว์น้ำจืดทั้งหมดของประเทศไทย ปริมาณการส่งออกของปลานิลและปลาสวาย โดยส่งออกในรูปเนื้อปลาแช่แข็ง 40 % ของมูลค่าการส่งออกทั้งหมด (กรมประมง, 2558) จากอุตสาหกรรมการผลิตและแปรรูปสัตว์น้ำ ทำให้มีเศษเหลือจากกระบวนการต่างๆ เหล่านี้ตามมา ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้ยังสามารถนำไปเป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับผลิตคอลลาเจนที่น่าสนใจอีกประเภทหนึ่ง เนื่องจากคอลลาเจนเป็นโปรตีนที่มีมากในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ประมาณร้อยละ 30 และพบได้ทั้งในผิวหนัง เอ็นและกระดูกของสิ่งมีชีวิต มีประโยชน์ต่อเชิงอุตสาหกรรม ในปัจจุบันคอลลาเจนยังได้รับความนิยมอย่างมากในการนำมาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพที่และเครื่องสำอาง

มีรายงานวิจัยพบว่า เกล็ดปลาและหนังปลา มีคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ แต่มีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และวิธีการสกัด โดยพบคอลลาเจนในเกล็ดปลาไน (*Cyprinus carpio*) และเกล็ดปลานิล (*Oreochromis niloticas*) ปริมาณน้อยมาก คือร้อยละ 1.3 ของน้ำหนักแห้ง (Ikoma *et al*., 2003; Duan *et al*., 2009) ส่วน Qiang Zhang *et al*. (2015) สามารถสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 22 – 29 นอกจากนี้ยังมีการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากระบอกดำ (*Liza subviridis*) ให้ปริมาณผลผลิตคอลลาเจนเท่ากับร้อยละ 0.89 (มะลิวัลย์ และคณะ, 2558) นอกจากนี้คอลลาเจนที่สกัดได้จากส่วนด้านในหนังปลาให้ปริมาณผลผลิตคอลลาเจนร้อยละ 39.23 (ปวเรศวร์ และนลินรัตน์, 2558) ส่วน นรินทร์ และวรางคณา (2558) ได้ผลผลิตคอลลาเจนจากหนังปลาสลาดร้อยละ 38.25

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาเทคนิคในการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณผลผลิตที่ดี แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการบำรุงผิวเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ โดยพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางมูลค่าสูงต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาเทคนิคการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายที่เหมาะสม และคำนวณต้นทุนในการสกัดเปรียบเทียบกับคอลลาเจนในท้องตลาด
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่ของคอลลาเจนที่สกัดได้เปรียบเทียบกับคอลลาเจนในท้องตลาด
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอางจากคอลลาเจนที่สกัดได้

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายในห้องปฏิบัติการ
2. การวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพและต้นทุนของคอลลาเจนที่สกัดได้จากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเปรียบเทียบกับคอลลาเจนในท้องตลาด
3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอางจากคอลลาเจนที่ได้จากการสกัดจากเกล็ดปลานิล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การเพิ่มมูลค่าเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายที่เป็นเศษเหลือทิ้ง เป็นสารสกัดคอลลาเจนที่มีฤทธิ์ชีวภาพที่เป็นประโยชน์ในการบำรุงผิว
2. สามารถนำคอลลาเจนที่สกัดได้มาพัฒนาเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง
3. ต่อยอดงานวิจัยพื้นฐานสู่การใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์

ขอบเขตการวิจัย

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

ปลานิล

ภาพที่ 1 ปลานิล

1. ชีววิทยาของปลานิล

1.1 ปลานิล *Oreochromis niloticus* (Linn.) จัดอยู่ ในวงศ์ Cichlidae ซึ่งมีหลายสกุล ทั้งนี้ปลานิลจัดอยู่สกุล *Oreochromis* spp. และมีชื่อสามัญคือ Nile Tilapia (Nelson, 1994) ลำดับอนุกรมวิธานของปลานิลถูกจัดอันดับทางอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Kingdom Animalia
hylum Vertebrata
Subphylum Vertebrara
Superclass Gnathosmata
Class Actinopterygii
Order Perciformes
Suborder Labbroidei
Family Cichlidae
Genus *Oreochromis*
Species *Oreochromis niloticus*

1.2 รูปร่างลักษณะทั่วไป

ปลานิลมีลักษณะคล้ายปลาหมอเทศ ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน มีฟันบริเวณขากรรไกร และคอหอยหลายขนาด ตั้งแต่ค่อนขางหยาบจนถึงละเอียด บริเวณกระดูกเหงือก (gill arch) มีซี่กรอง 15-27 อัน บริเวณแก้มมีเกล็ดทั้งหมด 4 แถวโดยเกล็ด 3 แถวแรกอยู่บริเวณแก้ม และอีกหนึ่งแถวอยู่เหนือเส้นข้างลำตัวเล็กน้อย ลำตัวมีสีน้ำตาล มีลายพาดขวาง 9-10 แถบ ครีบหลัง ครีบก้นและครีบหางมีจุดขาวและเส้นสีดำ ตัดขวาง ครีบหลังมีอันเดียวประกอบด้วยก้านครีบก้น 13 เกล็ด ลำตัวมีสีเขียวบนน้ำตาล ตรงกลางมีเกล็ดสีเข้มที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้มหนึ่งจุด (มานพ และคณะ, 2536)

ความแตกต่างระหว่างเพศปลาอาจสังเกตได้จากลักษณะสีใต้คาง ในกรณีที่ปลาเพศผู้จะมีสีแดง หรือชมพู ส่วนในปลาเพศเมียใต้คางจะมีสีเหลืองแต่ลักษณะสีใต้คางที่ปรากฏนี้ไม่สามารถแยกเพศ ได้ชัดเจน ส่วนการสังเกตจากลักษณะติ่งเพศสามารถจำแนกเพศปลาได้ แม่นยำกว่า โดยปลาเพศผู้ ลักษณะติ่งเพศจะยาวเรียว ปลายแหลม และมีช่องเปิดที่ปลายติ่งเพียงช่องเดียว ซึ่งเป็นทางออกของ ปัสสาวะน้ำเชื้อ ส่วนปลาเพศเมียติ่งเพศจะมีลักษณะปลายมน ช่องเปิดบนติ่งเพศมีสองช่องคือ ช่องเปิดที่ปลายติ่งเป็นทางออกของปัสสาวะ ส่วนช่องเปิดตามขวางบริเวณกึ่งกลางของติ่งเป็นช่อง ออกของไข่ซึ่งจะสังเกตเห็นได้ชัดในปลาที่มีความยาวตั้งแต่ 10 เซนติเมตรขึ้นไป (มานพ และคณะ, 2536)

ปลาสวาย

ภาพที่ 2 ปลาสวาย

2. ชีววิทยาของปลาสวาย

2.1 ปลาสวาย (อังกฤษ: Striped catfish ชื่อวิทยาศาสตร์: *Pangasianodon hypophthalmus,* (Sauvage) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่ง อยู่ในวงศ์ปลาสวาย (Pangasiidae) ลำดับอนุกรมวิธานของปลาสวายถูกจัดอันดับทางอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Kingdom: Animalia
Phylum: Chordata
Class: Actinopterygii
Order: Siluriformes
Family: Pangasiidae
Genus: *Pangasianodon*
Species: *P. hypophthalmus*

2.2 รูปร่างลักษณะทั่วไป (สมโภชน์, 2547)

ในปลาวัยอ่อนมีสีคล้ำเหลือบเงิน ด้านข้างลำตัวสีจางและมีแถบสีคล้ำตามยาว ครีบสีจาง ครีบหางมีแถบสีคล้ำตามแนวยาวทั้งตอนบนและล่าง ปลาขนาดใหญ่มีสีเทาหรือคล้ำอมน้ำตาลด้านข้างลำตัวสีจาง ส่วนหัวของปลาสวายค่อนข้างเล็ก บริเวณส่วนหัวถึงครีบหลังลาดตรง ตาอยู่เสมอหรือสูงกว่ามุมปาก ลักษณะปากแคบกว่าปลาบึกในสกุลเดียวกัน มีรูปร่างที่เพรียวแต่จะป้อมสั้นในปลาที่มีขนาดใหญ่ ส่วนก้านครีบท้องจะมี 8-9 เส้น และครีบก้นยาว โดยส่วนใหญ่มีขนาดประมาณ 50 ซม. และสามารถโตเต็มวัย 1.5 ม.

ซึ่งสามารถพบได้ในแม่น้ำ ลำคลองสายใหญ่ทั่วประเทศไทย และยังเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง มีการเพาะเลี้ยงตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยสามารถเพาะขยายพันธุ์สำเร็จครั้งแรกใน ค.ศ. 1966 ปลาสวายเป็นปลาชนิดแรกที่สามารถผสมเทียมได้สำเร็จของกรมประมงของไทย ปลาจากธรรมชาติจะมีฤดูวางไข่ในเดือนกรกฎาคม ในธรรมชาติ มักพบชุกชุมตามอุทยานปลาหรือหน้าวัดต่าง ๆ ที่ติดริมน้ำ และนิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงาม โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับปลาที่สีกลายเป็นสีเผือก และมีรายงานว่า ในเนื้อปลาสวายนั้นมีโอเมกา 3 คิดเป็นปริมาณแล้วสูงกว่าในปลาทะเลเสียอีก โดยมีถึง 2,570 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนัก 100 กรัม การบริโภค นิยมบริโภคโดยปรุงสดและรมควัน

เกล็ดปลา

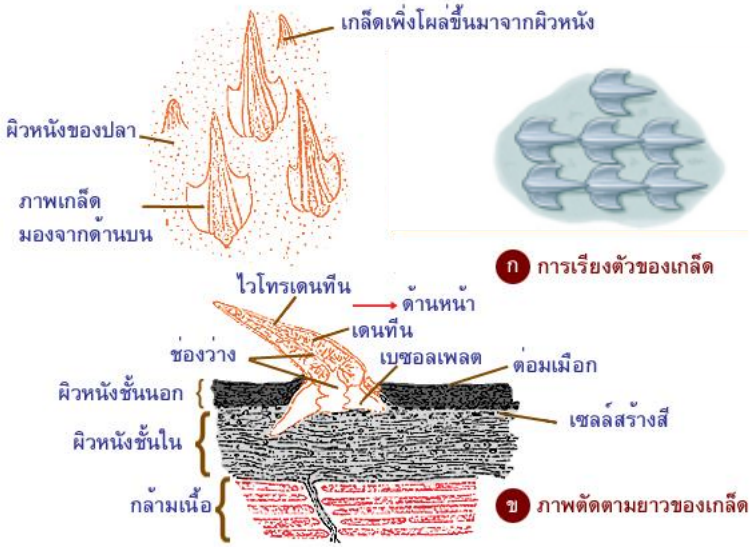
ร่างกายของสัตว์มีกระดูกสันหลังที่ร่างกายปกคลุมด้วยเกล็ด เกล็ดมีต้นกำเนิดมาจาก 2 ส่วน ใหญ่ ๆ ได้แก่ ผิวหนังส่วนด้านในและผิวหนังส่วนด้านนอก สัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูงที่มีเกล็ด ได้แก่ เกล็ดงู ต้นกำเนิดจะมาจากผิวหนังส่วนด้านนอก ซึ่งเรียกว่า epidermal scale ส่วนด้านในเกล็ดปลา จะเรียกว่า dermal scale ต้นกำเนิดนั้นจะมาจากผิวหนังส่วนด้านใน โดยเกิดจากส่วนที่ยื่นออกมา ภายนอกร่างกายแล้วหุ้มตัวปลา จึงเป็นไปได้ว่าเป็นโครงกระดูกด้านนอก exoskeleton หรือเรียกอีก อย่างว่า integumentary skeleton ส่วนในปลามีเกล็ดบางประเภทปกคลุมอยู่ทั่วทั้งลำตัว หัว และ หาง บางชนิดคลุมเฉพาะส่วนลำตัวและ หาง ปลาบางชนิดที่ไม่มีเกล็ด เช่น ปลาดุก ปลาสวาย ปลากด และ ปลาบางชนิดจะมีขนาดของเกล็ดที่เล็กมากและฝังแน่นอยู่ภายในผิวหนัง เช่น ปลาไหล และ ปลา บางชนิดยังมีเกล็ดตามตัวเป็นหย่อมๆ หรือ อาจมีเพียง 2-3 แถวเท่านั้น หรือ แผ่เป็นแผ่นบางๆ ห่อหุ้มรอบตัว และ ยังมีเกล็ดปลาบางชนิดที่ยึดติดแน่นกับผิวหนังและบางชนิดหลุดง่าย ทั้งนี้ขึ้นอยู่ กับวิวัฒนาการของปลาแต่ละชนิด (วิมล, 2540)

1. ชนิดของเกล็ดปลา

เกล็ดปลามีโครงสร้างและส่วนประกอบแตกต่างกันไป อาจแบ่งเกล็ดออกตามลักษณะ โครงสร้างได้ 2 ชนิดใหญ่ๆ (วิมล, 2540 และ อัมพร, 2545) ดังนี้

1.1 เกล็ดปลาแบบพลาคอยด์ (placoid scale)

จะพบได้ในจำพวกปลากระดูกอ่อน เช่น ฉลามและกระเบน เมื่อใช้มือสัมผัสหรือลูบ จากทางหางไปส่วนหัว จะรู้สึกสากๆ ที่ทำให้รู้สึกสาก เพราะมือที่สัมผัสกับเกล็ดขนาดเล็กๆ ที่ปกคลุม รอบๆตัว ซึ่งมีลักษณะคล้ายฟัน (ฟันของปลาฉลามคือส่วนที่เปลี่ยนแปลงมาจากเกล็ดนั่นเอง) เกล็ด แบบนี้มีปลายเป็นหนามยื่นไปทางท้าย ดัง ภาพที่ 3 และ ภาพที่ 4.4



ภาพที่ 3 โครงสร้างของเกล็ดแบบพลาคอยด์

ที่มา: กรวรรณ (2551)

1.2 เกล็ดปลาแบบนอนพลาคอยด์ (non-placoid scale) แบ่งออกเป็น

ก. เกล็ดปลาแบบคอสมอยด์ (cosmoid scale)

พบในปลาโบราณบางชนิดซึ่งกลายเป็นซากติดอยู่ในหิน หรือเรียกว่า ซากดึกดำบรรพ์ (fossil) เป็นปลาจำพวกที่มีอวัยวะคล้ายปอดสำหรับหายใจ เป็นเกล็ดที่มีความแข็งแรงมากกว่าเกล็ดพลาคอยด์ เกล็ดคอสมอยด์มีการเจริญได้เฉพาะขอบของบริเวณใต้ผิวหนังบริเวณโผล่ขึ้นมาด้านนอกจะไม่มีการเจริญ ลักษณะของเกล็ดมีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน (rhomboid) หรือกลม (cycloid) ปัจจุบันนั้นพบได้เพียงในปลาซีลาแคนธ์ และปลามีปอดถูกวิวัฒนาการเกล็ดเหมือนกับแบบปลาชั้นสูง (ภาพที่ 4.3)

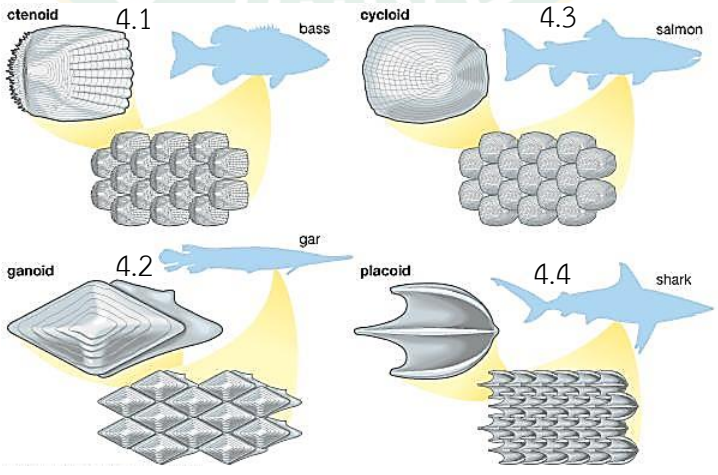
ข. เกล็ดปลาแบบแกนอยด์ (ganoid scale)

เกล็ดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูนหนาๆ มีหนามแหลมโผล่ขึ้นมา มีเกล็ดหนาๆ เรียงติดกันแต่ไม่ซ้อนกัน เกล็ดเหล่านี้มีสารเคมีจำพวกแกโนอีน (ganoine) อยู่ด้วย แยกออกได้เป็น 2 แบบ คือ palaeoniscoid scale และ lepidostroid scale เกล็ดกานอยด์สามารถขึ้นได้ทุกส่วนรวมทั้งด้านที่โผล่ขึ้นมานอกผิวหนัง ปัจจุบัน พบในปลาแพดเดิ้ล ปลาการ์ ปลาหรีด และปลาสเตอร์เจียน (ภาพที่ 4.2)

ค. เกล็ดปลาแบบอีลาสมอยด์ (elasmoid scale) หรือ แบบโบนี-ริดจ์ (bony-ridge scale)

เกล็ดปลาแบบอีลาสมอยด์ส่วนใหญ่เป็นเกล็ดของปลากระดูกแข็งชั้นสูง ซึ่งวิวัฒนาการจากเกล็ดปลาแบบ lepidostroid scale ลักษณะของเกล็ดจะมีลักษณะบางใส หักงอได้ และมีการเจริญเติบโต เพิ่มขนาดได้ทุกบริเวณของเกล็ด ซึ่งแยกออกได้เป็น 2 แบบ คือ เกล็ดที่มีขอบเรียบ (cycloid scale) ซึ่งขอบเกล็ดจะมีลักษณะเรียบ เมื่อลูบส่วนทางหางไปยังส่วนทางหัวจะไม่มีการสากมือ (ภาพที่ 4.3) และเกล็ดขอบหยัก (ctenoid scale) ปลาที่มีลักษณะแบบนี้ ส่วนใหญ่เกล็ดจะติดแน่นกับตัว เป็นปลามีวิวัฒนาการสูง มีก้านครีบแข็ง ทั่วลำตัวมีเกล็ดขนาดใหญ่แต่ไม่เท่ากัน ขอบเกล็ดคล้ายหนามแหลม ขรุขระ เมื่อสัมผัสจะมีการสากมือ (ภาพที่ 4.1) และเกล็ดปลาแบบอีลาสมอยด์จะเรียงเลื่อมซ้อนกัน ด้านหน้าของเกล็ดจะจมลงในของผิวหนัง และมีลักษณะลวดลายแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับวัยของปลา เกล็ดที่โตขึ้นนั้นจะเริ่มจากจุดกึ่งกลาง แล้วแผ่ขยายมีลักษณะเป็นวงๆเรียกว่า วงของเกล็ด (circulur) ซึ่งอาจมีขนาดที่แตกต่างกันของวง ถัดจากวงๆของเกล็ด จะมีวงที่มีสีเข้ม ชัดเจนกว่าวงบริเวณอื่นๆ เรียกว่า วงปี (annulus) สามารถนำมาคำนวณอายุและอัตราการเติบโตของปลาได้ เพราะวงเหล่านี้จะมีขนาดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆในแต่ละฤดูกาล

ในปลาที่เกล็ดเป็นแบบขอบเรียบ มักจะเป็นปลาที่มีวิวัฒนาการต่ำและเกล็ดสามารถได้หลุดง่าย เช่น ปลาตะเพียน ปลาหลังเขียว และปลากะตัก และในปลาที่เกล็ดเป็นขอบหยักส่วนมากเป็นปลาที่มีวิวัฒนาการสูง เกล็ดจะติดแน่นกับลำตัว ก้านครีบจะแข็ง และขนาดของเกล็ดอาจแตกต่างกันทั้งลำตัว เช่น ปลาจวด ปลาหมอ และปลาสาก เป็นต้น



ภาพที่ 4 ลักษณะเกล็ดของปลาในแต่ละชนิด

หมายเหตุ

4.1 เกล็ด ctenoid ในปลาหมอหรือปลากระดูกแข็ง

4.2 เกล็ด ganoid ในปลาการ์

4.3 เกล็ด cycloid ในปลาแซลมอน

4.4 เกล็ด placoid ในปลาฉลาม

ที่มา: Encyclopaedia Britannica (2009)

2. องค์ประกอบทางเคมี

คุณสมบัติของเกล็ดปลานิลนั้น Chun-Yung Huang (2015) พบว่ามีโปรตีน ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 49.42, 0.02,45.18 และ 5.38 ตามลำดับ นอกจากนี้ ฉลองขวัญ และคณะ (2551) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลากะพงแดง ซึ่งประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเถ้าในปริมาณร้อยละ 3.11, 47.87, 0.01 และ 49.01 ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ และ Fahmi *et al*. (2004) รายงานว่าองค์ประกอบของเกล็ดปลา sea bream คือ โปรตีนและสารอนินทรีย์ร้อยละ 51.2, 47.3 ของน้ำหนักแห้ง

หนังปลา

ผิวหนังปลาทำหน้าที่ห่อหุ้มร่างกาย เป็นเกราะป้องกันเชื้อโรค และผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เป็นที่รวมประสาทรับความรู้สึก ช่วยในการหายใจ ขับถ่ายของเสีย และควบคุมการรับและการขับน้ำออกจากตัว นอกจากนี้ ยังเป็นที่อยู่ของต่อมเมือก ต่อมสร้างสี ต่อมพิษ และต่อมเรืองแสง

โครงสร้างของผิวหนังประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้น คือ

1. ผิวหนังชั้นนอกหรือหนังกำพร้า (epidermis) ซึ่งเจริญมาจากเยื่อเอ็กโทเดิร์ม (ectoderm) เป็นเซลล์หลายชั้น จำนวนชั้นขึ้นอยู่กับบริเวณและอายุของปลา ชั้นที่อยู่ลึกลงไปจะเป็นชั้นที่มีชีวิตสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ เรียกชั้นนี้ว่า สตราตัม เจอร์มินาทิวัม (stratum germinativum) ซึ่งสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทนเซลล์ชั้นนอกที่ตายแล้วและหลุดออกไป ในผิวหนังชั้นนี้มีต่อมเมือก ช่วยให้ความชุ่มชื้นและลดแรงต้านทานน้ำ ปลามีเกล็ดจะมีเมือกน้อยกว่าปลาที่ไม่มีเกล็ด นอกจากนี้ยังมีเซลล์สร้างสีอยู่ในชั้นนี้ด้วย

2. ผิวหนังชั้นในหรือหนังแท้ (dermis หรือ corium) เจริญมาจากเยื่อมีโซเดิร์ม (mesoderm) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยตอนบนจะเป็นเยื่อหลวมๆ (stratum vasculare

หรือ spongiosum) และตอนล่างเป็นส่วนที่หนาแน่น (stratum compactum) ชั้นนี้มีเส้นเลือด เส้นประสาท อวัยวะรับความรู้สึกสัมผัส และเป็นชั้นที่ช่วยในการสร้างเกล็ด ส่วนประกอบอื่นๆ ของผิวหนัง ปลาที่เจริญเต็มวัยแล้วชั้นในนี้จะหนากว่าผิวหนังชั้นนอก

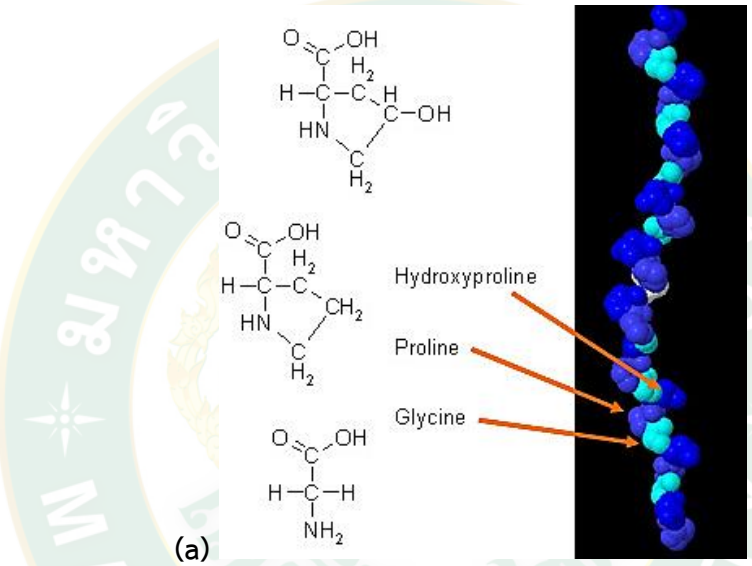
คอลลาเจน

คอลลาเจนคือโปรตีนส่วนใหญ่ที่สามารถพบได้ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน มีมากในร่างกายของสัตว์ที่มีและไม่มีกระดูกสันหลัง โดยมีประมาณร้อยละ 30 ของโปรตีนทั้งหมด มีมากในเอ็น ผิวหนัง กระดูก และกระดูกอ่อน ซึ่งคอลลาเจนจะมีปริมาณจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของเนื้อเยื่อและอายุของสัตว์ (Balian and Bowes, 1977; Bailey and Light, 1989; Poppe, 1992) โดยทั่วไปลักษณะของคอลลาเจนจะมีความคล้ายคลึงกัน จะแตกต่างกันในองค์ประกอบของกรดอะมิโน (amino acid) เล็กน้อย ทำให้คุณสมบัติของคอลลาเจนแตกต่างกัน ปัจจัยหลักๆที่มีผลกระทบต่อความแตกต่าง คือ ชนิดของเนื้อเยื่อและสายพันธุ์ (มาลัยวรรณ และวรรณวิบูลย์, 2549)

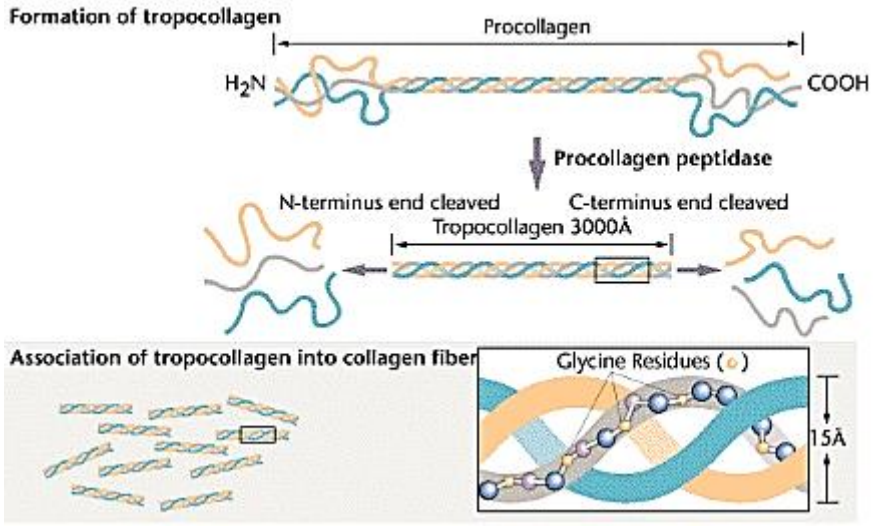
1. โครงสร้างคอลลาเจน

คอลลาเจนเป็นแบบมอนอเมอร์โปรตีนมีลักษณะเป็นทรงกระบอกยาว (long cylindrical protein) มีความยาวของโปรตีน 2800 อังสตรอม (AO) และเส้นผ่าศูนย์กลางของมอนอเมอร์โปรตีน 14-15 AO โดยในมอนอเมอร์โปรตีนมีสายโพลีเปปไทด์ทั้งหมด 3 สาย พันกันเป็นเกลียวรวมกันอยู่ ซึ่งเรียกสายที่พันกันนี้ว่า สายแอลฟา (α-chain) ซึ่งในแต่ละสายประกอบด้วยอะมิโน ตั้งแต่ 1000 ตัวขึ้นไปต่อรวมกัน ซึ่งหลักๆเป็น กรดอะมิโนประเภทไกลซีน (glycine: Gly) ในอัตราส่วน 1: 3 ส่วน กรดอมิโน (imino acid) อัตราส่วน 1 : 4 ซึ่งแบ่งเป็นโพรลีน (proline) 12% และไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyl proline) 11% ของกรดอะมิโนทั้งหมดในโมเลกุลคอลลาเจน (Ward and Courts, 1977) โดยลักษณะของการเรียงตัวกรดอะมิโนจะเกิดขึ้นซ้ำๆ กันของกรดอะมิโน -Glycine-X-Y- โดย X และ Y มักเป็น proline และ hydroxyl proline ตามลำดับ ดังภาพที่ 5 (a) นอกจากนี้อาจเป็นกรดอะมิโนตัวอื่นๆได้ โดยยกเว้นเฉพาะ tryptophan เมื่อเกิดการสังเคราะห์ hydroxyl proline ขึ้นในคอลลาเจน ที่เกิดขึ้นหลังจากการสังเคราะห์ polypeptide chain จากนั้น proline จะเกิดปฏิกิริยา hydroxylation จากการเร่งโดยเอนไซม์ proline hydroxylase ให้เป็น (hydroxyl proline) เพราะต้องใช้ วิตามินซี (vitamin C) สำหรับการทำงานของเอนไซม์ เมื่อมีการขาดของวิตามินซี ส่งผ ลต่อการสร้างเส้นใยคอลลาเจนได้ไม่สมบูรณ์ เช่น เป็นโรคลักปิดลักเปิด (scurvy) (Foegeding *et al*., 1996; Friess, 1998; มาลัยวรรณ และวรรณวิบูลย์, 2549)

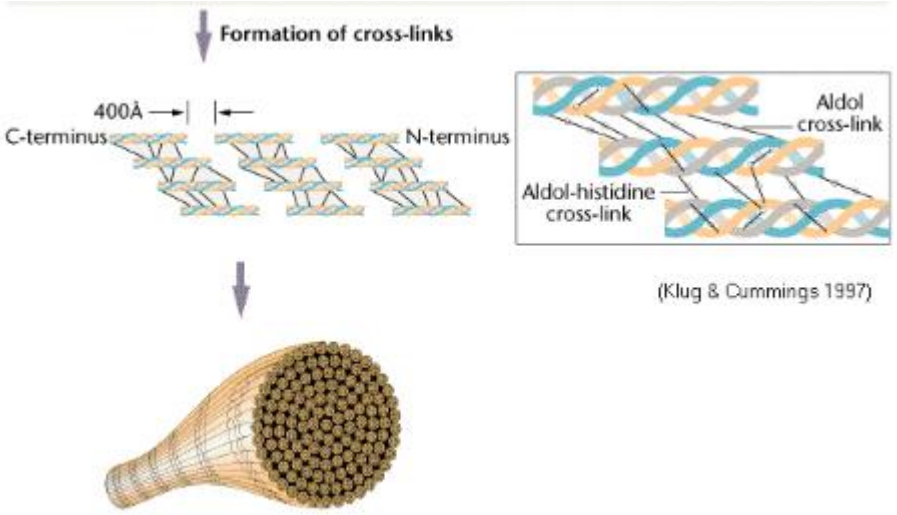
การเกิดปฏิกิริยา oxidation ที่สำคัญ 2 ปฏิกิริยาที่มีในคอลลาเจน โดยการเปลี่ยน proline เป็น hydroxyl proline และเปลี่ยน lysine เป็น hydroxyl lysine ซึ่งปฏิกิริยานี้จะถูกเร่งโดยเอนไซม์ proline hydroxylase และ lysine hydroxylase ตามลำดับ ในระบบเอนไซม์นี้ต้องใช้ oxygen, α-ketoglutarate, ferrous ion และ reducing substance เช่น ascorbate และ ในปฏิกิริยานี้มีตัวเร่งเป็นเอนไซม์ คือ lysyl oxidase (copper containing enzyme) และเกิดการเปลี่ยนแปลงได้เป็น 1-amino-1-carboxy-pentan-5-al เป็นสารที่เกี่ยวกับกระบวนการเกิดพันธะเชื่อมข้ามของคอลลาเจน (Foegeding *et al*., 1996)



(a)



(b)



(c)

ภาพที่ 5 โครงสร้างของ collagen

หมายเหตุ

(a) ลำดับของ (amino acid) ในคอลลาเจน Yamazaki (2010)

(b) โครงสร้างของ Tropocollagen, Klug and Cummings (1997)

(c) การเรียงตัว Tropocollagen กลายเป็นเส้นใยคอลลาเจน Klug and Cummings (1997)

สายโพลีเปปไทด์แต่ละสายจะเริ่มวนเป็นเกลียวจากทางซ้าย (left-hand helix) โดย hydrogen bond ในแต่ละรอบจะมี residues โดยระยะห่างของเกลียวมีค่าเท่ากับ 0.87 นาโนเมตร ดังภาพที่ 5 (a) แล้วสาย polypeptide ทั้ง 3 สายจะพันวนกันเป็นเกลียวโดยเริ่มวนจากทางขวา (right-handhelix) โดยมี hydrogen bond เชื่อมระหว่าง polypeptide chain แต่ละสายโดยสาย peptide ที่บิดรวมกันทั้ง 3 สายนี้เรียกว่า โทรโปคอลลาเจน (tropocollagen) โดยมีระยะห่างระหว่างเกลียวประมาณ 8.6 นาโนเมตร ส่วนน้ำหนักโมเลกุลโทรโปคอลลาเจนหนักประมาณ 300 kDa มีความยาวประมาณ 300 นาโนเมตร และเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ที่ 1.5 นาโนเมตร ดังภาพที่ 5 (b) ส่วนบริเวณที่ไม่เกิดการบิดรวมตัวกันเป็นเกลียว บริเวณนี้เรียกว่า (telopeptide zone) โทรโปคอลลาเจนจะเรียงตัวขนานกันจาก Vander Waals force และ (hydrophobic ทำหน้าที่ เชื่อมระหว่างโทรโปคอลลาเจนทำให้เห็นเป็นลักษณะเส้นใยของคอลลาเจน ดังภาพที่ 5 (c) (Friess, 1998)

2. คุณสมบัติของคอลลาเจน

การที่โครงสร้างของคอลลาเจนมีลักษณะเป็นเกลียวโดยมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อม ดังภาพที่ 5 (b) ทำให้คอลลาเจนมีความแข็งแรงมากขึ้น ความคงตัวสูงขึ้น ทำให้ยากในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น คอลลาเจนจึงไม่สามารถที่จะละลายน้ำได้ (Creightonn, 1993) โดยความแข็งแรงของโมเลกุลคอลลาเจนที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของสะพานทั้งภายในและระหว่างของโมเลกุล (intra และ inter molecular cross linkage) สัตว์ที่มีอายุเพิ่มมากขึ้นความแข็งแรงของคอลลาเจนก็จะสูงตามเนื่องจากมีปริมาณสะพานเชื่อมเพิ่มมากขึ้น (Foegeding *et al.*, 1996; Friess, 1998; มาลัยวรรณ และวรรณวิบูลย์, 2549)

ในส่วนคอลลาเจนที่เป็นโปรตีนที่ไม่สามารถละลายในเบสหรือกรดเจือจาง แต่จะเกิดการพองตัว แต่เมื่อความเข้มข้นของเบสหรือกรดมากยิ่งขึ้นจะทำให้โอกาสการละลายสูงขึ้น ทั้งนี้เพราะพันธะเชื่อมของคอลลาเจนได้ถูกสลายไปบางส่วน ถึงแม้ในสภาวะเป็นกลาง โครงสร้างของคอลลาเจนจะมีความหนาแน่นและแข็งแรงสูง แต่สามารถที่จะแตกตัวออกมาในโมเลกุลเดี่ยวๆ จากการทำให้ ionic strength และ pH ลดลง ทำให้เกิดการขยายตัวจนสามารถละลายได้ แต่โมเลกุลนั้นยังคงสภาพที่เดิมไว้ (native form) โดยยังคงมีฮีลิกซ์ 3 สายอยู่ และหากทำให้สภาวะดังกล่าวกลับมาอยู่ในสภาวะเดิม คอลลาเจนก็อาจจะสามารถกลับคืนสู่สภาพที่เดิมได้ แต่สิ่งสำคัญต้องหลีกเลี่ยงความร้อนเพราะสายฮีลิกซ์เสียสภาพที่อุณหภูมิระหว่าง 35-40 ℃ สิ่งนี้เป็นสิ่งที่บ่งชี้อุณหภูมิในการหดตัว (shrink temperature) ของคอลลาเจน และจะเกิดอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิวิกฤต (critical temperature) ซึ่งตรวจวัดจากปริมาณของกรดอะมิโน pyrrolidine-residue, proline และ hydroxyproline จากคอลลาเจน เช่น การหดตัวของคอลลาเจนในอุณหภูมิวิกฤตที่เกิดขึ้นในปลากล้ามเนื้อวัว และเอ็นที่หางหนู โดยอุณหภูมิอยู่ที่ประมาณ 45 ℃ 61 ℃ และ 64 ℃ ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความร้อนสูงกว่าอุณหภูมิที่จะทำให้คอลลาเจนหดตัวได้ คอลลาเจนจะกลายเป็นเจลาติน แต่ในการเปลี่ยนแปลงนี้ต้องมีน้ำอยู่ในขณะให้ความร้อนด้วย (Bendall, 1964; มาลัยวรรณ และ วรรณวิบูลย์, 2549)

3. ชนิดของคอลลาเจน

ปัจจุบันสามารถจำแนกคอลลาเจนออกได้เป็น 25 ชนิด โดยการแยกตามลักษณะลำดับของกรดอะมิโนในมวลโมเลกุล ได้แก่ คุณสมบัติ ความยาวของสายฮีลิกซ์ ขนาดของส่วนที่ไม่เป็นฮีลิกซ์ (non-helix portion) และส่วนประกอบของหน่วยย่อย (subunit) (Friess, 1998) นอกจากนี้แยกตามข้อมูลลำดับของดีเอ็นเอ หรือโปรตีน (Olsen *et al.*, 2003) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของคอลลาเจน ส่วนประกอบของหน่วยย่อย และตำแหน่งที่พบของคอลลาเจน

Collagen Type	Chain composition	Tissue distribution
I	$(\alpha 1(I))_2\ \alpha 2(I)$, trimer $(\alpha 1(I))_3$	Tendon, dentin, large vessels, dermis, skin, cornea, intestine, fibrocartilage, bone, uterus,
II	$(\alpha 1(II))_3$	Vitreous, hyaline, cartilage, notochord and nucleus pulpous
III	$(\alpha 1(III))_3$	Gingiva (usually coexists with type I except in tendon, cornea, bone) heart valve, intestine, dermis, uterine wall and large vessels,
IV	$(\alpha 1(IV))_2\alpha 2(IV)$	In all organs as b asement membranes
V	$\alpha 1(V)\ \alpha 2(V)(3(V)$ or $(\alpha 1(V))_2\alpha 2(V)$ or $(\alpha 1(V))_3$	Cornea, placental membranes, bone, large vessels, hyaline cartilage, gingival, tendons, interstitial tissues
VI	$\alpha 1(VI)\ \alpha 2(VI)\ \alpha 3(VI)$	Descemet's membrane, skin, nucleus pulposus, heart muscle, liver, kidney, perichondrium
VII	$(\alpha 1(VII))_3$	Skin, placenta, lung, cartilage, cornea, epidermal/dermal junction
VIII	$\alpha 1(VIII)\ \alpha 2(VIII)$ chain organization of helix unknown	Produced by endothelial cells, Descemet's membrane
IX	$\alpha 1(IX)\ \alpha 2(IX)\ \alpha 3(IX)$	Cartilage
X	$(\alpha 1(X))_3$	Mineralizing cartilage and Hypertrophic
XI	$1\alpha 2\alpha 3\alpha_1$ or $\alpha 1(XI)\ \alpha 2(XI)\ \alpha 3(XI)$	Cartilage, vitreous humour, intervertebral disc
XII	$(\alpha 1(XII))_3$	Bovine periodontal, Chicken embryo tendon, tendons and fibril associated collagen, ligament

ตารางที่ 1 ชนิดของคอลลาเจน ส่วนประกอบของหน่วยย่อย และตำแหน่งที่พบของคอลลาเจน (ต่อ)

Collagen type	Chain composition	Tissue distribution
XIII	-	Bone, cetal skin, epidermis, intestinal mucosa, nail root cells and hair follicles,
XIV	-	Same as Type I
XV	-	Homology to Type XVIII, many tissues
XVI	-	Under study
XVII	-	Skin and hemi desmosomes
XVIII	-	Kidney and Liver
XIX	-	Embryonic tissues, Eyes, brain and testes
XX - XXV	-	-

ที่มา: Friess (1998); Olsen *et al.,* (2003)

คอลลาเจน type I ส่วนใหญ่พบเป็นสัตว์ชั้นสูง บริเวณส่วนของเอ็น หนัง และกระดูก ประกอบด้วยสายฮีลิกซ์ 3 สาย ได้แก่ สาย α1(I) จำนวน 2 สาย, สาย α2(I) จำนวน 1 สาย ซึ่งสาย α1 และα2 จะแตกต่างกันของส่วนประกอบของกรดอะมิโน หรืออาจจะสามารถพบสาย α1(I) ทั้ง 3 สายแต่โอกาสพบได้นั้นน้อยมาก

คอลลาเจน type II ส่วนใหญ่เจอได้ในส่วนที่เป็นกระดูกอ่อน ซึ่งจะประกอบด้วยสาย α1(II) จำนวน 3 สาย หรือลักษณะอาจเหมือนกับสาย α1(I) นอกจากนี้ (hydroxyl lysine) ยังมีปริมาณสูงกว่าคอลลาเจน type I ถึงสามเท่าตัว

คอลลาเจน type III ส่วนใหญ่เจอในปริมาณน้อยมาก (ร้อยละ 10) จะเจอมากในบริเวณเส้นเลือด โดยคอลลาเจน type III จะจับกับคอลลาเจน type I ดังนั้นในการสกัดคอลลาเจน type III จะพบคอลลาเจน type I ปนเข้ามาเล็กน้อย (Piez, 1985)

คอลลาเจน type IV ส่วนใหญ่นั้นจะจำเพาะเจาะจง มีเฉพาะในร่างแหของเส้นใยฝอยที่เกาะกันหลวมๆ ตรงบริเวณนอกเซลล์ที่มีเยื่อแผ่นบางๆ อยู่ (loose fibrillar network ใน basement membrane)

ส่วนสำหรับคอลลาเจนชนิดอื่นๆนั้นมีแต่มีในปริมาณที่น้อย โดยมีการเชื่อมโยงกับโครงสร้างทางชีววิทยาที่จำเพาะ ในการศึกษาส่วนใหญ่นิยมศึกษาคอลลาเจน type I เนื่องจากมีปริมาณมาก และมีการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะทางการแพทย์

คอลลาเจนจากเกล็ดปลา

1. การสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลา

จากงานวิจัยของ Ikoma *et al*. (2003 b) ได้ทำการสกัดคอลลาเจน type I จากเกล็ดปลา *Pagrus major* และ *Oreochromis niloticas* โดยกำจัดโปรตีนที่ไม่ต้องการบริเวณผิวหน้าของเกล็ดปลาโดยล้างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10% โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวน 2 รอบจากนั้นทำการกำจัดแคลเซียมโดยใช้ EDTA 0.5 mol/l เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.01mol/l เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อแยกสกัดคอลลาเจนที่ละลายได้ในกรด และนำส่วนที่ไม่สามารถละลายได้ในกรดมาสกัดโดยใช้เอนไซม์เปปซินร่วมกับกรด ใช้อัตราส่วนเอนไซม์เปปซินต่อส่วนที่ไม่สามารถละลายในกรดปริมาณ 1:6 โดยน้ำหนัก และใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.01 mol/l เป็นเวลา 72 ชั่วโมง สุดท้ายนำคอลลาเจนที่ละลายได้ในกรดและคอลลาเจนที่ไม่ละลายในกรดมาทำให้บริสุทธิ์โดยการปรับ pH ให้เท่ากับ 7 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Fahmi *et al*. (2004) ใช้เกล็ดปลา sea bream เป็นวัตถุดิบในการศึกษาการผลิตคอลลาเจนเปปไทด์ที่มีผลในการยับยั้งเอนไซม์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนสาร angiotensin I (angiotensin I converting enzyme: ACE, EC3.4.15.1) เป็น angiotensin II ซึ่งมีผลทำให้ภาวะความดันโลหิตสูง (Fujita and Yoshikawa, 1999) โดยล้างทำความสะอาดเกล็ดปลาด้วยสัดส่วนเกล็ดแห้ง 100 มิลลิกรัมต่อสารละลาย sodium alginate 1 ลิตร ทำการล้าง 10 ครั้ง ด้วยน้ำประปา ทำการกำจัดแคลเซียมโดยแช่เกล็ดปลาในสารละลายกรด HCL 0.6 N ที่อุณหภูมิปกติ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ 10% (w/v) จากผลการทดลองพบว่า ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงไปขององค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลาดังตารางที่ 2 และย่อยเกล็ดปลาต่อในสภาวะเป็นด่าง โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส พบว่าสารไฮโดรไลเซตที่ถูกย่อยเปปไทด์สูงถึง 92%

ฉลองขวัญ (2551) ได้ทำการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลากะพงและปลานิล รวมถึงคุณสมบัติบางประการ พบว่า องค์ประกอบหลักของเกล็ดปลากะพงแดงและเกล็ดปลานิล คือ โปรตีนและเถ้า และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคอลลาเจนที่มีขนาดเปปไทด์เล็ก คือ การสกัดคอลลาเจน

ด้วยกรดร่วมกับความร้อน ตามด้วยกรดร่วมกับเอนไซม์เปปซิน ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคอลลาเจนที่มีขนาดเปปไทด์ใหญ่ คือ การสกัดคลลาเจนด้วยกรดร่วมกับเอนไซม์เปปซินโดยไม่ผ่านการสกัดด้วยกรดร่วมกับความร้อน ส่วนปริมาณผลผลิตที่ได้ของคอลลาเจน type I จากเกล็ดปลากะพงแดงและเกล็ดปลานิล มีค่าเป็น 0.83% และ 0.82% ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่แตกต่างกันนัก แต่เป็นปริมาณผลผลิตที่น้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากไม่ได้ทำการสกัดเกล็ดปลาซ้ำ

มะลิวัลย์ และคณะ (2558) ใช้เกล็ดปลากระบอกดำ (*Liza subviridis)* มาสกัดคอลลาเจน 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, a1 และ a2 ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 233 122 และ 110 kDa ตามลำดับ

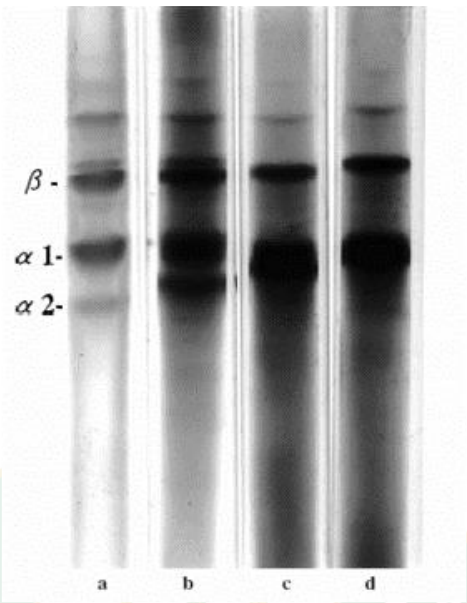
ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลา sea bream ก่อนและหลังการกำจัดแคลเซียม (% w/w)

องค์ประกอบทางเคมี	เกล็ดปลาสด	เกล็ดปลาภายหลังการกำจัดแคลเซียม
โปรตีน	51.2	70.9
ไขมัน	0.1	0
สารอินทรีย์อื่นๆ	1.4	24.4
สารอนินทรีย์	47.3	4.7

ที่มา: Fahmi *et al.,* (2004)

2. คุณสมบัติของคอลลาเจนจากเกล็ดปลา

คอลลาเจนจากเกล็ดปลาจะเป็น คอลลาเจน type I โดยจากการเปรียบเทียบกันของคอลลาเจน type I จากหนังหมูกับคอลลาเจนจากเกล็ดปลา 3 ชนิด โดยการทดลองของ Nagai *et al*. (2004) พบว่าคอลลาเจนจากเกล็ดปลาเป็นคอลลาเจน type I ซึ่งประกอบด้วย (α1) 2 α2 ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 การเปรียบเทียบกันของ collagen Type I กับคอลลาเจนหนังหมูและเกล็ดปลา

หมายเหตุ

(a) คอลลาเจนหนังหมู (b) คอลลาเจนเกล็ดปลา sardine (c) คอลลาเจนจากเกล็ดปลา red sea bream และ (d) คอลลาเจนเกล็ดปลา Japanese sea bass

ที่มา: Nagai *et al*., (2004)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของกรดอะมิโน (residues/1000 total residues)

Resource	*Porcine dermis*[1]	*Pagrus major*[1]	*Oreochromis niloticas*[1]	*Sardine*[2]	*Red sea bream*[2]	*Japanese sea bass*[2]	*Black drum*[3]	*Sheepshead*[3]
Hyproxyproline	97	73	83	86	87	85	87.9	86.4
Aspartic acid	44	43	47	47	46	48	ND	ND
Asx = Asp + Asn	ND	ND	ND	ND	ND	ND	41.6	41.5
Threonine	16	24	24	24	26	25	25.3	24.8
Serine	33	41	36	41	39	42	37.0	38.2
Glutamic acid	72	71	72	71	72	75	ND	ND

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของกรดอะมิโน (residues/1000 total residues) (ต่อ)

Resource	Porcine dermis[1]	*Pagrus major*[1]	*Oreochromis niloticas*[1]	*Sardine*[2]	*Red sea bream*[2]	*Japanese sea bass*[2]	*Black drum*[3]	*Sheepshead*[3]
Glx = Gln + Glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	63.9	63.5
Proline	123	107	110	111	109	108	111	113
Glycine	341	346	336	340	340	341	345	347
Alanine	115	133	126	115	116	114	124	124
Half-cystine	0	0	0	2	2	2	0.0	0.0
Valine	22	19	20	18	19	18	18.6	16.2
Methionine	6	15	12	13	12	12	11.6	12.2
Isoleucine	10	7	11	11	10	10	6.7	7.0
Leucine	22	18	21	22	22	23	18.7	17.7
Tyrosine	1	3	3	3	2	2	1.7	1.8
Phenylalanine	12	13	13	12	13	13	12.4	12.9
Hydroxylysine	7	7	7	ND	ND	ND	7.4	8.1
Tryptophan	ND	ND	ND	0	0	0	ND	ND
Lysine	27	26	25	25	23	24	30.2	29.7
Histidine	5	7	5	7	7	6	5.9	5.4
Arginine	48	49	49	52	55	52	51.5	51.0
Total	**1000**	**1000**	**1000**	**1000**	**1000**	**1000**	**1000**	**1000**
Imino acid residues (Pro + Hyp)	220	180	193	197	196	193	199	199
Td (OC)	40.7	29.8	35.5	28.5	28.0	28.0	ND	ND

ND, no data

ที่มา: Ikoma *et al.,* (2003 b); Nagai *et al.,* (2004); Ogawa *et al.,* (2004)

คอลลาเจนจากหนังปลา

1. การสกัดคอลลาเจนจากหนังปลา

จากงานวิจัยของ ปวเรศวร์ และนลินรัตน์ (2558) ได้สกัดคอลลาเจนจากหนังปลานิลโดยใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.25, 0.5 และ 0.75 โมลาร์ พบว่าการใช้กรดอะซิติกเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ให้ปริมาณผลผลิตคอลลาเจนสูงที่สุดคือ ร้อยละ 39.23 และผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของคอลลาเจนที่สกัดได้จากการทดลอง พบว่าคอลลาเจนจากหนังปลานิลทุกชุดการทดลองมีการดูดกลืนแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 232 นาโนเมตร มีปริมาณกรดอะมิโน ได้แก่ ไกลซีนสูงที่สุด รองลงเป็นโพลีน อะลานีน และกรดกลูตามิกตามลำดับ สามารถละลายได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่าร้อยละ 2 และการละลายจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 4 และละลายได้ดีในสารละลายที่มีสภาวะเป็นกรด (pH 1 – 4) โดยการละลายจะลดลงเมื่อ pH เพิ่มขึ้นจนไม่ละลายที่สภาวะเป็นกลาง (pH 7) ความหนืดของสารละลายคอลลาเจนลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 4°C และคงที่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40 °C ผลการศึกษารูปแบบและโครงสร้างของโปรตีนโดยการวิเคราะห์ SDS-PAGE และ FTIR พบว่าคอลลาเจนจากหนังปลานิลเป็นชนิด Type I และมีโครงสร้างเป็นแบบเกลียวสามสาย

นรินทร์ และวรางคณา (2558) ศึกษาสมบัติของคอลลาเจนที่ละลายด้วยกรดจากหนังปลาสลาด พบว่ามีปริมาณความชื้นร้อยละ 62.42±1.40 โปรตีน 34.19±1.22 ไขมัน 0.81±0.24 และเถ้า 1.01±0.42 โดยน้ำหนักสด วิธีการสกัดคอลลาเจน โดยใช้กรด acetic acid ความเข้มข้น 0.5 M นาน 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 38.25±2.30 โดยน้ำหนักแห้ง ประกอบด้วยไฮดรอกซี- โปรลีนร้อยละ 63.37 (w/w) โดยน้ำหนักคอลลาเจนแห้ง มีค่า transition temperature (Tmax) เท่ากับ 33.15± 0.03 °C สามารถดูดกลืนแสงยูวีสูงสุดที่ความยาวคลื่น 233 nm มีค่าการละลายสูงสุดที่ pH 1 ใน 0.5 M acetic acid มีค่าการละลายลดลงในช่วง pH 6-8 และความเข้มข้นของ NaCl สูงกว่าร้อยละ 2 (w/v) และจาก FTIR spectra พบว่าคอลลาเจนที่ละลายด้วยกรดมีโครงสร้างเกลียวสามสายประกอบด้วยกรดอะมิโนไกลซีน โปรลีน และไฮดรอกซีโปรลีนร้อยละ 33.7, 11.3 และ 7.5 ตามลำดับ

ตุลยา (2554) ศึกษาการเตรียมและความคงตัวทางกายภาพที่ของตำรับครีมคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลานิลสด พบว่าผลิตภัณฑ์ครีมคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลานิลสดความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักที่เตรียมได้ มีลักษณะเป็นครีมเนื้อแข็งละเอียด สีขาวอมเหลือง มีความเป็นกรดอ่อน (pH~5) และความหนืดเหมาะสมต่อสภาพที่ผิวหนัง มีความคงสภาพทางกายภาพและเคมีที่ดีหลังผ่านการแช่แข็งและการละลายจำนวน 5 รอบ และมีอายุการเก็บอย่างน้อย 90 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 25 °C ดังนั้นครีมคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลานิลสดความเข้มข้นร้อยละ 1 มีความคงตัวทางกายภาพที่ดี

ณัฐพล และคณะ (2553) ได้หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคอลลาเจนหยาบจากหนังปลาสวายเผาะ จากกรดอะซิติก โดยในการทดสอบผลของปัจจัยอิสระ 2 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดอะซิติก และเวลาในการสกัดต่อปริมาณผลผลิตของคอลลาเจน พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการ

สกัดคอลลาเจน คือ การใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 0.5 M เป็นเวลา 19 ชั่วโมง ทั้งนี้ quadratic polynomial model สามารถนำมาใช้ทำนายค่าความเข้มข้นของคอลลาเจนหยาบได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสิทธ์ และคณะ (2544) ศึกษาการสกัดคอลลาเจนจากหนังปลากระพงข้างเหลือง พบว่ามีปริมาณคอลลาเจนส่วนที่ละลายในกรดและส่วนที่ละลายในเปปซินร้อยละ 9 และ 4.7 ของน้ำหนักเปียกตามลำดับ โดยคอลลาเจนทั้งสองส่วนประกอบด้วยสายโซ่แอลฟา 2 ชนิดคือ α 1 และ α 2 ซึ่งสามารถจำแนกเป็นคอลลาเจนชนิด type I ที่ไม่มีพันธะไดซัลไฟด์ในโมเลกุล คอลลาเจนที่ละลายในเปปซินประกอบด้วยโมเลกุลขนาดใหญ่ที่เกิดจากการเชื่อมประสานกันระหว่างสายน้อยกว่าคอลลาเจนที่ละลายในกรด โครงสร้างเปปไทด์ของคอลลาเจนซึ่งได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 มีลักษณะแตกต่างกันบางประการ แต่แตกต่างจากคอลลาเจนชนิด type I จากหนังของลูกวัวอย่างชัดเจนซึ่งบ่งชี้ถึงระดับความแตกต่างของลำดับกรดอะมิโนและโครงสร้างของคอลลาเจนที่ได้จากหนังปลากระพงข้างเหลืองและหนังของลูกวัว คอลลาเจนที่ละลายในกรดและเปปซินมีค่าการละลายสูงสุดในกรดอะซิติก ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ที่พีเอช 3 และ 4 ตามลำดับ แต่การละลายจะลดลงอย่างชัดเจนที่สภาวะมีเกลือเข้มข้น ร้อยละ 2 และ 3 สำหรับคอลลาเจนที่ละลายในกรดและเปปซินตามลำดับ

การนำคอลลาเจนมาประยุกต์ใช้

1. ลดน้ำหนัก

กลไกการออกฤทธิ์คาดว่า คอลลาเจนไฮโดรไลเซต (hydrolyzed collagen) จะกระตุ้นการหลั่งของ growth hormone ที่เกี่ยวข้องกับการเสริมสร้างกล้ามเนื้อในร่างกาย หรืออาจช่วยทำให้ growth hormone เข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น โดยการหลั่งของฮอร์โมนนี้จะเกิดในช่วงแรกของการหลับ (phase of deep sleep) และคอลลาเจนเป็นโปรตีนซึ่งมีส่วนร่วมในการสร้างเนื้อเยื่อ ทำให้ร่างกายนำคอลลาเจนและสารอาหารอื่นๆ มาใช้ในการสร้างกล้ามเนื้ออย่างมีประสิทธิภาพที่เพิ่มขึ้น ส่วนอาหารที่จะนำไปสร้างไขมันมีน้อยลง เป็นผลให้น้ำหนักลดลงโดยที่ไม่สูญเสียกล้ามเนื้อ (Mahosot, 2017)

การนำผลิตภัณฑ์เสริมอาหารคอลลาเจนไฮโดรไลเซตมาทดสอบในคนอังกฤษ พบว่าการใช้ผลิตภัณฑ์คอลลาเจนไฮโดรไลเซตของอาสาสมัครในระยะเวลา 56 วัน ทำให้ขนาดของเอวลดลงเฉลี่ย 5.09 ซม. (2 นิ้ว) และทำให้น้ำหนักไขมันในร่างกายลดลง 6.64% นอกจากนี้พบว่ายังมีส่วนช่วยในการนอนหลับพักผ่อนและช่วยบำรุงผิวพรรณ (Slendernight, 2007)

2. บำรุงเล็บ ผม และผิวหนัง

คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่สามารถพบได้ในร่างกายสัตว์ ประมาณ 30 – 65% พบตามเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ เช่น กล้ามเนื้อ ผิวหนัง กระดูกอ่อน ข้อต่อ ผม และอวัยวะทุกส่วน เมื่อโปรตีนเหล่านี้ถูกทำลาย จะทำให้คอลลาเจนในร่างกายลดลงตามไปด้วย ทำให้เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนผิวหนัง ข้อต่อเส้นเอ็นไม่แข็งแรง และสูญเสียมวลของกล้ามเนื้อแล้ว จึงทำให้มีการสะสมไขมันมาแทน ส่วนใหญ่ในอายุตั้งแต่อายุ 25 ปี ระดับคอลลาเจนในร่างกายจะมีการลดลงประมาณ 1.5% ต่อปี และเมื่ออายุ 45 ปี อาจสูงถึง 30% ซึ่งการลดลงนี้เป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการ aging (นิสา, 2550; Venus, 2007)

สำหรับการบำรุงผม เล็บ และผิวหนัง โดยใช้คอลลาเจนไฮโดรไลเซต จากการรายงานพบการว่าใช้ได้ผล ส่วนการศึกษาผลข้างเคียงนั้นยังไม่มีการศึกษา ส่วนกลไกการทำงานยังไม่ทราบแน่ชัด เพราะส่วนประกอบของกรดอะมิโนของคอลลาเจนไฮโดรไลเซต (เหมือนกับคอลลาเจน จึงช่วยในการกระตุ้นสร้างคอลลาเจนมาแทนที่ส่วนที่ถูกสลายไป อาจไม่ได้ช่วยทำให้ผิวกระชับ คาดว่าเข้ามาแทนที่คอลลาเจนที่เป็นส่วนประกอบของมวลบริเวณผิวหนังและอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของร่างกายที่คอลลาเจนถูกทำลายไป โดยคอลลาเจนไฮโดรไลเซต จะถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กแล้วเข้าสู่กระแสเลือดไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย (นิสา, 2550)

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

เกล็ดปลานิล (Nile Tilapia*: Oreochromis niloticus*) และหนังปลาสวาย (Striped Catfish: *Pangasianodon hypophthalmus*) จากฐานเรียนรู้ปลาบึก คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย นำมาล้างทำความสะอาดด้วย 10% NaCl และน้ำประปาเพื่อกำจัดเมือกและกลิ่นคาว จากนั้นตากแห้งที่อุณหภูมิ 60°C จนมีความชื้นประมาณ 15-20% และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28±2 °C) เพื่อเป็นตัวอย่างในการทดลอง

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลาและหนังปลา

นำเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (AOAC, 2000)

1. การวิเคราะห์ความชื้นจะใช้ วิธีการทำให้แห้ง จากนั้นคำนวณหาปริมาณน้ำที่สูญเสียไปหลังจากที่ทำให้วัสดุแห้งแล้ว

2. การวิเคราะห์โปรตีนโดยการเปลี่ยนไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่างให้กลายเป็น $(NH_4)_2SO_4$ นำหนังปลาสวายและเกล็ดปลานิลไปย่อยใน H_2SO_4 เข้มข้น 95% แล้วเติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 40% ให้ไนโตรเจนเปลี่ยนไปอยู่ในรูป NH_3 แล้วนำมากลั่นเพื่อให้เกิดก๊าซ NH_3 ระเหยแยกออกมา แล้วทำการจับก๊าซ NH_3 จุดนี้ด้วยสารละลาย H_2SO_4 ในปริมาณที่แน่นอนพร้อม Indicator จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาไทเทรต ด้วยสารละลาย 0.1 NaOH ที่ทำให้เป็นกลางด้วยปริมาณของที่ได้จากไนโตรเจนในอาหาร จากนั้นคำนวณหาปริมาณของไนโตรเจนแล้วนำไปหาเปอร์เซ็นต์ crude protein

3. การวิเคราะห์ไขมัน โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายไขมันที่เป็น organic solvent ได้แก่ hexane โดยใช้ชุดอุปกรณ์ที่เรียกว่า soxhlet extract ต่อเข้ากับระบบเครื่องทำความร้อนและเครื่องควบแน่น (condenser) เปิดระบบน้ำ เพื่อช่วยให้เกิดการควบแน่น อุปกรณ์ทั้งหมดรวมชุดเรียกว่า extraction apparatus

4. การวิเคราะห์เถ้า (ash) หมายถึง ปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร หลังจากที่เผาผลาญสารอินทรีย์หมดแล้ว ในการหามักจะใช้ความร้อนเผาผลาญสารอินทรีย์ ดังนั้นค่าเถ้าที่ได้จึงไม่จำเป็นต้องเท่ากับปริมาณสารเกลือแร่ทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารตอนแรก สารอนินทรีย์หรือเกลือแร่

บางส่วน จะสูญเสียไปโดยการระเหยเพราะความร้อนที่ใช้ในการเผา ค่าเถ้าที่ได้จึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพที่ของอาหารนั้นๆ

การกำจัดแคลเซียมออกจากเกล็ดปลา

ดัดแปลงวิธีการจาก Fahmi *et al*. (2004) โดยแช่เกล็ดปลาแห้งในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.2 นอร์มอล ในอัตราส่วนเกล็ดปลานิลต่อสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเท่ากับ 1:6 บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 6 ชั่วโมง และกวนเป็นประจำทุกชั่วโมง จากนั้นล้างเกล็ดปลาจนมี ค่า pH เท่ากับ 7 แล้วจึงนำไปผ่านขั้นตอนการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนและเม็ดสีต่อไป

การกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนและเม็ดสีออกจากเกล็ดปลาและหนังปลา

ใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก ฉลองขวัญ และคณะ (2551) โดยแช่เกล็ดปลาและหนังปลาในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ด้วยอัตราส่วนเกล็ดปลาต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1:5 โดยทำการกวนตลอดและเปลี่ยนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นประจำทุก 2 ชั่วโมง จนครบ 6 ชั่วโมง จากนั้นล้างเกล็ดปลาและหนังปลาด้วยน้ำกลั่นจนมีค่า pH เท่ากับ 7 จึงนำไปสกัดคอลลาเจน

การสกัดคอลลาเจน

1. การสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย

วิธีการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล ตามวิธีดัดแปลงของ ฉลองขวัญ และคณะ (2551) โดยสกัดคอลลาเจนด้วยกรดอะซิติก และหนังปลาสวาย ตามวิธีการ นรินทร์ และวรางคณา (2558) โดยสกัดคอลลาเจนด้วยกรดอะซิติก จากนั้นคำนวณหาปริมาณผลผลิตของคอลลาเจนที่สกัดได้ดังนี้

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

2. เปรียบเทียบต้นทุนการผลิตคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนจากเชิงพาณิชย์

การวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน

วิเคราะห์ปริมาณของคอลลาเจน โดยวิเคราะห์จากปริมาณ hydroxyl proline ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาเชียงใหม่โดย โดยวิธีการ AOAC official method 990.26 (2000) detected by GC-MS with factor 8.0

การวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนจากปริมาณ hydroxyl proline นั้น เนื่องจากในคอลลาเจนจะมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนหลัก ๆ ได้แก่ glycine, proline และ hydroxyl proline ซึ่งปริมาณ hydroxyl proline มีปริมาณน้อยที่สุด จึงใช้เป็นตัวกำหนดของปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

โดยวิธี scavenging activity of ABTS radical (Re *et al*., 1999) ดังนี้ ผสมน้ำยา ABTS ลงในหลอดที่มีสารทดสอบ ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 6 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณหาค่าการขจัดอนุมูล ABTS เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารทดสอบกับความเข้มข้นของ trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่แสดงฤทธิ์เท่ากัน (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC) และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % inhibition ดังสมการ

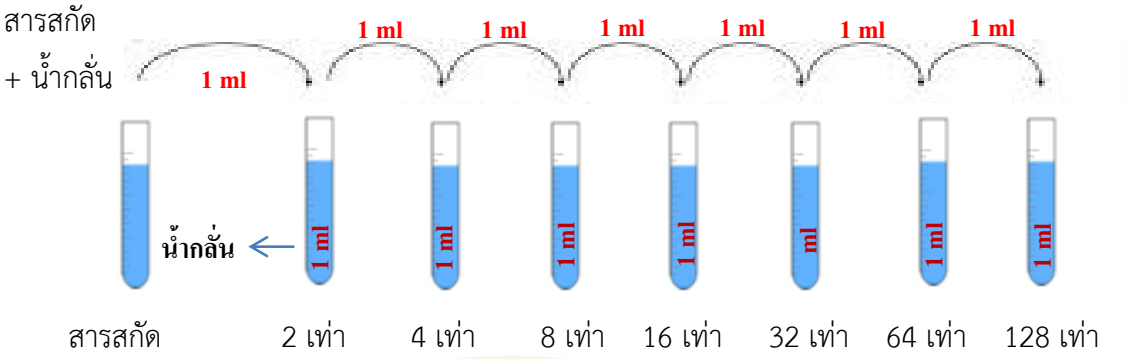
% Inhibition = [(A734 control – A 734 test sample) / A 734 control] x 100

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิด

วิธี disc diffusion Inhibition ด้วยการวัดค่า clear zone มีหน่วยเป็น (มิลลิเมตร) ถูกนำมาใช้ในการประเมิน โดยชั่งคอลลาเจนผงมาละลายกับน้ำกลั่น ใช้ paper disc จุ่มสารละลายคอลลาเจน จากนั้นนำมาทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Propionibacterium acnes* จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาอ่านผล มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (mm)

การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดคอลลาเจนในการยับยั้งเชื้อ minimal inhibitory concentration (MIC)

1) ทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดลงทีละครึ่งโดยวิธีการ Two – Fold dilution จากความเข้มข้นของสารสกัดคอลลาเจนที่สูงลดลงจนใกล้ถึง 0 mg/ml ให้ได้ทั้งหมด 8 ความเข้มข้นหรือ 128 เท่า โดยมีชุดควบคุมคือน้ำกลั่น และยาปฏิชีวนะ ดังภาพที่ 7 ข้างล่าง



ภาพที่ 7 วิธีการ Two – Fold dilution

การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดคอลลาเจนที่สามารถฆ่าเชื้อ (minimal bactericidal concentration (MBC)

นำผลการทดสอบจาก (MIC) ที่ความเข้มข้นของสารสกัดต่าง ๆ ที่มีเชื้ออยู่ด้วยนำมาทดสอบอีกครั้ง เพื่อทดสอบเป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดคอลลาเจนที่สามารถเชื้อจุลินทรีย์ฆ่าจุลินทรีย์ได้จริง โดยนำผลการทดสอบของแต่ละหลอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง (nutrient agar; NA) อีกครั้ง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาอ่านผล

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Pomerantz (1963) ดังนี้ เตรียม 1-tyrosine substrate โดยมี 25 ไมโครลิตร (ul) ของ 0.5 มิลลิโมลาร์ (mM) L-DOPA, 25 ul ของ 10 mM 1-tyrosine, 875 ul ของ 50 mM ของ phosphate buffer (pH 6.5) และ 25 ul ของสารสกัดที่จะทดสอบที่ยังไม่เติมเอนไซม์ลงไป เตรียมสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงใน 96-well microplate ผสมสารสกัดและสารลายให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 °C และเติม 50 ul ของ mushroom tyrosinase (1600 u/ml) บ่มต่ออีก 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 °C จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 475 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เป็นร้อยละ และใช้ kojic acid เป็นสารมาตรฐาน

การพัฒนาผลิตภัณฑ์

นำคอลลาเจนที่สกัดได้ไปพัฒนาตำรับเครื่องสำอาง โดยตั้งตำรับครีมเบสที่มีส่วนประกอบของสารดังต่อไปนี้ carbopol-U21, etyl alcohol, glycerine, butylene glycol, polysorbate 20, ethylene diamine tetraacetic acid และ triethanolamine เป็นสูตรพื้นฐาน เตรียมชั่งสาร

ทั้งในส่วนของ oil phase และ water phase ตามตำรับเป็นสูตรมาตรฐาน และสูตรทดสอบเติมสารสกัดคอลลาเจนลงไป ทำการผสมส่วนประกอบใน oil phase ให้เข้ากันโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 ℃ และผสมส่วนประกอบใน water phase ที่อุณหภูมิ 70 ℃ เมื่อส่วนผสมของทั้ง 2 phase ละลายเข้ากันดีแล้ว เทส่วนผสม water phase ลงใน ส่วนผสม oil phase คนตลอดเวลาให้เนื้อครีมกระจายเข้ากันประมาณ 10 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นและบรรจุใส่ภาชนะ ทำการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ โดยพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพที่จากสี ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่ 3 สภาวะคือ ที่อุณหภูมิ 4℃, 45℃ และอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 45 วัน และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งโดยเก็บไว้ที่ความร้อนสลับเย็น (heating-cooling cycle) จำนวน 6 รอบ ที่อุณหภูมิ 45 ℃ 24 ชั่วโมงสลับกับที่อุณหภูมิ 4℃ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 1 รอบ จากนั้นคัดเลือกตำรับที่มีความเหมาะสมที่สุด

การทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์

ทดสอบความพึงพอใจและการยอมรับหลังการใช้ผลิตภัณฑ์รวม 3 ผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัครโดยใช้แบบสอบถามในอาสาสมัครจำนวน 30 คน แบบสอบถามประกอบด้วย ข้อมูลส่วนตัว ความคิดเห็น ความตั้งใจซื้อ ความพึงพอใจ และการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ เพื่อประเมินศักยภาพทางการตลาดและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ตรงต่อความต้องการของผู้บริโภค

วิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด แสดงในรูปของ mean ± SE วิเคราะห์ผลทางสถิติและวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์และประมวลผลทางสถิติ

สถานที่ทำการวิจัย

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย 50290

ระยะเวลาทำการวิจัย

การทดลองเริ่มเดือนสิงหาคม 2559 สิ้นสุดเดือนธันวาคม 2560

บทที่ 4
ผลการวิจัย และวิจารณ์

องค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลา

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย พบว่ามีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ดังแสดงในตารางที่ 4 จะเห็นว่าองค์ประกอบหลักของเกล็ดปลานิลคือ โปรตีน และ เถ้า ส่วนหนังปลาสวายองค์ประกอบหลักคือ โปรตีน และ ไขมัน โดยเกล็ดปลานิลจะมีปริมาณโปรตีน และปริมาณเถ้ามากกว่าหนังปลาสวาย แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนหนังปลาสวายจะมีไขมันมากกว่าเกล็ดปลานิล ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ผลจากการศึกษาสอดคล้องกับรายงานของ ฉลองขวัญ (2551) และ นรินทร์ และวรางคณา (2558) ที่แสดงถึงองค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลานิลและหนังปลาสลาด พบว่า องค์ประกอบทางเคมีหลักของปลาทั้งสองชนิดคือโปรตีน เท่ากับ 60.01% และ 34.19% ตามลำดับ โดยปริมาณของโปรตีนที่ได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับอวัยวะหรือส่วนที่นำมาวิเคราะห์ สายพันธุ์ และอาหารที่ปลาได้รับ

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย

Chemical composition	% dry weight	
	Scale Nile tilapia	Skin Striped catfish
Moisture	21.29±0.57[a]	19.70±0.14[a]
Protein	**48.27±0.15[a]**	**41.56±1.26[a]**
Fat	0.037±0.015[a]	25.83±0.79[b]
Ash	30.40±0.93[a]	12.90±0.81[a]

Data shows as mean ± SD (n=3)

ปริมาณร้อยละของผลผลิตคอลลาเจน

จากการทดลองพบว่า ปริมาณร้อยละของผลผลิตคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลมีปริมาณสูงกว่าคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลาสวาย เนื่องจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า ในเกล็ดปลานิลมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าหนังปลาสวาย แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งคอลลาเจนคือโปรตีนชนิดหนึ่งที่เกิดจากการเรียงตัวกันของกรดอะ

มิโนด้วยพันธะเพปไทด์ แสดงปริมาณคอลลาเจนและจากการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน ด้วยการคำนวณจากร้อยละของกรดอะมิโน hydroxyproline พบว่า คอลลาเจนที่สกัดมาจากเกล็ดปลานิลมีปริมาณสูงกว่าคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลาสวาย ดังแสดงในตารางที่ 6 ทั้งนี้ปริมาณคอลลาเจนจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ เนื้อเยื่อและอายุของสัตว์ (Friess, 1998)

ตารางที่ 5 ปริมาณร้อยละผลผลิตของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย

Samples	% yield collagen (g)
Scale Nile tilapia	**21.67±2.19[a]**
Skin Striped catfish	17.00±1.15[a]

Data shows as mean ± SD (n=3)

ตารางที่ 6 ปริมาณคอลลาเจน (Hydroxyproline) ของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย

Samples	Hydroxyproline of collagen (mg/100)
Scale Nile tilapia	**20,971**
Skin Striped catfish	14,105

ลักษณะของสารสกัดคอลลาเจน

เมื่อนำคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาดซึ่งส่วนใหญ่สกัดมาจากปลาทะเล มาเปรียบเทียบลักษณะภายนอก พบว่าลักษณะสีคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายจะมีสีขาวสด ส่วนคอลลาเจนจากท้องตลาดจะมีสีขาวอมเหลือง ดังภาพที่ 7, 8 และ 9

ภาพที่ 8 คอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล

ภาพที่ 9 คอลลาเจนจากหนังปลาสวาย

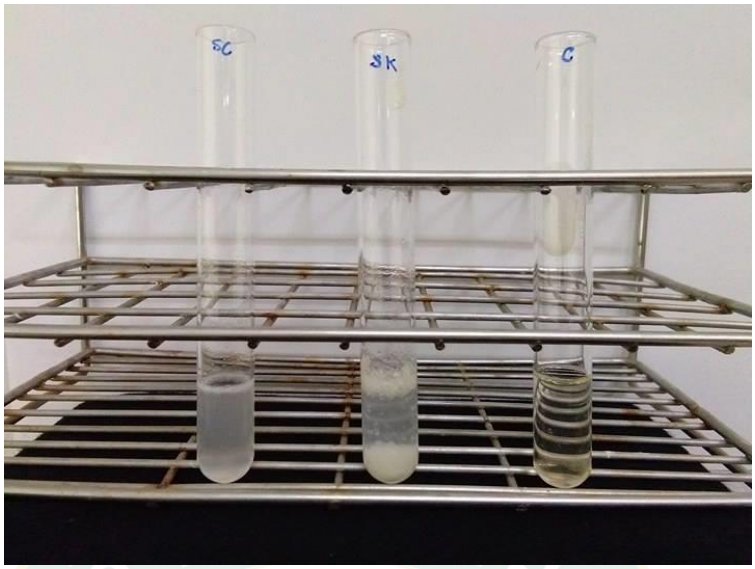
ภาพที่ 10 คอลลาเจนจากท้องตลาด (สกัดมาจากปลาทะเล)

ภาพที่ 11 เปรียบคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด
หมายเหตุ ซ้าย : เกล็ดปลานิล กลาง : หนังปลาสวาย ขวา : ท้องตลาด

คุณสมบัติการละลายน้ำ

เมื่อนำคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนที่จำหน่ายในท้องตลาดมาเปรียบเทียบคุณสมบัติการละลายน้ำ พบว่าการละลายของคอลลาเจนจากท้องตลาดและเกล็ดปลานิลสามารถละลายน้ำได้ดีกว่าคอลลาเจนจากหนังปลาสวาย และสีของคอลลาเจนจากท้องตลาดจะเป็นสีเหลืองอ่อน ส่วนคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายจะมีสีขาว ดังภาพที่ 11 และ 12

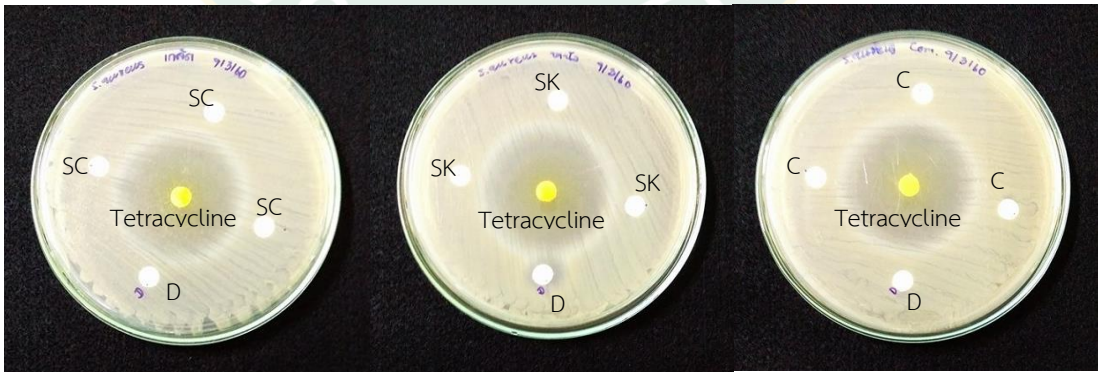
ภาพที่ 12 คุณสมบัติการละลายน้ำ
หมายเหตุ ซ้าย : เกล็ดปลานิล กลาง : หนังปลาสวาย ขวา : ท้องตลาด



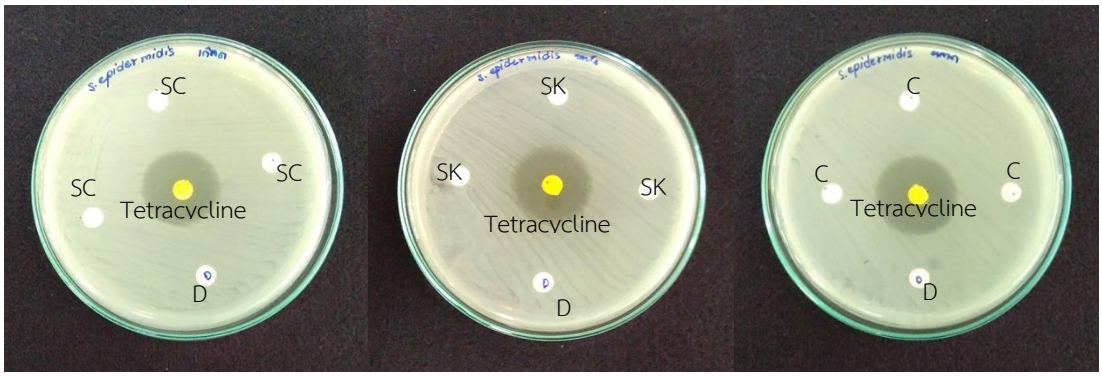
ภาพที่ 13 เปรียบเทียบคุณสมบัติการละลายน้ำคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด
หมายเหตุ ซ้าย: เกล็ดปลานิล กลาง: หนังปลาสวาย ขวา: ท้องตลาด

ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

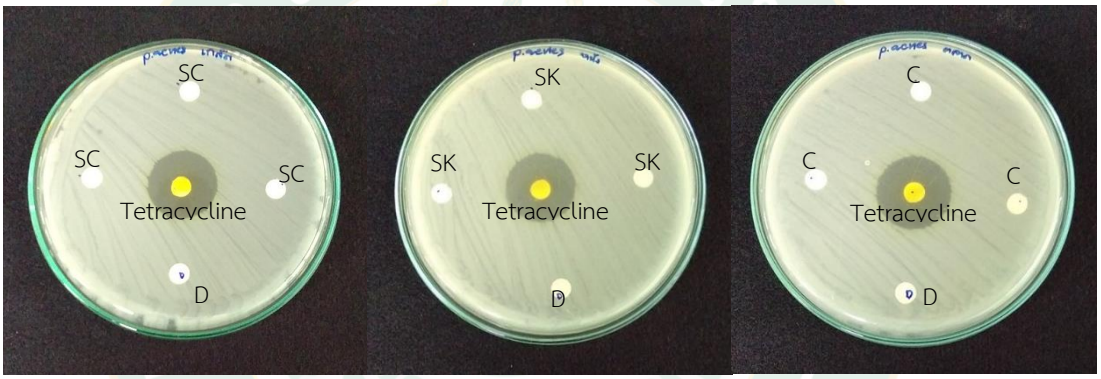
ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนจากท้องตลาด พบว่า คอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาดไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังทั้ง 3 ชนิด (*Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* และ *Propionibacterium acnes*) ได้ ดังแสดงในภาพที่ 13, 14 และ 15



ภาพที่ 14 ผลการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* โดยคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด
หมายเหตุ SC : เกล็ดปลานิล SK : หนังปลาสวาย C : ท้องตลาด



ภาพที่ 15 ผลการยับยั้ง *Staphylococcus epidermidis* โดยคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด
หมายเหตุ SC : เกล็ดปลานิล SK : หนังปลาสวาย C : ท้องตลาด



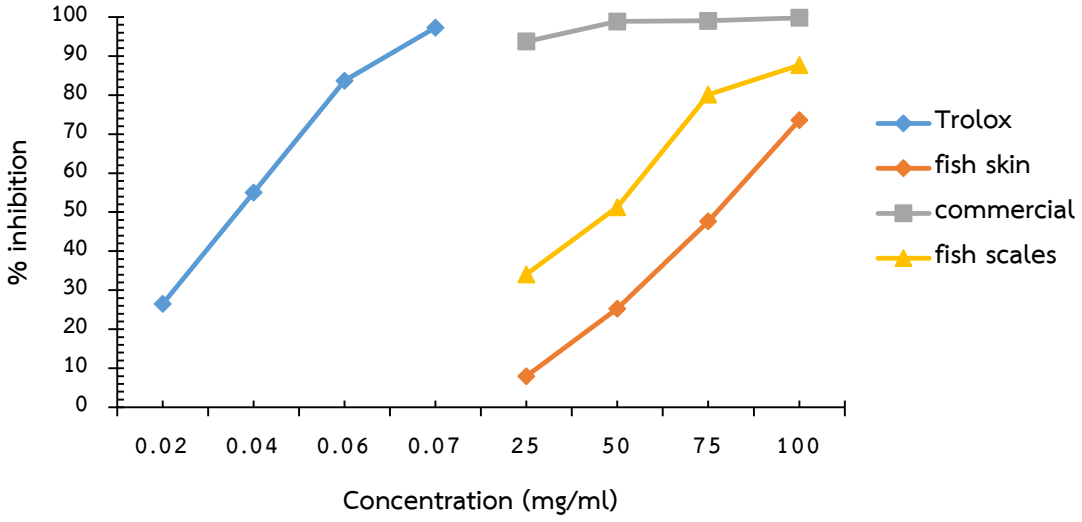
ภาพที่ 16 ผลการยับยั้ง *Propionibacterium acnes* โดยคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด
หมายเหตุ SC : เกล็ดปลานิล SK : หนังปลาสวาย C : ท้องตลาด

วงสีขาวล่าง (D) คือ negative control ใช้น้ำกลั่น ปริมาตร 20 ไมโครลิตร/disc
วงสีเหลืองตรงกลาง คือ positive control ใช้ยาปฏิชีวนะ Tetracycline ความเข้มข้น 25 mg/ml
วงสีขาวซ้าย ขวาและบน คือสารสกัดคอลลาเจน ความเข้มข้น 100 mg/ml

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวาย และคอลลาเจนจากท้องตลาด แสดงผลการทดลองในตารางที่ 7 และภาพที่ 16 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของคอลลาเจนที่แตกต่างกัน 3 ชนิด โดยพบว่าปริมาณความเข้มข้นคอลลาเจนของทั้ง 3 ชนิด ใน 25-

50 mg/ml คอลลาเจนที่มาจากท้องตลาดสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) ได้ดีมาก ระหว่าง 93.74 – 98.87% ส่วนคอลลาเจนที่มาจากเกล็ดปลานิล ให้ % Inhibition ระหว่าง 34.06 – 51.30% และคอลลาเจนที่มาจากหนังปลาสวาย ให้ % Inhibition ระหว่าง 8.01 – 25.31% นอกจากนี้พบว่าคอลลาเจนที่มาจากท้องตลาดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับวิตามินอีหรือ trolox มากที่สุด รองลงมาคือ คอลลาเจนที่มาจากเกล็ดปลานิลและคอลลาเจนจากหนังปลาสวาย มีค่าเท่ากับ 0.0706, 0.0374 และ 0.0192 mM (TEAC) ตามลำดับ และมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนค่าการต้านอนุมูลอิสระที่ 50% (IC_{50}) พบว่า คอลลาเจนท้องตลาดดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 24.99±0.58 mg/ml รองลงมาคือ คอลลาเจนที่มาจากเกล็ดปลานิลเท่ากับ 48.11±0.56 mg/ml และคอลลาเจนจากหนังปลาสวายเท่ากับ 85.68±0.58 mg/ml แสดงผลในตารางที่ 8 ซึ่งค่า IC_{50} ที่มีค่าน้อยหมายถึง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Morimura *et al.*(2002) ได้สกัด hydrolysates collagen จากหนัง และกระดูกปลา yellowtail โดยใช้เอนไซม์ hydrolysates พบว่า คอลลาเจนที่สกัดได้มีคุณสมบัติต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับระดับความเข้มข้นของคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS scavenging activity ของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวาย และคอลลาเจนท้องตลาด

Samples	mM TEAC/g extract
Scale Nile tilapia	0.0374±0.0015[b]
Skin Striped catfish	0.0192±0.0014[c]
Commercial	**0.0706±0.0001[a]**

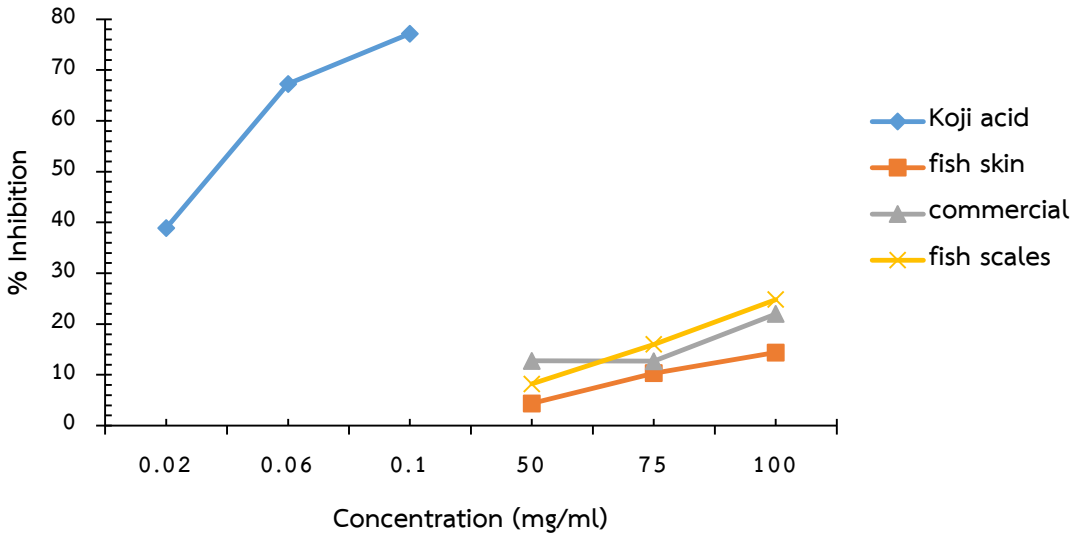
Data shows as mean ± SD (n=3)

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบค่า IC_{50} ในการต้านอนุมูลอิสระของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด

Samples	IC_{50} (mg/ml)
Scale Nile tilapia	48.11±0.56
Skin Striped catfish	85.68±0.58
Commercial	**24.99**±0.53

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวาย และคอลลาเจนจากท้องตลาด แสดงผลการทดลองในตารางที่ 9 และภาพที่ 17 ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนที่ได้จากแหล่งที่มาแตกต่างกัน 3 ชนิด โดยพบว่าปริมาณความเข้มข้นคอลลาเจนของทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับ 50-100 mg/ml คอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลให้ % Inhibition ระหว่าง 8.22 – 24.82% คอลลาเจนท้องตลาด ให้ % Inhibition ระหว่าง 12.76 – 21.98% และคอลลาเจนที่มาจากหนังปลาสวาย ให้ % Inhibition ระหว่าง 4.38 – 14.40% และพบว่าคอลลาเจนที่มาจากเกล็ดปลานิล มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบเท่ากับ kojic acid มากที่สุด รองลงมาคือคอลลาเจนที่มาจากท้องตลาด และคอลลาเจนจากหนังปลาสวาย มีค่าเท่ากับ 0.0713, 0.0673 และ 0.0566 mg kojic acid /g extract ตามลำดับ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) และค่าการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ 50% (IC_{50}) พบว่า คอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 171.29±0.45 mg/ml รองลงมาคือคอลลาเจนท้องตลาดมีค่าเท่ากับ 175.35±0.93 mg/ml และคอลลาเจนจากหนังปลาสวายเท่ากับ 318.77±0.41 mg/ml แสดงผลในตารางที่ 10 ค่า IC_{50} ที่มีค่าน้อยหมายถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Abdillah *et al*., 2017 ศึกษาการสกัดคอลลาเจนจากหนังปลิงทะเล sea cucumber (*Holothuria lecospilota*) พบว่า คอลลาเจนทีสกัดจากหนังปลิงทะเลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase ได้



ภาพที่ 18 เปรียบเทียบ %inhibition ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนทั้ง 3 ชนิด กับสารมาตรฐาน (Koji acid)

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด

Samples	mg Kojic acid /g extract
Scale Nile tilapia	**0.0713±0.0010[a]**
Skin Striped catfish	0.0566±0.0034[b]
Commercial	0.0673±0.0053[a]

Data shows as mean ± SD (n=3)

ตารางที่ 10 การเปรียบเทียบค่า IC_{50} ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด

Samples	IC_{50} (mg/ml)
Scale Nile tilapia	**171.29±0.45**
Skin Striped catfish	318.77±0.41
Commercial	175.37±0.93

ต้นทุนการผลิต

ต้นทุนการผลิตคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายต่อคอลลาเจน 100 กรัม เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับคอลลาเจนสำเร็จรูปที่มีขายในท้องตลาด (พบว่าคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายมีต้นทุนการผลิต 477 และ 536 บาท ส่วนคอลลาเจนท้องตลาด เท่ากับ 600 – 1,500 บาท ซึ่งคอลลาเจนที่สกัดได้จากเกล็ดปลานิลมีต้นทุนการผลิตต่ำสุด รองลงมาคือคอลลาเจนจากหนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 11

คอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลมีต้นทุนต่ำสุด เนื่องจากเกล็ดปลานิลเป็นเศษเหลือที่มีปริมาณมากที่สุด และนำไปใช้ประโยชน์ต่อน้อย โดยจากการลงพื้นสอบถามตามตลาดสดที่ขายปลานิล เมื่อลูกค้าซื้อปลานิล พ่อค้าแม่ค้าจะถอดเกล็ดทิ้ง แตกต่างจากหนังปลาสวาย ปลาสวายจะมีเศษหนังเหลือน้อย ผู้บริโภครับประทานทั้งหนัง ทำให้เหลือเศษเฉพาะส่วนหัวและครีบเท่านั้น ในการทดลองได้ซื้อปลามาทดสอบเก็บปริมาณหนังทั้งหมด พบว่า ปลาสวายขนาด 2.5 กิโลกรัม (กิโลกรัมละ 30 บาท) จะได้หนังปลาทั้งหมด 200 กรัม จึงทำให้มีต้นทุนสูงกว่าคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบต้นการผลิต ของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและคอลลาเจนท้องตลาด (คอลลาเจน 100 กรัม)

Samples	Production cost (Bath)
Scale Nile tilapia	**477**
Skin Striped catfish	536
Commercial	600 – 1,500

Data shows as mean ± SD (n=3)

การพัฒนาผลิตภัณฑ์

จากการนำคอลลาเจนที่สกัดได้จากเกล็ดปลานิลไปพัฒนาตำรับเครื่องสำอาง ได้แก่ เซรั่มบำรุงหน้า ดังภาพที่ 18 และทำการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์โดยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิ 45°C เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่า pH สี และ เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ยังคงสภาพที่เหมือนเดิม แสดงในตารางที่ 12 ส่วนการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่ง โดยใช้ความร้อนสลับกับความเย็น ที่อุณหภูมิ 4°C และ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คิดเป็น 1 รอบ รวมจำนวน 6 รอบ พบว่า pH สี และเนื้อสัมผัสของ

ผลิตภัณฑ์ยังคงสภาพที่เหมือนเดิม ส่วนความหนืดจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จาก 3444.3 mPa.s (millipascal second) เปลี่ยนเป็น 3694.5 mPa.s ดังแสดงในตารางที่ 13 เนื่องจากเนื้อเซรั่มเป็นเนื้อเจล มีส่วนผสมน้ำเป็นหลัก เมื่อเวลาผ่านไปทำให้น้ำระเหยออกบางส่วน ทำให้ความหนืดของเซรั่มเพิ่มขึ้น

ภาพที่ 19 ผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากคอลลาเจนเกล็ดปลานิล

ตารางที่ 12 การทดสอบความคงตัวผลิตภัณฑ์จากการเก็บที่อุณหภูมิห้อง (RT) อุณหภูมิ 4°C และ 45 °C เป็นเวลา 45 วัน

Condition	pH	Color	Texture	Feel on skin	Viscosity score	Figure
Control	5.68	White	soft	Soft & smooth	+++	
RT	5.69	White	soft	Soft & smooth	+++	
4 °C	5.57	White	soft	Soft & smooth	+++	
45 °C	5.61	White	soft	Soft & smooth	+++	

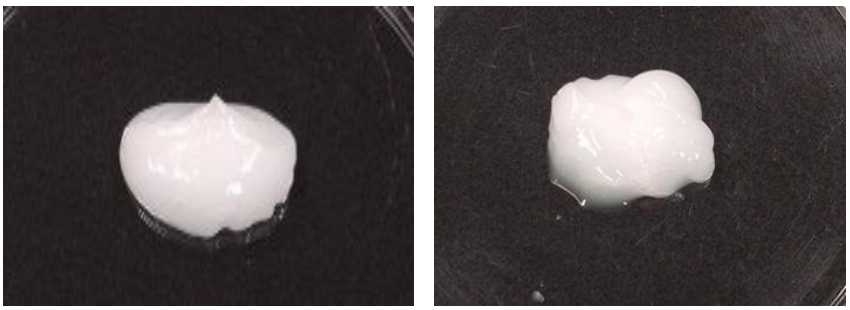
Control= อุณหภูมิปกติ, RT= อุณหภูมิห้อง, 4°C = อุณหภูมิ 4°C, 45°C= อุณหภูมิ 45°C

ตารางที่ 13 ทดสอบความคงตัวผลิตภัณฑ์โดยใช้ความเย็นสลับความร้อนที่ 4 °C และ 45 °C รวม 6 รอบ

Cycles	pH	Color	Texture	Feel on skin	Viscosity (mPa.s)	Viscosity score	Figure
1	5.61	white	soft	Soft & smooth	3444.3	+++	
2	5.62	white	soft	Soft & smooth	NA	+++	
3	5.59	white	soft	Soft & smooth	NA	+++	
4	5.60	white	soft	Soft & smooth	NA	+++	
5	5.62	white	soft	Soft & smooth	NA	+++	
6	5.58	white	soft	Soft & smooth	3694.5	+++	

วัด Viscosity ด้วยเครื่อง Viscometer ยี่ห้อ Brookfield รุ่น DV-1 ด้วย R6 probe (50 rpm, %wresting square เท่ากับ 46.7%)

NA = Not available



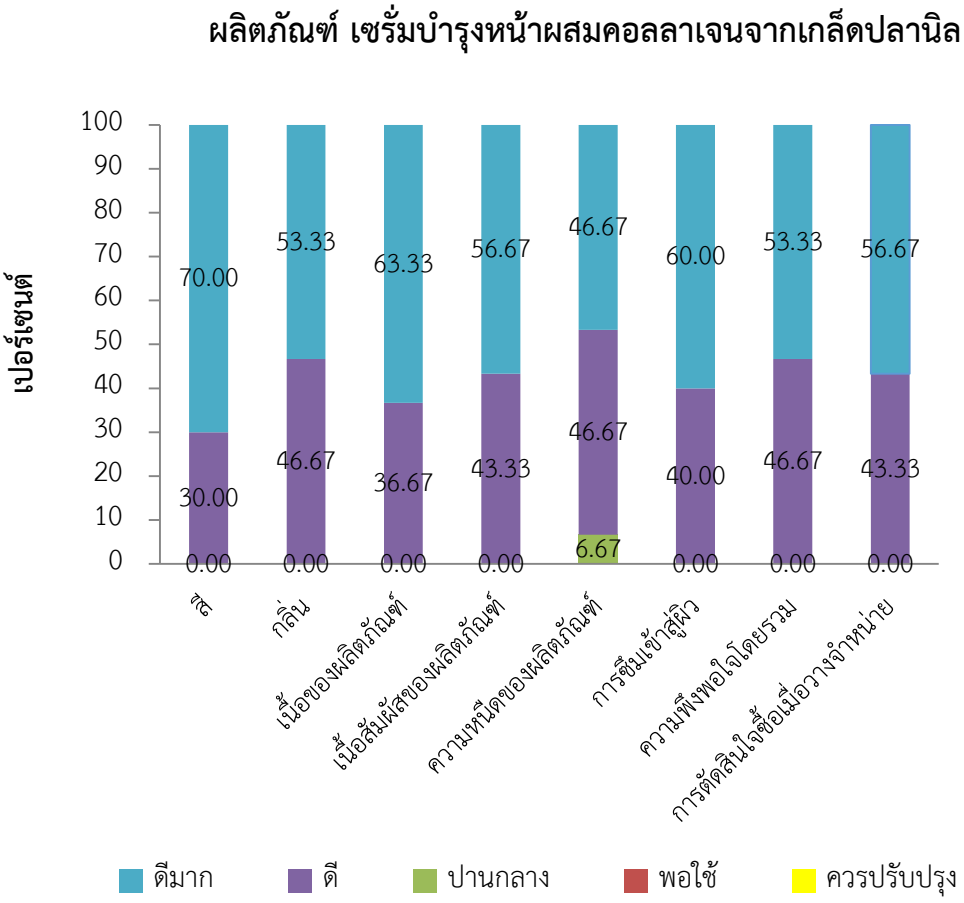
A B

ภาพที่ 20 เปรียบเทียบระหว่างก่อน (A) และหลัง (B) ผ่าน heating-cooling cycle

เมื่อทดสอบความคงตัวผลิตภัณฑ์โดยวิธีการเก็บที่อุณหภูมิห้อง (RT) อุณหภูมิ 4°C และ 45°C เป็นระยะเวลา 45 วัน และวิธีการใช้ความเย็นสลับกับความร้อนที่ 4 °C และ 45 °C รวม 6 รอบ ซึ่งเมื่อผ่านการทดสอบด้วยวิธีทั้ง 2 วิธี ผลการทดสอบความคงตัวไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าเซรั่มสามารถมีอายุการเก็บรักษาได้ประมาณ 2 ปี ซึ่งในการทดสอบครั้งนี้พบว่าเนื้อเซรั่มมีความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ลักษณะสี กลิ่น เนื้อสัมผัส และค่า pH ของผลิตภัณฑ์ ไม่เปลี่ยนแปลง

ผลการทดสอบความพึงพอใจผลิตภัณฑ์

ผลการทดสอบความพึงพอใจของผลิตภัณฑ์ เซรั่มบำรุงหน้าผสมคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล ในอาสาสมัครจำนวน 30 ท่าน ทั้งเพศหญิงและเพศชาย ในอายุระหว่าง 20 – 49 ปี พบว่า จากการประเมินโดยรวมของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ สี กลิ่น เนื้อของผลิตภัณฑ์ เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ความหนืดของผลิตภัณฑ์ การซึมเข้าสู่ผิว ความพึงพอใจโดยรวมและการตัดสินใจซื้อเมื่อวางจำหน่าย อยู่ในระดับดีมาก 57.50% อยู่ในระดับดี 41.67% และระดับปานกลาง 0.82% ดังแสดงในภาพที่ 20



ภาพที่ 21 ผลการทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงหน้าผสมคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

การสกัดคอลลาเจนที่มาจากผลพลอยได้ของการแปรรูปประมงน้ำจืด ได้แก่ เกล็ดปลานิล และหนังปลาสวาย พบว่าให้ร้อยละผลผลิตคอลลาเจน (percent yield) เท่ากับร้อยละ 22 และ 17 ตามลำดับ และได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ของคอลลาเจนที่สกัดจากที่มาของวัตถุดิบแตกต่างกัน 3 ชนิด คือ เกล็ดปลานิล หนังปลาสวาย และคอลลาเจนท้องตลาด พบว่า คอลลาเจนท้องตลาดที่สกัดมาจากผลพลอยได้จากปลาทะเล และคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล ให้ผลการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS และยับยั้งเอนไซมไทโรซิเนสสูงกว่าคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลาสวาย โดยพบว่าคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลาสวาย และคอลลาเจนท้องตลาด จึงเลือกคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลไปพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เวชสำอางในรูปแบบเซรั่มบำรุงหน้า แล้วนำไปทดสอบเสถียรภาพและความคงตัวของผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 45 วัน และแบบเร่งโดยใช้ความร้อนสลับเย็น 6 รอบ พบว่า เนื้อเซรั่มมีความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ลักษณะสี กลิ่น เนื้อสัมผัส และค่า pH ของผลิตภัณฑ์ ไม่เปลี่ยนแปลง จากนั้นได้นำผลิตภัณฑ์เซรั่มไปทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในระดับดีมาก และมีความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์สูงเมื่อมีการวางจำหน่ายในท้องตลาด ผลจากการวิจัยในครั้งนี้สรุปได้ว่า คอลลาเจนที่สกัดได้จากเกล็ดปลานิลมีศักยภาพเหมาะสมทั้งฤทธิ์ชีวภาพ ต้นทุน และการยอมรับของผู้บริโภค สามารถนำไปต่อยอดแปรรูปเพิ่มมูลค่าเป็นเครื่องสำอางได้เป็นอย่างดี

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ได้นำคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลไปพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอางในรูปแบบเซรั่มบำรุงหน้า เพียงผลิตภัณฑ์เดียวเท่านั้น ยังสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆได้อีก เช่น ครีมบำรุงผิวกาย หรือพัฒนาในรูปแบบแคปซูลสำหรับบริโภคคอลลาเจนโดยตรง และดำเนินการทดสอบทางคลินิกในมนุษย์เพิ่มเติม เพื่อประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์

2. ควรมีการนำทรัพยากรประมงน้ำจืดที่เป็นเศษเหลือหรือผลพลอยได้จำนวนมากจากการแปรรูปเพื่อการบริโภคเฉพาะเนื้อ เช่น อวัยวะภายใน กระดูก มาสกัดเป็นสารชีวภาพเพื่อการใช้

ประโยชน์ด้านสุขภาพ ซึ่งนอกจากจะช่วยเพิ่มมูลค่าเศษเหลือดังกล่าวแล้วยังช่วยลดขยะ รักษาสิ่งแวดล้อม ได้เป็นอย่างดี

3. ควรดำเนินการจดอนุสิทธิบัตร/สิทธิบัตร เพื่อคุ้มครองทรัพย์สินทางปัญญาก่อนการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ และนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์อย่างเป็นรูปธรรมในอนาคต

บรรณานุกรม

กรมประมง. 2558. **สถิติการประมงแห่งประเทศไทย**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.fisheries.go.th/it-stat/index.php?option=com_content&view=article&id=54&Itemid=13 (7 สิงหาคม 2559).

กรวรรณ ปาร์คเกอร์ 2554. **มีนวิทยา (Ichthyology)**. เชียงใหม่: วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีเชียงใหม่.

ฉลองขวัญ พิพัตน์เจริญวงศ์. 2551. **การสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลาและคุณสมบัติบางประการ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ณัฐพล เพิ่มวิริยะกุล, เทพกานต์ โชติประดิษฐ์, ธเนศ อินทจักร และ พัชรินทร์ ระวียัน. (2553). **การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคอลลาเจนหยาบจากหนังปลาสวายเผาะ**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ตุลยา โพธารส. 2554. การเตรียมและความคงตัวทางกายภาพของตำรับครีมคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลานิลสด. **วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ** 6(4), 260-264.

นรินทร์ ทาหอม และ วรางคณา สมพงษ์. 2558. สมบัติของคอลลาเจนที่ละลายด้วยกรดจากหนังปลาฉลาด.,**วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** (ปีที่ 23 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2558.), 257-267.

นิวุฒิ หวังชัย. 2545. **โภชนาศาสตร์สัตว์น้ำ**. คณะเทคโนโลยีการประมงละทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่. 199-205.

นิสา เลาหพจนารถ. 2547. **เครือข่ายความร่วมมือบริการเภสัชสนเทศ**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://drug.pharmacy.psu.ac.th/Question.asp?ID=3897&gid=7 (11 พฤศิกายน 2559).

ปวเรศวร์ อินทุเศรษฐ และ นลินรัตน์ จิระเดชประไพ. 2558. **การสกัดคอลลาเจนที่ละลายในกรดจากหนังปลานิล**. กองวิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.26 หน้า.

มะลิวัลย์ คุตะโค, ทนงศักดิ์ โตเจริญ, มลฤดี สนธิ, รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ และ จันทร์จรัส วัฒนะโชติ. 2558. ปริมาณผลผลิตและรูปแบบโปรตีนคอลลาเจนจากเกล็ดปลา กระบอกดำ (*Liza subviridis*) ที่สกัดด้วยเปปซินความเข้มข้นแตกต่างกัน. **วารสารงานวิจัยแก่นเกษตร** 43/1), 563-567.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยวุฒิ และ วิมล จันทรโรทัย,. 2536. **การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล**. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 23. สถาบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด. กรมประมง: กรุงเทพฯ.

มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร. 2549. **เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 300-333.

วิมล เหมาะจันทร 2540. **ชีววิทยาปลา**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ.

สุภาพร สุกสีเหลือง. 2542. **มีนวิทยา (**Ichthyology). ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. ศูนย์ส่งเสริมกรุงเทพ: กรุงเทพฯ.

สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์. **สาระน่ารู้ปลาน้ำจืดไทย** เล่ม ๒. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, 2547. 257 หน้า.

อัมพร ภิญโญวิทย์. 2545. **มีนวิทยา (**Ichthyology) ครั้งที่ 1 โรงพิมพ์บริษัทต้นฉบับ จำกัด: จันทบุรี. 92 หน้า.

เอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์, สุทธวัฒน์ เบญจกุล, วรรณพ วิเศษสงวน และ มุเนฮิโกะ ทานากะ. 2544. การแยกและการจำแนกคุณลักษณะของคอลลาเจนที่ละลายในกรดและเปปซินจากหนังปลากระพงข้างเหลือง. **Thailand Research Fund under The Royal Golden Jubilee PhD program**.

AOAC Official Method 990.26. **Hydroxyproline in meat and meat products**. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th edition. Gaithersburg, MD, Chapter 39.2000.

Bailey, A.J. and Light, N.D. 1989. **Connective Tissue in Meat and Meat Product**. Elsevier Sciences Publishers. London.

Balian, G. and Bowes, J.H. 1977. The structure and properties of collagen, In A.G. Ward and A. Courts. eds. **The Science and Technology of Gelatin**, Academic Press, London. 1-31.

Bendall, J.R. 1964. **Symposium on foods:protein and their reactions.** The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. In H.W. Schultz, ed: 225-254.

Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, L.F., Lianto, F.S.,Wong, S.K., Lim, K.K., Joe, C.E. and Lim, T.Y. 2008. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. **Food Chemistry** 109: 477–483. .

Chun, Y.H., Jen-Min, K.A., Shu, J.W. and Hsing, T.T. 2015. Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis niloticus*) by a novel extrusion–hydro-extraction process. **Food Chemistry** 190 (2016), 997–1006.

Creighton, T. E. 1993. **Protein : Structures and Molecular Properties**. W. H. Freeman and Company, : New York.

Duan, R., Zhang, J., Du, X., Yao, X. and Konno, K. 2009.Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). **Food Chem**: 112: 702–706.

Encyclopaedia Britannica. 2009.**Type of fish scales**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://global.britannica.com/science/scal e-zoology/images-videos (Fabuary 7, 2017).

Fahmi A., Morimura, S., Guo, H.C., Shigematsu, T., Kida, K. and Uemura, Y. 2004. Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sea bream scales. **Process Biochem**39: 1195–1200.

Foegeding, E.A., Lanier T.C. and Hultin, H.O. 1996. Characteristics of Edible Muscle Tissues, In O.R. Fennema, ed. **Food Chemistry**,Marcel Dekker, Inc., New York. 879-942.

Friess, W. 1998. Collagen – biomaterial for drug delivery. **Eur. J. Phar. and Biophar**45: 113-136.

Fujita H. and Yoshikawa, M. 1999. a prodrug-type ACE-inhibitory peptide derived from fish protein. **Immunopharmacology** 44: 123–127.

Ikoma, T., Kobayashi, H., Tanaka, J., Walsh, D. and Mann, S. 2003 b. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticus*. **Int. J.Biol Macromol** 32: 199–204.

Ikoma, T., Kobayashi, H., Tanaka, J., Walsh, D. and Mann, S. 2003 a. Microstructure, mechanical, and biomimetic properties of fish scales from *Pagrus major*. **J. Struct. Biol** 142: 327–333.

Klug, W.S and Cummings, M.R. 1997. **Concepts of Genetics**.

Mahosot. 2017. **Hydrolyzed Collagen** ไฮโดรไลซ์ คอลลาเจน คืออะไร มีประโยชน์อย่างไร. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://mahosot.com/hydrolyzed-collagen-ไฮโดรไลซ์-คอลลาเจน.html (January 11, 2017).

Morimura, S., Nagata, H., Uemura, Y., Fahmi, A., Shigematsu, T. and Kida, K. 2002. Development of an effective process for utilization of collagen from livestock and fish waste. **Process Biochemistry** 37 (2002)1403-1412.

Nagai, T., Izumi, M. and Ishii, M. 2004. Fish scale collagen. Preparation and partial characterization. **Int. J. Food Sci. Technol** 39: 239–244.

Nelson, J.S. 1994. **Fishes of the World**. John Wiley and Sons. Inc.,3rd ed. New York.

Ogawa, M., Portier, R.J., Moody, M.W., Bell, J., Schexnayder, M.A. and Losso, J.N. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonia cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). **Food Chemistry.** 88: 495-501.

Olsen, D., Yang, C., Bodo, M., Chang, R., Leigh, S., Baez, J., Carmichael, D., Perälä, M., Hämäläinen, Jarvinen, M. and Polarek, J. 2003. Recombinant collagen and gelatin for drug delivery**. Adv. Drug Delivery Reviews.** 55: 1547– 1567.

Piez, K.A. 1985. **Encyclopedia of Polymer Science and Engineering**. Wiley, New York. 699-727.

Pomerantz, S.H. 1963. Separation purification and properties of two tyrosinases from hamster melanoma. **J Biol Chem** 238 . 2351-2357.

Poppe, J. 1992. Gelatin. **Thickening and Gelling Agents for Food**,Blackie Academic & Professional, London. 99-123.

Qiang Z., Wang, Q., Shun, L., Lu, J., Jiang, S., Regenstein, J.M. and Lin, L. 2015. Comparison of collagen and gelatin extracted from the skins of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Food Bioscience**13 (2016) 2041–2048.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine** 26 (9-10): 1231–1237.

Slendernight. 2001. **Pilot study of the effect of a collagen hydrolysate supplement, Slendernight, on inch and weight loss**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://bodystat.com/Val%2019.pdf (December 9, 2016).

Syamsudin, A., Gita, W., Metta, S., Siti, U.N. and Mala, N. 2017. In vitro anti-tyrosinase and anti-elastase activity of collagen from sea cucumber (*Holothuria leucospilota*). **African Journal of Biotechnology**,Vol. 16(15), (pp. 771-776).

Venus, (pseud.). 2002. **Collagen collection: pure hydrolyzed collagen may help joint maintenance and skin health**. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.health4youonline.com/health_supplements_collagen_collection_ms36.htm. (November 30, 2016).

Ward, A. G. and Courts, A. 1977. **The Science and Technology of Gelatin**. Academic Press, Inc., London.

Yamazaki, C.M., Kadoya, Y., Hozumi, K., Okano-Kosugi, H,, Asada, S., Kitagawa, K., Nomizu, M. and Koide, T. 2010 .A collagen-mimetic triple helical supramolecule that evokes integrin-dependent cell responses. **Biomaterials**,Mar;31(7):1925-34

ภาคผนวก

ภาคผนวก

ก. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

การวิเคราะห์หาความชื้น

ในการวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารซึ่งสิ่งแรกที่ต้องทราบ คือความชื้นที่มีอยู่วัสดุอาหาร ดังนั้นการหาความชื้นในอาหารจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อหาค่าตัวอย่างเปียกแล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณกลับ การวิเคราะห์หาความชื้นของตัวอย่างอาหารทำได้หลายวิธี โดยวิธีวิเคราะห์ที่ง่ายที่สุดคือการทำให้แห้ง ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้คำนวณหาปริมาณน้ำที่สูญเสียไปหลังจากที่ทำให้วัสดุแห้งแล้ว แต่ข้อเสียคือ วิธีนี้จะเป็นการยากที่จะทำให้ตัวอย่างอาหารแห้งสนิท โดยขณะทำให้แห้งอาจทำให้สารอาหารบางชนิดในตัวอย่างสูญสลายไปด้วย รวมถึงสารอื่นๆ ที่สามารถระเหยได้นอกจากน้ำก็จะสูญเสียไปด้วย

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เตาอบแห้ง (drying oven)
2. จานอลูมิเนียม (aluminium dish)
3. โถอบแห้ง (desicator)
4. คีม (tong)
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า (analytical balance)
6. ช้อนตักสาร
7. ตัวอย่างอาหาร

วิธีการ

1. นำขวดชั่งไปอบจนได้น้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำเอามาชั่งน้ำหนัก และจดน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

2. ตักตัวอย่างอาหารใส่ขวดชั่ง ประมาณ 2-3 กรัม ทำการชั่งน้ำหนักแล้วจดน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

3. นำขวดชั่งที่บรรจุตัวอย่างอาหารไปอบในตู้ที่มีอุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในระหว่างอบจะต้องเปิดฝาขวดชั่ง

4. นำขวดชั่งออกจากตู้อบ แล้วนำไปใส่โถอบแห้งทิ้งไว้ให้เย็น ปิดฝาขวดชั่งแล้วนำไปชั่งและจดน้ำหนักไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) และนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น = $\frac{(ก-ข) \times 100}{ค}$

เมื่อ ก = น้ำหนักขวดชั่งรวมตัวอย่างก่อนอบแห้ง

ข = น้ำหนักขวดตัวอย่างหลังอบแห้งจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

ค = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

การวิเคราะห์เถ้า

เถ้า (ash) หมายถึง ปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร หลังจากที่เผาพลาญสารอนินทรีย์หมดแล้ว ในการวิเคราะห์มักใช้ความร้อนในการเผาพลาญสารอนินทรีย์ ดังนั้น ค่าเถ้า (ash) ที่ได้จึงไม่จำเป็นต้องเท่ากับปริมาณสารเกลือแร่ทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารในตอนแรก สารอนินทรีย์หรือเกลือแร่บางส่วนจะสูญเสียไปโดยการระเหย เพราะความร้อนที่ใช้ในการเผานั่นเอง ค่าเถ้า (ash) ที่ได้จึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของสารอาหารนั้นๆ

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ถ้วยกระเบื้อง (dish crucible) หรือ foil
2. โถอบแห้ง (desicator)
3. เตาเผา (muffle furnace)
4. แผ่นความร้อน (hot plate)
5. ตู้ควัน (fume cupboard)
6. คีม (tong)
7. เครื่องชั่งไฟฟ้า (analytical balance)
8. ช้อนตักสาร
9. ตัวอย่างอาหาร

วิธีการ

1. ทำเครื่องหมายบนถ้วยกระเบื้องที่จะใส่ตัวอย่างอาหาร โดยอาจเขียนหมายเลขกำกับไว้ตามลำดับของตัวอย่างอาหาร นำตัวอย่างอาหารไปเผาในเตาอุณหภูมิ 550 – 600 °C เป็นเวลา 30 นาที

2. นำถ้วยกระเบื้องที่เผาเรียบร้อยแล้วออกจากเตาเผา ตั้งทิ้งไว้สักครู่บนแผ่นกระเบื้องเคลือบ แล้วนำไปตั้งให้เย็นในโถอบแห้ง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึกไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

3. ตักตัวอย่างใส่ในถ้วยกระเบื้องประมาณ 1-2 กรัม ทำการชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) และจดบันทึกไว้

4. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างไปเผาบนแผ่นความร้อนในตู้ควันจนกระทั่งหมดควัน

5. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาที่มีอุณหภูมิ 550 – 600 ℃ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนเถ้ามีสีขาว นำถ้วยกระเบื้องที่เผาเรียบร้อยแล้วออกมาตั้งทิ้งไว้สักครู่บนแผ่นกระเบื้อเคลือบแก้ว แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง เสร็จแล้วนำไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึกไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

* หมายเหตุ หากเถ้ายังไม่ขาว (แสดงว่ายังมีคาร์บอนเหลืออยู่) ให้นำถ้วยกระเบื้องมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นบนกระเบื้องเคลือบ แล้วหยดสารละลายแอมโมเนียมคาร์บอเนต 4-5 หยด เพื่อให้เถ้าเกิดความชื้น จากนั้นนำไประเหยให้แห้งบนแผ่นความร้อน แล้วนำไปเผาต่อจนได้เถ้าสีขาว

6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าทั้งหมด = $\frac{(ก - ข) \times 100}{ค}$

เมื่อ ก = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องรวมตัวอย่าง

ข = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องหลังเผา

ค = น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาโปรตีน

การวิเคราะห์หาระดับโปรตีนในอาหาร ทำได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนที่อยู่ในสารอาหารนั้นๆ เนื่องจากไนโตรเจนในสารอาหารส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของโปรตีน ซึ่งปกติในโปรตีนจะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ 16 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเมื่อทราบปริมาณไนโตรเจนที่ได้จะต้องคูณด้วย จึงจะได้ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนของอาหารที่นำมาวิเคราะห์ วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดทำได้โดยการเปลี่ยนไนโตรเจนที่มีอยู่ในอาหารให้กลายเป็น $(NH_4)_2SO_4$ โดยนำตัวอย่างอาหารไปย่อยใน H_2SO_4 เข้มข้น จากนั้นเติมสารละลาย NaOH เข้มข้น เพื่อให้ไนโตรเจนเปลี่ยนไปอยู่ในอยู่ในรูป NH_3 แล้วนำมากลั่นเพื่อให้เกิดก๊าซ NH_3 ระเหยแยกออกมา โดยทำการจับก๊าซ NH_3 จุดนี้ด้วยสารละลาย H_2SO_4 ในปริมาณที่แน่นอนพร้อม Indicator จากนั้นนำสารละลายที่ได้มา titrate ด้วยสารละลาย NaOH ที่ทำให้เป็นกลางด้วยปริมาณของที่ได้จากไนโตรเจนในอาหาร จากนั้นคำนวณหาปริมาณของไนโตรเจนได้ตามต้องการ

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาโปรตีน สามารถแยกออกเป็น 4 ขั้นตอน

1. O.M. + H_2SO_4 $\longrightarrow$ $(NH_40_2SO_4 + CO_2 + H_2O$ (digestion)

2. $NaOH + (NH_4)_2SO_4 \longrightarrow NH_3 + Na_2SO_4$ (distillation)

3. $2NH_3 + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4$ (fixation)

4. $H_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow (Na_2SO_4 + H_2O$ (titration)

สารเคมี

1. สารเร่งปฏิกิริยา sodium sulfate : copper sulfate อัตรา 20 : 1 หรือ
   Potassium sulfate : copper sulfate อัตรา 15 : 1
2. screened methyl red indicator ละลาย methyl red 0.2 กรัม และ methylene blue 0.1 กรัม ใน Ethanol 96% 100 ml.
3. NaOH (45%)
4. H_2SO_4 เข้มข้น
5. H_2SO_4 มาตรฐาน (1.0 N)
6. NaOH มาตรฐาน (1.0 N)
7. ลูกแก้ว
8. ตัวอย่างอาหาร

อุปกรณ์

1. เครื่องทำความร้อน
2. เครื่องกลั่น
3. Kjeldahl flask ขนาด 800 ml.
4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml.
5. กระบอกตวง ขนาด 100, 500 ml.
6. ปิเปต ขนาด 25, 50 ml.
7. บิวเรต
8. เครื่องชั่ง
9. กระบอกฉีดพร้อมน้ำกลั่น
10. กระดาษกรอง

วิธีการ

1. ทำการชั่งตัวอาหาร (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) บนกระดาษกรอง (โดยตัวอย่างอาหารที่มีระดับโปรตีนสูงใช้ 0.5 – 1 กรัม) แล้วห่ออาหารด้วยกระดากรองและพับใส่ Kjeldahl flask แล้วเติมสาร

เร่งปฏิกิริยาประมาณ 2-3 ช้อน และลูกแก้ว 2 ลูก แล้วเติม H_2SO_4 เข้มข้น จำนวน 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน (โดยต้องทำ blank พร้อมกันไปด้วย)

2. ทำการย่อยตัวอย่างอาหาร โดยนำ Kjeldahl flask ไปวางต่อกับเครื่องทำความร้อน เปิดเครื่องดูดอากาศของ hoot ให้ความร้อนน้อยๆ ก่อนจนลูกแก้วหยุดกระเด็นจึงให้ความร้อนเต็มที่ ระหว่างการย่อยให้หมุน Kjeldahl flask เป็นครั้งคราว ทำการย่อยจนสารละลายมีสีเขียวใส

3. ปิดเครื่องทำความร้อน จากนั้นปล่อยทิ้งไว้ให้ Kjeldahl flask เย็น (หากบริเวณคอ Kjeldahl flask มีจุดสีดำๆ เกาะติดอยู่ ให้ใช้น้ำกลั่นล้างลงไปแล้วย่อยต่อจนใสทิ้งไว้ให้เย็น) จากนั้นเมน้ำกลั่นลง 50 มิลลิลิตร

4. เตรียมสารละลาย H_2SO_4 มาตรฐาน (1.0 N) จำนวน 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติม screened methyl red indicator 4 หยด นำมาต่อเข้ากับปลายเครื่องกลั่น โดยให้ปลายของหัวกลั่นจุ่มในสารละลาย เปิดน้ำผ่านเครื่องควบแน่นของเครื่องกลั่น

5. นำ Kjeldahl flask ที่ย่อยแล้วมาเติมสารละลาย NaOH (เข้มข้น 45%) จำนวน 80 มิลลิลิตร โดยเติมลงไปช้าๆ แล้วนำไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่นทันที เขย่าเป็นรูปวงกลมให้สารละลายเข้ากัน

6. เปิดเครื่องทำความร้อนของเครื่องกลั่น จนแอมโมเนียถูกกลั่นออกมาประมาณ 150 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ จากนั้นเลื่อนขวดรูปชมพู่ออกจากปลายเครื่องกลั่น โดยให้ปลายท่ออยู่เหนือสารละลายใช้น้ำกลั่นล้างปลายท่อ จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ออก แล้วใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ลงไปแทนเพื่อให้เครื่องกลั่นดูดทำความสะอาดเอง แล้วปิดเครื่องทำความร้อนเฉพาะเตา

7. นำสารละลายที่ได้ (สีไวน์แดง) มาไตเตรตกับสารละลาย NaOH (มาตรฐาน 1 N) จนสารละลายเป็นสีเขียวใส

8. การคำนวณ

NaOH จำนวน 1 ml. มาตรฐาน 0.1 N ทำปฏิกิริยาได้พอดีกับไนโตรเจน 0.014 กรัม

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \frac{(\text{ข-ก}) \times 0.014 \times \text{ค} \times 100}{\text{ต}}$$

เมื่อ ก = มิลลิลิตรของ NaOH มาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรตสารละลายจากตัวอย่าง

ข = มิลลิลิตรของ NaOH มาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรตสารละลายจาก Blank

ค = ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH มาตรฐานที่ใช้

ต = น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์

ดังนั้น เปอร์เซ็นต์ crude protein = เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจน × 6.25

การวิเคราะห์หาไขมัน

การวิเคราะห์หาไขมัน (ether extract หรือ crude fat) สามารถทำได้ด้วยการสกัดตัวอย่างอาหาร โดยใช้ตัวทำละลายไขมันที่เป็นสารละประเภท organic solvent ตัวใดตัวหนึ่งเช่น petroleum ether, hexane, dichloromethane และ benzene เป็นต้น โดยใช้ชุดอุปกรณ์ที่เรียกว่า Soxhlet extract ต่อเข้ากับระบบเครื่องทำความร้อนและเครื่องควบแน่น (condenser) แต่ต้องเปิดระบบน้ำไว้เพื่อช่วยให้เกิดการควบแน่น ซึ่งอุปกรณ์ครบชุดทั้งหมดเรียกว่า extraction apparatus โดยส่วนของสัตว์ที่สามารโดยส่วนของสัตว์ที่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายได้แก่ fat, oil และ waxes ส่วนในพืช carotene, chlorophyll และ sterol

สารเคมี

1. Petroleum ether หรือ hexane หรือ dichloromethane

เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือ extraction apparatus
2. ขวดก้นแบน
3. thimble
4. ตู้อบ
5. โถอบแห้ง
6. สำลี
7. คีม
8. ถุงมือ
9. ตัวอย่างอาหาร

วิธีการ

1. นำขวดก้นแบนไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 °C เพื่อให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำขวดก้นแบนที่อบแล้วมาวางทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง ชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) และจดบันทึกไว้ (เขียนหมายเลขกำกับ)

2. ทำการชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม บนกระดาษกรองและจดบันทึกน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ทำการห่อตัวอย่างด้วยกระดากรองแล้วใส่ลงใน thimble แล้วปิดด้วยสำลีบางๆ นำ thimble ไปใส่ใน soxhlet และต่อ soxhlet เข้ากับเครื่องควบแน่น

3. เติม petroleum ether, hexane หรือ dichloromethane โดยเลือกใช้ตัวใดหนึ่ง เติมลงในขวดก้นแบนประมาณ 2 ใน 3 ของขวด นำมาต่อเข้ากับ soxhlet และเครื่องให้ความร้อน

4. เปิดระบบน้ำให้ผ่านเครื่องควบแน่น และเปิดเครื่องให้ความร้อน ใช้ความร้อนประมาณ 20 -30 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการสกัดเป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง

5. ทำการถ่ายสารละลายออกจาก soxhlet โดยให้เหลือสารละลายอยู่ในขวดก้นแบนให้น้อยที่สุด และถอด soxhlet ออกจากขวดก้นแบนและเครื่องควบแน่น วางขวดก้นแบนไว้บนแผ่นความร้อนจนเกือบแห้งสนิท

6. นำขวดก้นแบนมาอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำขวดก้นแบนที่อบเรียบร้อยแล้วมาวางทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง ทำการชั่งน้ำหนักและจดบันทึกไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

7. การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{(\text{ข} - \text{ก}) \times 100}{\text{ต}}$$

เมื่อ ก = น้ำหนักขวดก้นแบนก่อนทดลอง

ข = น้ำหนักขวดก้นแบนหลังสกัดไขมันและอบแห้ง

ต = น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

ข. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ข 1. ค่าทางสถิติของการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและในท้องตลาด

Antioxidant

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	2	.002	1435.619	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.004	8			

Antioxidant

	VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
			1	2	3
Tukey HSD[a]	2	3	.019167		
	1	3		.037367	
	3	3			.070633
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ตารางผนวกที่ ข 2. ค่าทางสถิติของการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิล หนังปลาสวายและในท้องตลาด

Antityrosinase

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	2	.000	12.740	.007
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.000	8			

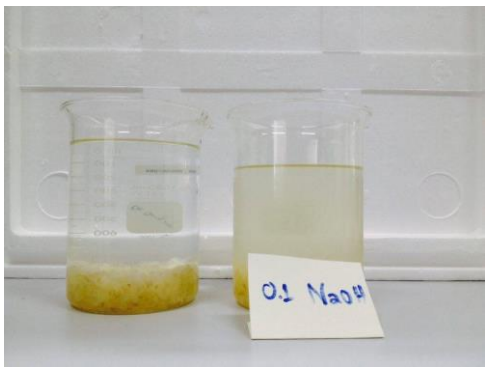
Antityrosinase

	VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
			1	2
Tukey HSD[a]	2	3	.056597	
	3	3		.067267
	1	3		.071267
	Sig.		1.000	.430

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ค. ขั้นตอนการสกัดคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล

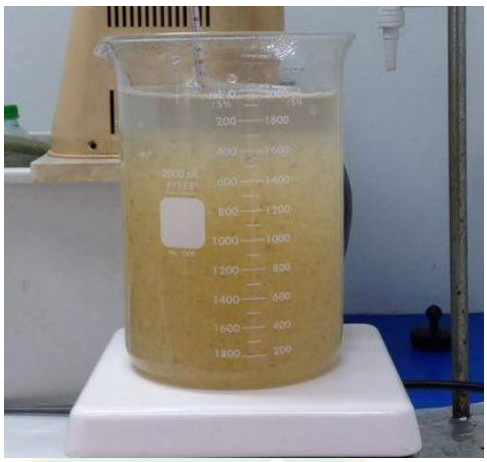
ภาพผนวก ค 1 เกล็ดปลานิลที่ล้างสะอาด



ภาพผนวก ค 2 เติมสาร NaOH 0.1 นอร์มอล กวนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 ℃

ภาพผนวก ค 3 เกล็ดปลานิลหลังจากแช่ NaOH เพื่อกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน

ภาพผนวก ค 4 ล้างน้ำกลั่นจนกระทั่ง pH ของน้ำล้างเป็นกลาง



ภาพผนวก ค 5 แช่ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.5 โมล กวนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 4 °C

ภาพผนวก ค 6 กรองเอาส่วนของเหลวเก็บไว้ นำไปกากไปสกัดอีกครั้ง

ภาพผนวก ค 7 นำส่วนของเหลวที่ได้ มาเติม NaCl เพื่อตกตะกอนโปรตีน

ภาพผนวก ค 8 ตะกอนโปรตีนที่ได้จากการนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของแข็งกับของเหลว

ภาพผนวก ค 9 โปรตีนที่ได้นำไปแช่น้ำกลั่น จนน้ำแช่ pH เป็นกลาง

ภาพผนวก ค 10 นำคอลลาเจนไป Freeze dry

ภาพผนวก ค 11 ผงคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิล

ขั้นตอนการสกัดคอลลาเจนจากหนังปลาสวาย

ภาพผนวก ค 12 หนังปลาสวายที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ

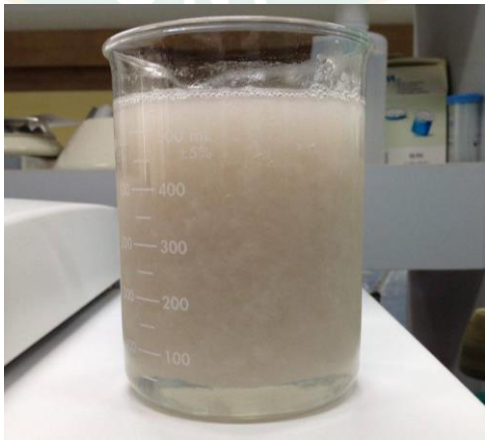
ภาพผนวก ค 13 เติมสาร NaOH 0.1 นอร์มอล กวนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 ℃

ภาพผนวก ค 14 หนังปลาสวายหลังจากแช่ NaOH เพื่อกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน

ภาพผนวก ค 15 ล้างน้ำเย็นจนกระทั่ง pH ของน้ำล้างเป็นกลาง

ภาพผนวก ค 16 แช่ในสารละลายกรดอะซิติก 0.5 โมล กวนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 4 ℃

ภาพผนวก ค 17 กรองเอาส่วนของเหลวเก็บไว้ นำไปกากไปสกัดอีกครั้ง



ภาพผนวก ค 18 นำส่วนของเหลวที่ได้ มาเติม NaCl เพื่อตกตะกอนโปรตีน

ภาพผนวก ค 19 นำตะกอนโปรตีนไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของแข็งกับของเหลว

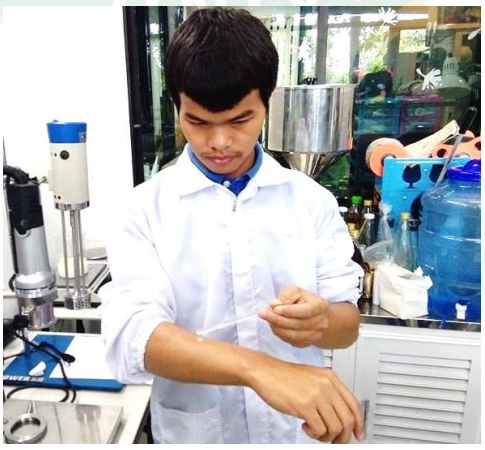
ภาพผนวก ค 20 โปรตีนที่ได้จากการแช่น้ำกลั่น เพื่อให้ pH เป็นกลาง

ภาพผนวก ค 21 นำคอลลาเจนไป Freeze dry

ภาพผนวก ค 22 ผงคอลลาเจนจากหนังปลาสวาย

ขั้นตอนการนำคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

ภาพผนวก ค 23 การพัฒนาตำรับเวชสำอาง (เซรั่มบำรุงผิวหน้า)



ภาพผนวก ค 24 การทดสอบเนื้อเซรั่มบำรุงผิวหน้า

ง. การประมาณราคาต้นทุนการผลิต (คอลลาเจน 100 กรัม)

เกล็ดปลานิล		หนังปลาสวาย		ท้องตลาด	
รายการ	**ราคา**	**รายการ**	**ราคา**	**รายการ**	**ราคา**
เกล็ดปลานิลแห้ง	0	หนังปลาสวาย	75	คอลลาเจนท้องตลาด	600-1500
HCL 102 ml	16	NaOH 49 g	15		
NaOH 49 g	15	กรดอะซิติก 29 ml	6		
กรดอะซิติก 29 ml	6	NaCl 1 kg.	20		
NaCl 1 kg.	20	ค่าไฟฟ้า	100		
ค่าไฟฟ้า	100	ค่าน้ำ	20		
ค่าน้ำ	20	ค่าแรง	300		
ค่าแรง	300				
รวม	477		536		600-1500

***หมายเหตุ**

HCL 2.5 L ราคา 390 บาท

NaOH 1 kg ราคา 295 บาท

กรดอะซิติก 2.5 L ราคา 495 บาท

NaCl 1 kg ราคา 20 บาท

จ. การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ

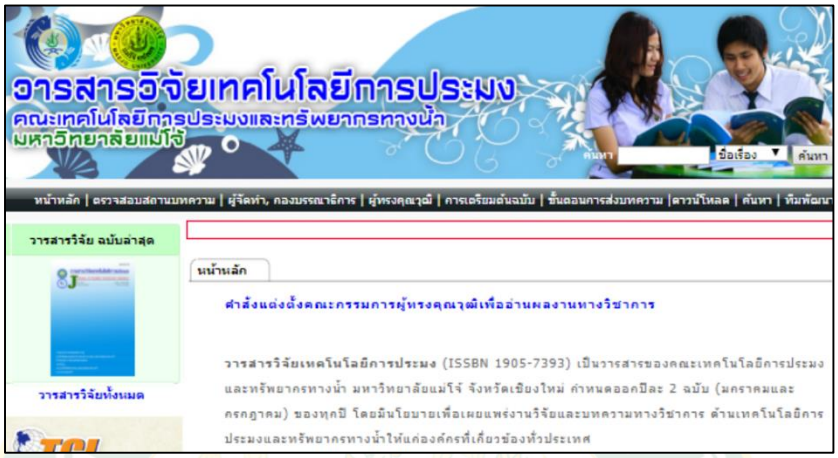
การประกวดนวัตกรรม เรื่อง การใช้ประโยชน์จากเกล็ดปลานิลเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอาง ในงานการประชุมวิชาการและประกวดนวัตกรรมบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 1 “ เทิดพระเกียรติวันแม่แห่งชาติ สู่ความมั่นคง มั่งคั่ง ยั่งยืน” ระหว่างวันที่ 17-18 สิงหาคม 2560 ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติดิเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรสเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ผลการส่งประกวดได้รับรางวัล **Bronze award**

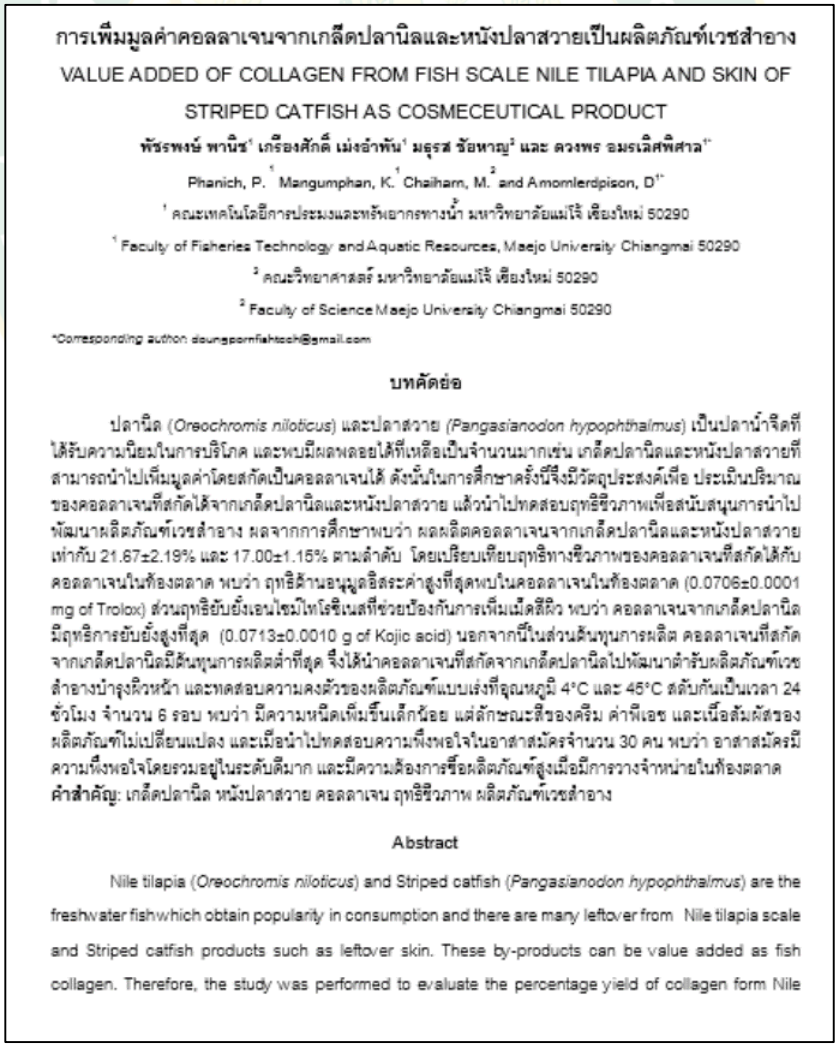
ภาพผนวก ง 1 การประกวดนวัตกรรม

ภาพผนวก ง 2 การประกาศผลรางวัล

ภาพผนวก ง 3 เกียรติบัตรรางวัล BRONZE AWARD

ส่งผลงานตีพิมพ์ผลงานทางวิชาการเรื่อง “การเพิ่มมูลค่าคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอาง” ในวารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง ปีที่ 11 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม – ธันวาคม 2560)





การเพิ่มมูลค่าคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

VALUE ADDED OF COLLAGEN FROM FISH SCALE NILE TILAPIA AND SKIN OF STRIPED CATFISH AS COSMECEUTICAL PRODUCT

พัรพงษ์ พานิช[1] เกรื่องศักดิ์ เม่งอำพัน[1] มธุรส ร้อหาญ[2] และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล[1*]

Phanich, P.[1] Mangumphan, K.[1] Chaiharn, M.[2] and Amornlerdpison, D[1*]

[1] คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[1] Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University Chiangmai 50290

[2] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[2] Faculty of Science Maejo University Chiangmai 50290

*Corresponding author: doungpornfishtech@gmail.com

บทคัดย่อ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาสวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*) เป็นปลาน้ำจืดที่ได้รับความนิยมในการบริโภค และพบมีผลพลอยได้ที่เหลือเป็นจำนวนมากเช่น เกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายที่สามารถนำไปเพิ่มมูลค่าโดยสกัดเป็นคอลลาเจนได้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ประเมินปริมาณของคอลลาเจนที่สกัดได้จากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวาย แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ชีวภาพเพื่อสนับสนุนการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอาง ผลจากการศึกษาพบว่า ผลผลิตคอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลและหนังปลาสวายเท่ากับ 21.67±2.19% และ 17.00±1.15% ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของคอลลาเจนที่สกัดได้กับคอลลาเจนในท้องตลาด พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่าสูงที่สุดพบในคอลลาเจนในท้องตลาด (0.0706±0.0001 mg of Trolox) ส่วนฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ช่วยป้องกันการเพิ่มเม็ดสีผิว พบว่า คอลลาเจนจากเกล็ดปลานิลมีฤทธิ์การยับยั้งสูงที่สุด (0.0713±0.0010 g of Kojic acid) นอกจากนี้ในส่วนต้นทุนการผลิต คอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลมีต้นทุนการผลิตต่ำที่สุด จึงได้นำคอลลาเจนที่สกัดจากเกล็ดปลานิลไปพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เวชสำอางบำรุงผิวหน้า และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งที่อุณหภูมิ 4°C และ 45°C สลับกันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ พบว่า มีความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ลักษณะสีของครีม ค่าพีเอช และเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไม่เปลี่ยนแปลง และเมื่อนำไปทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในระดับดีมาก และมีความต้องการซื้อผลิตภัณฑ์สูงเมื่อมีการวางจำหน่ายในท้องตลาด

คำสำคัญ: เกล็ดปลานิล หนังปลาสวาย คอลลาเจน ฤทธิ์ชีวภาพ ผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

Abstract

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) are the freshwater fishwhich obtain popularity in consumption and there are many leftover from Nile tilapia scale and Striped catfish products such as leftover skin. These by-products can be value added as fish collagen. Therefore, the study was performed to evaluate the percentage yield of collagen form Nile

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นายพัชรพงษ์ พานิช	
เกิดเมื่อ	21 พฤษภาคม 2533	
ประวัติการศึกษา	2556	จบการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ - เชียงใหม่ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290
	2554	จบการศึกษาระดับประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีเชียงใหม่ ตำบลบ้านกลาง อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ 50120
ประวัติการทำงาน	2557	เจ้าหน้าที่ธุรการ โรงพิมพ์แสงศิลป์ เชียงใหม่ : ถนนพระปกเกล้า ตำบล ศรีภูมิ อำเภอเมือง จ.เชียงใหม่ 50200
	2557	พนักงานต้อนรับ- เจ้าหน้าที่ฝ่ายตกแต่งสถานที่ / Part time โรงแรมโคซี่ เทล เชียงใหม่ : ตำบล ศรีภูมิ อำเภอเมือง จ. เชียงใหม่ 50200
	2560	เจ้าหน้าที่ปฏิบัติงานโครงการนำร่องการพัฒนาบัณฑิตวิจัยนักปฏิบัติ เพื่ออุตสาหกรรมและธุรกิจอุตสาหกรรมให้บริการเชิงเกษตร ประจำบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ : ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY