คุณลักษณะ และสมบัติเชิงหน้าที่ของเจลาตินจากหนังปลาสลาด (*Notopterus notopterus*) และการประยุกต์ใช้สำหรับการผลิตเยลลี่

CHARACTERISTICS AND FUNCTIONALITIES OF GELATIN FROM THE SKIN OF PLA SALAT (*Notopterus notopterus*) AND ITS APPLICATION FOR JELLY PRODUCTION

ศิริพันธรัตน์ วัฒนโยธิน

SIRIPANTARAT WATTHANAYOTHIN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2557

KMITL-2014-AI-M-053-217

CHARACTERISTICS AND FUNCTIONALITIES OF GELATIN FROM THE SKIN OF PLA SALAT (*Notopterus notopterus*) AND ITS APPLICATION FOR JELLY PRODUCTION

SIRIPANTARAT WATTHANAYOTHIN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2014

KMITL-2014-AI-M-053-217

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์	คุณลักษณะและสมบัติเชิงหน้าที่ของเจลาตินจากหนังปลาสลาด *(Notopterus notopterus)* และการประยุกต์ใช้สำหรับการผลิตเยลลี่ CHARATERISTICS AND FUNCTIONALITIES OF GELATIN FROM THE SKIN OF PLA SALAT *(Notopterus notopterus)* AND ITS APPLICATION FOR JELLY PRODUCTION
ชื่อนักศึกษา	นางสาวศิริพันธรัตน์ วัฒนโยธิน
รหัสประจำตัว	53680225
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.สิทธิพงศ์ นลินานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	-

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.สิทธิพงศ์ นลินานนท์	
รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม	
ดร.ธงชัย พุฒทองศิริ	
รศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 12 ธันวาคม 2557 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 303 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่....15.....เดือน.....ธ.ค......พ.ศ...2557......

หัวข้อวิทยานิพนธ์	คุณลักษณะ และสมบัติเชิงหน้าที่ของเจลาตินจากหนังปลาสลาด (*Notopterus notopterus*) และการประยุกต์ใช้สำหรับการผลิตเยลลี่
นักศึกษา	นางสาวศิริพันธรัตน์ วัฒนโยธิน
รหัสประจำตัว	53680225
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2557
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.สิทธิพงศ์ นลินานนท์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกคุณลักษณะเจลาตินที่สกัดได้จากหนังปลาสลาด (*Notopterus notopterus*) (SG) รวมทั้งวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ ได้แก่ สมบัติการเกิดเจล สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และสมบัติการเกิดโฟม ของ SG โดยเปรียบเทียบกับเจลาตินเกรดที่ใช้ในอาหาร (FG) การสกัดเจลาตินด้วยวิธีการเตรียมตัวอย่าง โดยใช้กรดก่อนการสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 12 ชม. ทำให้ได้ปริมาณผลผลิตคิดเป็น 7.24 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) SG มีปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนสูง (89.24 มก./กรัม ตัวอย่าง) ซึ่งสูงกว่าที่พบในหนังปลาสลาดประมาณ 4 เท่า อย่างไรก็ตาม SG มีปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนต่ำกว่า FG แต่พบปริมาณโปรตีนสูงกว่าเล็กน้อย ($P \leq 0.05$) การศึกษาด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีสีส แสดงให้เห็นว่า SG ประกอบไปด้วยองค์ประกอบของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าที่พบใน FG เมื่อทำการละลายเจลาตินพบว่าสารละลาย FG มีลักษณะใสและมีค่า L* สูงกว่าที่พบในสารละลาย SG SG แสดงค่าความแข็งแรงเจล (77.35 กรัม) ต่ำกว่า FG (130.89 กรัม) ($P \leq 0.05$) โดยทั่วไป SG มีสมบัติการเกิดโฟมเหมือนกับ FG อย่างไรก็ตามพบว่า SG มีค่าดัชนีกิจกรรมการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (EAI) ที่ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบบนพื้นฐานค่าความแข็งแรงเจลและคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส พบว่า ระดับการทดแทนเจลาตินทางการค้าด้วย SG สูงสุดในการผลิตเยลลี่เท่ากับ 40 เปอ์เซ็นต์โดยไม่เกิดผลลบต่อสมบัติด้านกลิ่นรส เนื้อสัมผัส และรสชาติของเยลลี่ที่ผลิตได้ ($p \geq 0.05$)การติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าสี ความแข็งแรงเจล พีเอช และการสูญเสียน้ำหนักของเยลลี่ที่ระดับการทดแทนด้วย SG 40 เปอร์เซ็นต์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 24 วัน พบว่า ค่าสีและพีเอชของเยลลี่มีความคงตัว

ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา อย่างไรก็ตาม ค่าความแข็งแรงเจลของเยลลี่ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น (*$P \leqslant 0.05$*) การสูญเสียน้ำหนักของเยลลี่จะพบได้ชัดเจนที่ระยะเวลาเก็บรักษาเป็นเวลานาน 2 วัน (*$P \leqslant 0.05$*) และมีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มเรื่อยๆเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า SG ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มจากผลพลอยได้จากการแปรรูปปลา มีศักยภาพสูงสำหรับการประยุกต์ใช้เพื่อทดแทนเจลาตินทางการค้า

Thesis	Charateristics and functionalities of gelatin from the skin of Pla Salat (*Notopterus notopterus*) and its application for jelly production
Student	Miss Siripantarat Watthanayothin
Student ID.	53680225
Degree	Master of Science
Program	Food Science
Year	2014
Thesis Advisor	Dr. Sitthipong Nalinanon

ABSTRACT

The objectives of this study were to characterize the gelatin extracted from Pla Salat (*Notopterus notopterus*) skin (SG) and to study on its application for jelly production. Functional properties, including gelling, emulsifying and foaming properties, of SG were also determined in comparison with commercial food grade gelatin (FG). The yield of SG prepared by acid pretreatment method prior to extractionwith distilled water at 60 °C for 12 h was 7.24% (dry weight basis). SG had high hydroxyproline content (89.24 mg/g sample) which was approximately 4 times higher than that of Pla Salat skin. However, SG contained lower hydroxyproline content with the slightly higher protein content than FG ($p \leq 0.05$). Electrophoretic study revealed that SG comprised major protein components with lower molecular weight than that of FG. When gelatins were dissolved, FG generally exhibited clear solution with greater L*-value than SG. SG showed the lower gel strength (77.35 g) than did FG (130.89 g) ($p \leq 0.05$). Generally, SG exhibited similar foaming properties to FG. However, the better emulsifying activity index (EAI) was obtained for SG. Substitution of FG by SG for jelly production was also studied. Based on gel strength and sensory properties, the maximum degree of substitution of SG for jelly production was found at 40% with no negative effects on flavor, texture and taste ($p > 0.05$). Changes in color, gel strength, pH and weight loss of jelly with 40% SG substitution were monitored during storage at 4 °C for 24 days. The results showed that color

and pH of jelly were stable over storage time tested. However, gel strength of jelly decreased with increasing storage time (*$p \leqslant 0.05$*). Weight loss of jelly was noticeable at day 2 of storage (*$p \leqslant 0.05$*) and then increasing gradually with increasing storage time. Therefore, this study shows that SG, a value-added product from fish processing byproduct, has high potential for application as an alternative to commercial gelatin.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร.สิทธิพงศ์ นลินานนท์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อเสนอแนะในการดำเนินงานวิจัยนี้ให้ลุล่วงไปด้วยดี รวมไปถึงการให้ความช่วยเหลือในการแก้ไขงานในหลายๆ ด้านที่เป็นประโยชน์ต่อผู้วิจัย และการได้รับโอกาสดีๆ หลายๆ อย่างที่ข้าพเจ้าได้รับมาเป็นความรู้และประสบการณ์ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม รศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ และดร.ธงชัย พุทธทองศิริ ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์และกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมในส่วนที่บกพร่องในงานวิจัยให้มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับงานวิจัยฉบับนี้

ขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่คอยดูแลอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือและสารเคมี รวมทั้งเพื่อน ๆ และน้อง ๆ นักศึกษาภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เป็นกำลังใจและช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

นางสาวศิริพันธรัตน์ วัฒนโยธิน

สารบัญ

สารบัญ (ต่อ)

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ปลาสลาด (*N. notopterus*) มีชื่อสามัญเรียกว่า Pla Salat เป็นปลาน้ำจืดที่มีรูปร่างคล้ายปลากราย แต่มีขนาดเล็กกว่า ไม่มีจุดสีดำ นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย โดยทั่วไปนิยมใช้เนื้อปลาสลาดเพื่อทดแทนเนื้อปลากราย เนื่องจากมีลักษณะเหนียว นุ่ม เหมือนเนื้อปลากราย ทำให้สามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ทอดมัน และลูกชิ้น เป็นต้น ในกระบวนการแปรรูปปลาสลาดทำให้เกิดวัสดุเศษเหลือ หรือผลพลอยได้จากการแปรรูป เช่น เนื้อปลา หัวปลา หนังปลา ก้างปลา และอื่น ๆ คิดเป็นปริมาณสูงถึง 40, 24, 20, 14 และ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อย่างไรก็ตามผลพลอยได้จากการแปรรูปเหล่านี้ โดยเฉพาะหนังปลาสลาด ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีโปรตีนสำคัญคือ คอลลาเจนในปริมาณสูง สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ โดยการนำมาสกัดและเปลี่ยนรูปไปเป็นเจลาติน ดังนั้นวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลา โดยเฉพาะหนังปลาสลาดจึงเป็นแหล่งวัตถุดิบของการผลิตเจลาตินที่มีศักยภาพและปราศจากข้อจำกัด ทั้งยังทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด และยังเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการผลิตเจลาตินจากสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ได้ในอนาคต อย่างไรก็ตามหนังปลาสลาดเป็นแหล่งของโปรตีนโดยเฉพาะคอลลาเจนซึ่งสามารถสกัดออกมาในรูปเจลาตินและนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารยา เครื่องสำอางและบรรจุภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ได้ (Kolodziejska *et al.*, 2008) ดังนั้น การนำหนังปลาสลาดมาใช้ประโยชน์ในการนำมาสกัดออกมาในรูปเจลาตินจึงเป็นทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคที่มีข้อจำกัดทางศาสนา เช่น อิสลามและยิว ได้ (Herpand and Aquatic, 2011)

เจลาตินเป็นโปรตีนที่ละลายน้ำ ได้จากการไฮโดรไลซ์บางส่วนของคอลลาเจน ดังนั้นวัตถุดิบในการสกัดเจลาตินจึงได้แก่ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีคอลลาเจนเป็นส่วนประกอบเช่นเส้นเอ็นกระดูกผิวหนังเส้นเลือดเป็นต้นเจลาตินสามารถเกิดเจลในน้ำภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและเจลที่เกิดขึ้นสามารถย้อนกลับได้ด้วยความร้อน เจลาตินยังมีสมบัติอื่นๆ เช่นการยึดติด การเกิดโฟม การข้นเหนียวหรือความหนืดและการทำให้อิมัลชันคงตัวเป็นต้น เจลาตินจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร ยา ภาพถ่ายและทางการแพทย์ สำหรับในด้านของอาหารใช้ เจลาตินเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เบเกอรี่ เนื้อสัตว์และนม รวมถึงใช้ปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารบางชนิดได้อีกด้วย เจลาตินมีส่วนแบ่งทางการตลาดประมาณ 1 ใน 4 ของไฮโดรคอลลอยด์ที่ใช้ในอาหาร ซึ่งถือว่าสูงที่สุดเทียบเท่ากับสตาร์ช เพราะเจลาตินสามารถ

ใช้ประโยชน์เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายชนิด (Djagny *et al.*, 2001)

เจลาตินส่วนใหญ่ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดเป็นเจลาตินจากสัตว์บก เช่นโคสุกร แต่ในช่วงที่ผ่านมามีการระบาดของโรควัวบ้า (Bovine Spongiform Encephalopathy, BSE) ในโค และโรคปากเท้าเปื่อยในสุกร ทำให้ผู้บริโภควิตกในการรับประทานผลิตภัณฑ์จากสัตว์ดังกล่าว ปัจจุบันจึงเริ่มมีการสกัดเจลาตินจากแหล่งอื่นเช่นปลาหรือสัตว์ทะเล เป็นต้น

เยลลี่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานกันมานานซึ่งมีการผลิตในระดับครัวเรือน และระดับอุตสาหกรรม เยลลี่จึงเป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ดีในการนำเจลาตินมาใช้ประโยชน์ เนื่องด้วยคุณสมบัติการเกิดเจลของเจลาตินเป็นสิ่งสำคัญต่อการพิจารณาคุณภาพและการประยุกต์ใช้ ดังนั้น การนำเจลาตินจากหนังปลาสลาดมาผลิตเป็นเยลลี่ในแง่การทดแทนเจลาตินทางการค้า จึงเป็นตัวแทนสำคัญที่แสดงตัวอย่างการนำเจลาตินที่ได้ไปประยุกต์ใช้จริงในผลิตภัณฑ์อาหาร

ผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดในการนำเจลาตินที่สกัดได้จากหนังปลาสลาดมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เยลลี่ เพื่อศึกษาคุณลักษณะของเจลาตินที่สกัดได้และการยอมรับจากผู้บริโภค ในการประยุกต์ใช้เจลาตินที่สกัดได้จากหนังปลาสลาดในการนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของเจลาตินจากหนังปลาสลาด

1.2.2 เพื่อศึกษาการใช้เจลาตินจากหนังปลาสลาดทดแทนเจลาตินทางการค้าในการผลิตเยลลี่

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเยลลี่เจลาตินจากหนังปลาสลาด

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของเจลาตินจากหนังปลาสลาด ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมี รูปแบบโปรตีน และสมบัติการเกิดเจล เป็นต้น รวมทั้งการประยุกต์ใช้เจลาตินจากหนังปลาสลาดในการผลิตเยลลี่และติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ระหว่างการเก็บรักษา

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถผลิตและทราบคุณสมบัติเบื้องต้นของเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาสลาด

1.4.2 ทราบสูตรที่เหมาะสมในการผลิตเยลลี่อันเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

1.4.3 ทราบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเยลลี่เจลาตินที่เก็บในระยะเวลาต่างๆ

บทที่ 2

ทฤษฎี และวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลาสลาด

ปลาสลาด (ชื่อสามัญ: Grey Featherback ชื่อวิทยาศาสตร์: *Notopterus notopterus*) แสดงดังภาพที่ 1 เป็นปลาน้ำจืดที่มีรูปร่างคล้ายปลากรายแต่มีขนาดเล็กกว่า ไม่มีจุดสีดำที่ครีบก้นลำตัวมีสีขาวปนเทา ครีบหลังและอกมีขนาดใกล้เคียงกัน ครีบท้องมีขนาดเล็กมาก ครีบก้นและครีบหางเชื่อมติดกันเป็นแผ่นเดียว โดยทั่วไปมีขนาดความยาว 15-30 เซนติเมตร พบในแม่น้ำลำคลองทั่วไปในทุกภาคของประเทศไทย ชอบกินลูกปลา ลูกกุ้งเป็นอาหาร (สันต์ นาตะสุวรรณ, 2548) ปลาสลาดเป็นปลาที่หาง่าย มักอยู่รวมกันเป็นฝูงใหญ่มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามท้องถิ่นที่พบ เช่น ภาคเหนือเรียก “หางแพน” แต่ชาวแม่ฮ่องสอน เรียกว่า “ปลาวาง” ภาคอีสาน มีชื่อว่า “ปลาตอง” และสามารถพบได้ที่ภูมิภาคเอเชียใต้และเอเชียอาคเนย์ไปจนถึงเกาะสุมาตราและชวาหรือบอร์เนียว เป็นต้น (สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์, 2547) ปลาสลาด เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งและนิยมนำเนื้อไปทำทอดมันแทนเนื้อปลากรายซึ่งมีราคาแพงกว่านอกจากนี้ยังแปรรูปเป็นอาหารอื่นๆได้อีก เช่น ลูกชิ้น หรือ ไส้กรอกรมควัน เป็นต้น

จากการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัยพบว่า องค์ประกอบทางกายภาพของปลาสลาดที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 6 ตัวต่อกิโลกรัม ประกอบด้วยส่วนที่เป็นเนื้อปลา หัวปลา หนังปลา ก้างปลา และอื่น ๆ คิดเป็นปริมาณสูงถึง 40, 24, 20, 14 และ 2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

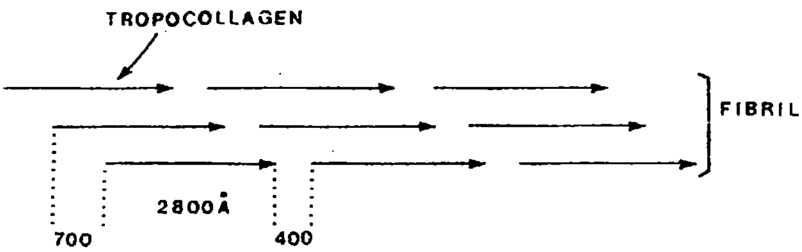
ภาพที่ 2.1 ปลาสลาด

ที่มา: กรมประมง (2555)

2.2 คอลลาเจน

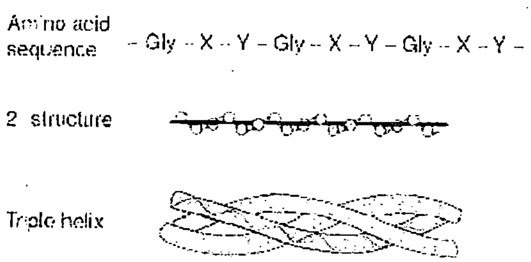
เจลาตินผลิตได้จากแหล่งสารประกอบที่สำคัญคือ คอลลาเจน ซึ่งคอลลาเจนมาจากภาษากรีก หมายถึง สิ่งที่ให้ผลผลิตเป็นเจลาติน หรือกาว คอลลาเจน (collagen) เป็นโปรตีนในกลุ่มโปรตีนเส้นใย (fibrous protein) จากสัตว์ที่พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เป็นส่วนประกอบหลักในโครงสร้างของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น เส้นเอ็น กระดูก ผิวหนัง ระบบท่อลำเลียงในสัตว์ รวมถึงแผ่นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่รอบกล้ามเนื้อ ซึ่งมีลักษณะเหนียวแต่ยืดไม่ได้ มีแรงต้านแรงดึงสูงมาก ทำให้กล้ามเนื้อเหนียวโปรตีนกล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีคอลลาเจนประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปลาจะมีปริมาณน้อยกว่าคอลลาเจนจัดเป็นพวกโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble protein) โดยจะไม่ละลายในน้ำเย็น กรดอ่อน ด่างอ่อน แต่สามารถละลายได้ในน้ำร้อน (Moulton, 1984) และเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในหนัง กระดูก เส้นเอ็น และกระดูกอ่อน (Foegeding *et al.*, 1996)

เส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) และในแต่ละเส้นใยมีแขนง (branch) เชื่อมต่อกัน เส้นใยประกอบไปด้วยคอลลาเจนไฟบริล (collagen fibril) ซึ่งประกอบด้วย โทรโพคอลลาเจน (tropocollagen) ที่เป็นหน่วยย่อยของคอลลาเจน และมีการจัดเรียงสลับเหลื่อมกันประมาณ 1 ใน 4 ของความยาวของโทรโพคอลลาเจน(Wong, 1998) โทรโพคอลลาเจนมีรูปทรงกระบอกยาวประมาณ 2,800 อังสตรอม และมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 14-15 อังสตรอม (ภาพที่ 2.2) ประกอบด้วยพอลิเปปไทด์ 3 สาย ซึ่งเรียกว่า α-chain โดยแต่ละสายของพอลิเพปไทด์ ขดเป็นเกลียววนซ้าย และรวมเข้าด้วยกัน บิดเป็นเกลียวเหมือนขดลวดวนขวาพันขดไปมาเป็นtriple helix ด้วยพันธะไฮโดรเจน แต่ละสายมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 100,000 ดาลตัน เกิดเป็นโทรโพคอลลาเจนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 300,000 ดาลตัน (Foegeding *et al.*, 1996) สายแอลฟาแต่ละสายมีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 1,000 หน่วย (Wong, 1998)ระหว่างโมเลกุลของโทรโพคอลลาเจนประกอบด้วยสารประกอบพื้นฐานคือโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และน้ำซึ่งช่วยให้โมเลกุลของโทรโพคอลลาเจนเกิดการเชื่อมต่อกันเป็นคอลลาเจนไฟบริล แสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 การจัดเรียงตัวของโทรโพคอลลาเจน

ที่มา: Wong (1998)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างอันดับ 1, 2 และ 3 ของคอลลาเจน

ที่มา: ตระกูล พรหมจักร (2552)

กรดอะมิโนในคอลลาเจนไม่สมดุลทางโภชนาการเช่นขาดทริพโตเฟนแต่มีไกลซีน (glycine) โพรลีน (proline) และไฮดรอกซีโพรลีน (hyproxyproline) สูงและเป็นหนึ่งในโปรตีนเพียงไม่กี่ชนิดที่มีไฮดรอกซีไลซีน คอลลาเจนมีปริมาณไกลซีนเกือบ 1 ใน 3 ของกรดอะมิโนทั้งหมดโดยกระจายตัวอยู่ทุก 3 ตำแหน่ง ตลอดโมเลกุลคอลลาเจนยกเว้นตำแหน่งที่ 14 จากปลาย N และตำแหน่งที่ 10 จากปลาย C ไกลซีนเป็นกรดอะมิโนที่มีขนาดเล็กที่สุดและมีบทบาทเด่นในโปรตีนโครงสร้างเส้นใยคอลลาเจนคอลลาเจนเป็นโปรตีนเพียงชนิดเดียวที่มีไฮดรอกซีโพรลีนสูงคือ มากถึง 10 เปอร์เซ็นต์ในคอลลาเจนของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแต่ในปลาจะมีปริมาณน้อยกว่าและเนื่องจากคอลลาเจนมีไฮดรอกซีโพรลีนมากกว่าโปรตีนชนิดอื่นมากจึงมักใช้ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน เพื่อบอกปริมาณคอลลาเจนในอาหาร การรวมตัวของสายเกลียว 3 สาย ไกลซีนจะอยู่ด้านใน (แกน) ของสายเกลียว ส่วนวงแหวนของ โพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนจะชี้ออกด้านนอกจากสายเกลียว โพรลีนทำให้โครงสร้าง triple helix เสถียรโดยป้องกันการหมุนตัวของพันธะ N-C ส่วนไฮดรอกซีโพรลีนก็ช่วยทำให้โมเลกุลคอลลาเจนเสถียรโดยทั้งโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนจะช่วยให้หน่วยย่อยของโปรตีนคอลลาเจนเสถียรต่อความร้อน คอลลาเจนที่มีปริมาณกรดอิมิโน (imino acid) ต่ำจะเสียสภาพที่อุณหภูมิต่ำกว่าคอลลาเจนที่มีกรดอิมิโนสูง พบว่า ปริมาณกรดอิมิโนและความเสถียรต่อความร้อนของคอลลาเจนในปลามีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ (Foegeding *et al.*, 1996)

คอลลาเจนยังมีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบซึ่งอาจเป็นแล็กโทสหรือกาแล็กโทส เชื่อมต่อกับไฮดรอกซีไลซีนที่หมู่ไฮดรอกซิลของกรดอะมิโนการเชื่อมต่อกับหมู่น้ำตาล (glycosylation) และอัตราส่วนระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวกับน้ำตาลโมเลกุลคู่ขึ้นอยู่กับชนิดของ คอลลาเจนและสภาวะทางสรีรวิทยาหน้าที่ของคาร์โบไฮเดรตในคอลลาเจนยังไม่ทราบแน่ชัดแต่อาจจะเกี่ยวข้องกับการรวมตัวเป็น fibril ของโมเลกุลคอลลาเจนและการกำหนดขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลางของ fibril (ตระกูล พรหมจักร, 2552)

ปัจจุบันพบคอลลาเจนในสัตว์อย่างน้อย 30 ชนิดแต่ชนิดที่พบมากในปลาคือชนิด I นอกจากนี้ยังพบชนิด II, III, IV, V และ VI ด้วยลักษณะสำคัญของคอลลาเจนทั้ง 6 ชนิดแสดงดังตารางที่ 2.1 (ตระกูล พรหมจักร, 2552)

ตารางที่ 2.1 ชนิดของคอลลาเจนที่พบในปลา

ชนิด	สายองค์ประกอบ	ตำแหน่งที่พบ
I	$[\alpha 1(I)]_2[\alpha (I)]$	ผิวหนัง กระดูก และเส้นเอ็น
II	$[\alpha 1(II)]_3$	กระดูกอ่อน
III	$[\alpha 1(III)]_3$	หลอดเลือด และอวัยวะภายใน
IV	$[\alpha 1(IV)]_2[\alpha 2(IV)]$	ชั้นรองรับเยื่อบุผิว (basal lamina) เลนส์ตาและระบบกรองภายในไต
V	$[\alpha 1(V)][\alpha 2(V)][\alpha 3(V)]$	เนื้อเยื่อแทรก
VI	$[\alpha 1(VI)][\alpha 2(VI)][\alpha 3(VI)]$	เนื้อเยื่อแทรก

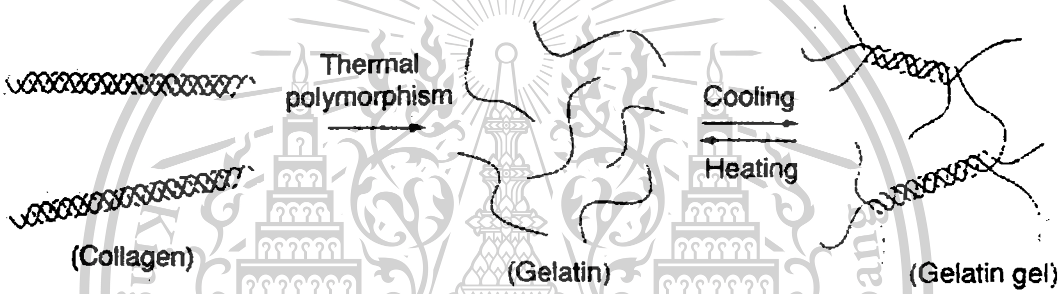
ที่มา: (ตระกูล พรหมจักร, 2552)

การปรุงอาหาร (cooking)เช่น การตุ๋น (stewing) จะทำให้เนื้อสัตว์อ่อนนุ่มขึ้นเมื่อคอลลาเจนได้รับความร้อน เช่น การต้มในน้ำเดือดคอลลาเจนจะเสียสภาพธรรมชาติ มีขนาดโมเลกุลเล็กลงได้เป็นเจลาติน (gelatin)ดังนั้น เจลาติน คือโปรตีนคอลลาเจนที่เสียสภาพธรรมชาติด้วยความร้อน และทั้งคอลลาเจนและเจลาตินจัดเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพต่ำ การสังเคราะห์โปรตีนคอลลาเจนในร่างกายจำเป็นต้องมีวิตามินซีร่วมด้วย การขาดวิตามินซีจะทำให้การสังเคราะห์คอลลาเจนบกพร่องได้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2556)

2.3 เจลาติน

เจลาตินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งมีลักษณะเป็นคอลลอยด์ และสามารถผลิตได้จากแหล่งวัตถุดิบที่มีคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบ (Ward and Courts, 1977) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นผลพลอยได้ของสัตว์ที่ได้จากโรงงานฆ่าสัตว์ โรงงานฟอกหนัง เนื่องจากวัตถุดิบเหล่านี้มีองค์ประกอบที่สำคัญคือคอลลาเจน ซึ่งเมื่อนำมาผ่านกระบวนการผลิตสามารถเปลี่ยนเป็นเจลาตินได้ ในระดับอุตสาหกรรมมักใช้กระดูก และหนังของสัตว์ต่าง ๆ เช่น โค กระบือ และสุกร (วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์, 2540) เจลาตินเป็นผลผลิตจากการสูญเสียสภาพทางธรรมชาติด้วยความร้อน (thermal denaturation) ของคอลลาเจน (Ward and Courts, 1977) ความร้อนมีผลทำลายพันธะระหว่างโมเลกุล และพันธะภายในโมเลกุลของคอลลาเจน และทำลายพันธะเปปไทด์ของสายพอลิเปปไทด์ที่สำคัญบางสาย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างคอลลาเจนจากพอลิเปปไทด์ 3 สาย ซึ่งจัดเรียงตัวกันในลักษณะซูเปอร์เฮลิกซ์ไปเป็นรูปอสัณฐาน (amorphous form) ที่

เรียกว่า เจลาติน (Foegeding*et al.,* 1996) เจลาตินประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งหมด 19 ชนิด ต่อด้วยพันธะเปปไทด์ (peptide) เป็นสายยาว เจลาตินเป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นคือ ทริปโตเฟน นอกจากนี้เจลาตินที่ได้จากแหล่งวัตถุดิบที่แตกต่างกันจะมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันเจลาตินสามารถก่อเจลรวมกับน้ำเกิดเป็นเจลที่ย้อนกลับได้ด้วยความร้อน (thermally reversible gel) เจลาตินที่มีจำหน่ายในปัจจุบันมีทั้งที่อยู่ในรูปเจลาตินผงและเจลาตินแผ่นข้อเสียของเจลาตินคือ ผลิตจากหนังหรือกระดูกสัตว์ในขณะที่สารก่อเจลอื่นๆ เช่น สตาร์ชแอลจิเนตเพคติน วุ้น และคาราจีแนนเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ได้มาจากพืชอย่างไรก็ตามเจลของสารเหล่านี้ขาดสมบัติการละลายในปากและความยืดหยุ่นซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเจลาติน (ตระกูล พรหมจักร, 2552)



ภาพที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงคอลลาเจนไปเป็นเจลาติน

ที่มา: Okuzaki (2001)

2.4 เจลาตินจากปลา

เจลาตินจากวัสดุเศษเหลือประเภทหนัง กระดูก และ ครีบ ของปลาน้ำเค็ม (ทั้งเขตน้ำอุ่นและเขตน้ำเย็น) จัดเป็นแหล่งวัตถุดิบทางเลือกในการใช้สำหรับการผลิตเจลาตินได้เป็นอย่างดี โดยแหล่งดังกล่าวนี้มีข้อดีในด้านไม่มีความเสี่ยงจากการปนเปื้อนโรคร้ายจากสัตว์ที่อาจจะถูกส่งผ่านมายังคน โดยเฉพาะโรควัวบ้า (Bovine Spongiform Encephalopathy: BSE) นอกจากนั้นเจลาตินจากปลายังเป็นที่ยอมรับในกลุ่มผู้บริโภคอิสลาม หรือพวกเคร่งศาสนาอย่างยิวและฮินดูได้อีกด้วย เจลาตินจากปลายังมีข้อดีอีกอย่างคือ เป็นผลิตผลพลอยได้ที่มีคุณค่าสูงจากวัสดุเศษเหลือซึ่งปกติจะเป็นสาเหตุของปัญหาสิ่งแวดล้อม Nagai and Suzuki (2000) รายงานว่าปริมาณคอลลาเจนที่แยกได้จากเศษเหลือของหนังในการแปรรูปปลา Japaness sea-bass, chub mackerel และปลา bullhead shark มีค่าสูงถึง 51.4, 49.8 และ

50.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งการผลิตเจลาตินจากเศษเหลือของปลาไม่ได้เป็นสิ่งค้นพบใหม่ แต่ในความเป็นจริงมีการรายงานมาตั้งแต่สมัยปี 1960 แล้วถึงการสกัดเจลาตินจากหนังปลาโดยการใช้วิธีการสกัดด้วยกรดและมีการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม มีการจดลิขสิทธิ์เรื่องการสกัดและศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของเจลาตินในสหรัฐอเมริกา (US patent) ซึ่งหลังจากนั้นเป็นต้นมานักวิจัยก็พยายามศึกษาค้นคว้าในด้านต่าง ๆ เกี่ยวกับการสกัดเจลาตินจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลากันอย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็นปลาเขตน้ำเย็น (เช่นปลา cod, hake, Alaska pollock, และปลา salmon) หรือปลาเขตน้ำอุ่น (tuna, catfish, tilapia, Nile perch, shark, และ megrim) ดังตารางที่ 2.2

2.5 การสกัดเจลาติน

เจลาตินสามารถสกัดจากวัตถุดิบหลายชนิด โดยเริ่มจากการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน รวมทั้งการกำจัดแร่ธาตุและแช่ด้วยสารละลายกรดเพื่อให้เกิดการพองตัวก่อนนำไปสกัดด้วยน้ำร้อน (อุณหภูมิ 45องศาเซลเซียส) (Gomez-Guillen *et al.*, 2002) จากนั้นนำสารละลายเจลาตินที่ได้ไปกรองและทำแห้ง กระบวนการเตรียมเจลาตินโดยทั่วไปแสดงดังภาพที่ 2.5 Gomez-Guillen and Montero (2001) ศึกษาการสกัดเจลาตินจากหนังปลา megrim พบว่าการแช่หนังปลาด้วยกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิกทำให้ได้ค่า elastic modulus, viscous modulus อุณหภูมิการหลอมตัว และความแข็งแรงเจลของเจลาตินสูงสุด กรดซิตริกให้ความขุ่นต่ำสุด ส่วนการใช้กรดโพรพิโอนิกให้ความขุ่นสูงสุด นอกจากนี้การนำหนังปลา mergrim ไปผ่านการแช่ด้วยโซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางตามลำดับ ก่อนนำไปทำให้พองด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 0.05 โมลาร์ และเข้าสู่กระบวนการสกัด เจลาตินด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทำให้ได้เจลาตินที่ละลายได้ดี และมีคุณภาพสูง Montero andGomez-Guillen (2000) และ Gomez-Guillen *et al.* (2002) ศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางกายภาพของเจลาตินที่สกัดจากหนังสัตว์น้ำจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ปลา mergrim, dover sole, cod, hake และ ปลาหมึกกล้วยพบว่า เจลาตินจากหนังของปลา dover sole และ mergrim มีความสามารถในการเกิดเจลสูงสุด และทนความร้อนได้มากกว่าเจลาตินจากปลา cod, hake และ ปลาหมึกกล้วย เนื่องจากหนังของปลา dover sole และ mergrim มีสัดส่วนระหว่าง $\alpha 1$ และ $\alpha 2$ สูงกว่าเจลาตินจากหนังของปลา cod, hake และ ปลาหมึกกล้วย และประกอบด้วย β-component ในปริมาณสูงกว่า ซึ่งβ-component สามารถเชื่อมประสานกับ α-chain dimer ด้วยพันธะโควาเลนต์ เกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ ดังนั้นเจลาตินจากหนังของ dover sole และ mergrim จึงมีความสามารถในการเกิดเจล และทนความร้อนได้สูงกว่าเจลาตินจากหนังของปลา cod, hake และปลาหมึกกล้วยเป็นต้น

ตารางที่ 2.2 ปริมาณกรดอะมิโนในเจลาตินปลาชนิดต่าง ๆ (ส่วนที่เปรียบเทียบต่อ 1000 ส่วนของกรดอะมิโน)

Amino acids	Cod skin	Alaska pollock skin	Hake	Megrim	Tilapia skin	Pork skin
Alanine	96	108	119	123	123	112
Arginine	56	51	54	54	47	49
Aspartic acid	52	51	49	48	48	46
Glutamic acid	75	74	74	72	69	72
Glycine	344	358	331	350	347	330
Histidine	8	8	10	8	6	4
Hydoxylysine	6	6	5	5	8	6
Hydroxyproline	50	55	59	60	79	91
Isoleucine	11	11	9	8	8	10
Leucine	22	20	23	21	23	24
Lycine	29	26	28	27	25	27
Methionine	17	16	15	13	9	4
Phenylanine	16	12	15	14	13	14
Proline	106	95	114	115	119	132
Serine	64	63	49	41	35	35
Threonine	25	25	22	20	24	18
Tyrosine	3	3	4	3	2	3
Valine	18	18	19	18	15	26
Imino acid	156	150	173	175	198	223

ที่มา: Karim and Bhat (2009)

วัตถุดิบ (หนังปลา)

↓

ล้างทำความสะอาด

↓

ลดขนาดโดยตัดเป็นชิ้นเลกขนาดประมาณ 0.5 ซม. x 0.5 ซม.

↓

แช่ในสารละลายโซเดียมครอไรด์ 0.025 โมลาร์ เพื่อกำจัดโปรตีนที่ไม่ใชคอลลาเจล

↓

ล่างด้วยน้ำจนน้ำที่ล้างที่ pH 6.5 – 7.0 (เป็นกลาง)

↓

สกัดโดยใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45 -60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

↓

กรองแยกกากได้สารละลายเจลาตินใส

↓

ระเหยน้ำให้สารละลายเจลาตินเข้มข้นด้วยเครื่องระเหยน้ำ

↓

ทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบระเหิด (Freeze-dryer)

↓

เจลินแผ่น

↓

บดละเอียด

↓

เจลาตินผง

ภาพที่ 2.5 แผนภูมิแสดงการเตรียมเจลาตินผง

ที่มา: ดัดแปลงจาก Jongjareonrak *et al.* (2006) และ Nalinanon *et al.* (2008).

2.6 การทำแห้งเจลาติน

สารละลายเจลาตินที่ได้จากการสกัดต้องมีการกรองและทำให้เข้มข้นขึ้นโดยการระเหยน้ำออกด้วยเครื่องระเหยน้ำ (evaporator) ประมาณ 50-75 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะสุญญากาศ เนื่องจากสารละลายเจลาตินมีความไวต่อความร้อน (thermosensitive fuid)การใช้อุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้เจลาตินที่ได้มีความแข็งแรงของเจลต่ำ (Ward and Court, 1977) เนื่องจากความร้อนสูงจะทำให้พันธะเปปไทด์เกิดการสลายได้ เนื่องจากสารละลายเจลาตินมีกรดอะมิโนชนิดไม่มีขั้วประกอบอยู่จำนวนมาก ทำให้ในระหว่างการระเหย เจลาตินจะเกิดฟองได้ง่าย รวมทั้งก่อให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีนของผนังฟอง การเกิดฟองมีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของเจลาติน (Michell, 1986) การระเหยจึงต้องมีการป้องกันการเกิดฟอง หลังจากนั้นนำ เจลาตินไปทำแห้ง ซึ่งการทำแห้งต้องไม่มีผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างของเจลาตินจากความร้อน ซึ่งวิธีที่มีประสิทธิภาพในการทำแห้งเจลาตินคือ การอบแห้งแบบระเหิด (freeze· drying) Gudmundsson and Hafsteinsson (1997) ทำการอบแห้งเจลาตินจากหนังปลา cod ด้วยการอบแห้งแบบระเหิด และการอบแห้งโดยใช้อากาศ (air-drying) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่า การอบแห้งโดยใช้อากาศมีผลทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติมากกว่าการอบแห้งแบบระเหิด ทำให้คุณสมบัติการเกิดเจลของเจลาตินลดลง ความแข็งแรงของเจลของเจลาตินที่ผ่านการอบแห้งแบบระเหิดจึงมีค่าสูงกว่า เนื่องจากการอบแห้งแบบระเหิดเกิดขึ้นภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า ทำให้เจลาตินที่ได้คงคุณสมบัติที่ดี อย่างไรก็ตามการทำแห้งด้วยวิธีนี้มีค่าใช้จ่ายสูง เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตมีราคาแพง จึงอาจมีการใช้เครื่องมือทำแห้งชนิดอื่นแทนได้ เช่น เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drumdryer) เครื่องทำแห้งแบบแบบถาด (tray dryer) เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuun oven dryer) หรือการใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven) เป็นต้น

2.7 คุณสมบัติของเจลาติน

เจลาตินเป็นโปรตีนที่ได้จากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของคอลลาเจนด้วยความร้อนหรือใช้สารอื่นช่วย เช่นกรดหรือด่าง พันธะระหว่างโมเลกุลของคอลลาเจนจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่จัดเรียงตัวได้ง่ายขึ้น เจลาตินหลอมเหลว เมื่อได้รับความร้อนและแข็งตัวกลับเมื่อได้รับความเย็น เจลาตินสามารถเกิดเจลแบบกึ่งของแข็งร่วมกับน้ำเมื่อละลายเจลาตินในน้ำจะได้สารละลายที่มีความหนืดสูงและก่อเจลเมื่อทำให้ เย็นโดยทั่วไปองค์ประกอบทางเคมีของเจลาตินมักใกล้เคียงคอลลาเจนเริ่มต้น คุณสมบัติทั่วไปของเจลาติน คือ เป็นของแข็งลักษณะโปร่งใสไม่มีกลิ่นไม่มี

รสชาติไม่ละลายในน้ำเย็นแต่สามารถดูดน้ำและเกิดการพองตัวเมื่อให้ความร้อนจะละลาย เจลาติน สามารถละลายได้ในสารประเภทโพลีไฮดริก แอลกอฮอล์ (polyhydric alcohols) เช่น กลีซอรอล (glycerol), โพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ซอบิทอล (sorbitol) เป็นต้นแต่ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เบนซีน อีเธอร์ อะซีโตน และคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (Ockerman, 1988) เจลาตินมีคุณสมบัติที่สำคัญคือทำหน้าที่เป็นสารไฮโดรคอลลอยด์เจลาตินที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะให้ค่าความแข็งแรงเจลและความหนืดต่ำกว่าเจลาตินที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าเจลาตินที่มีค่าความแข็งแรงเจลสูงมักมีค่าความหนืดสูง ทำให้เจลาตินสามารถเกิดเป็นเจลได้รวดเร็ว ส่วนเจลาตินที่มีค่าความหนืดต่ำจะละลายได้เร็ว Kittiphattanabawon (2004) พบว่า ค่าความแข็งแรงเจลของเจลาตินจากหนังและกระดูกปลาตาหวานมีค่าสูงขึ้นเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นนอกจากนี้ Fernandez-Diaz *et al.* (2001) พบว่าการเติม coenhancer 3 ชนิดได้แก่ แมกนีเซียมซัลเฟต กลีเซอรอล และเอนไซม์ทรานกลูตามิเนส สามารถทำให้ความแข็งแรงของเจลเจลาตินจากปลา cod และ hake มีค่าเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดเมื่อเติมเอนไซม์ทรานกลูตามิเนสเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกรัม เจลาตินสามารถถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีนเช่น โบรมีเลนจากสับปะรด และปาเปนจากมะละกอ เป็นต้น ทำให้เจลาตินสูญเสียความสามารถในการเกิดเจล อย่างไรก็ตามเอนไซม์ส่วนใหญ่ไม่สามารถตัดสายเปปไทด์ของเจลาตินจนมีกรดอะมิโนเหลือน้อยกว่า 20 ตัว (Ward and Courts, 1977)

2.8 การเกิดเจลของเจลาติน

การเกิดเจลของเจลาตินไม่จำเป็นต้องมีสารอื่น ๆ มาเกี่ยวข้องในการเกิดเจล เช่น น้ำตาล เกลือ divalent ions เป็นต้น การเกิดเจลขั้นตอนแรกต้องมีความร้อนมาเกี่ยวข้อง ความร้อนทำให้โมเลกุลโปรตีนเปลี่ยนแปลงที่เรียกว่าการเสียสภาพ (denaturation) การเสียสภาพของโปรตีนแบ่งเป็น 2 ระยะ โดยในระยะแรก โมเลกุลโปรตีนยืดตัวออกโดยพันธะที่มีอยู่ในธรรมชาติแตกตัวออกบางส่วน ระยะ 2 โมเลกุลที่แตกตัวออกจะเข้ามามีพันธะโดยจับตัวกันใน 3 ทิศทางเมื่อสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม การใช้อุณหภูมิสูงจะทำให้โมเลกุลยืดออก (random coil) จะให้เจลที่แข็งแรงเนื้อละเอียด เมื่ออุณหภูมิลดลง โมเลกุลที่ยืดตัวออกจะหดและจับกันอย่างช้า ๆ โดยเกิดพันธะต่างๆ เช่น พันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และจะมีการจัดรูปร่างลักษณะเป็นโครงร่างตาข่าย 3 มิติ เกิดเป็นเจลที่อุ้มน้ำเอาไว้ในโครงข่ายบริเวณที่โมเลกุลขนาดใหญ่เหล่านั้นเกิดการรวมตัวเป็นโครงร่างตาข่าย 3 มิติ เรียกว่า junction zone ซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติในความแข็งแรงของเจล ซึ่งความแข็งแรงของเจลขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุล ความยาวสายพอลิเปปไทด์ และกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเจลาติน นอกจากนี้

ความแข็งแรงของส่วนที่จับกันระหว่างสายพอลิเปปไทด์ของเจลาตินก็มีบทบาทสำคัญ โดยหากส่วนที่จับกันมีลักษณะสั้นมากการจับกันจะไม่แข็งแรง ซึ่งจะถูกทำลายได้ด้วยการกวนเพียงเบา ๆ หรือใช้ความร้อนเพียงเล็กน้อย ในทางตรงข้ามถ้ามีส่วนที่จับกันมีระยะยาวมากการจับตัวจะแข็งแรงมาก เจลจะทนความร้อนได้ดี (นัฏฐาคเชนภักดี, 2549) เจลาตินจึงสามารถทำหน้าที่ได้ทั้งเป็นสารทำให้เกิดเจล เป็นสารให้ความข้นหนืด เป็นสารช่วยให้เกิดความคงตัว เป็นอิมัลซิฟายเออร์ รักษาสภาพคอลลอยด์ ช่วยจับฟองอากาศและยังทำให้สารละลายใสได้

2.9 การใช้เจลาตินในอุตสาหกรรมอาหาร

เจลาตินสามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเช่นในอุตสาหกรรมการทำขนมลูกกวาดและทอฟฟี่ เจลาตินช่วยให้การผสมส่วนผสมให้เข้ากับน้ำตาลได้ดีทั้งยังช่วยในการขึ้นรูป ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในการกระจายไขมัน และช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์นม เจลาตินช่วยในการปรับปรุงเนื้อสัมผัสโดยรวม ทำให้เกิดความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยให้เนื้อสัมผัสที่มีความละเอียดเนียนเหมือนครีม เจลาตินให้ความรู้สึกในปากคล้ายกับไขมัน ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ no-fat dairy ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เจลาตินสามารถใช้เพื่อเป็นสารให้ความคงตัวในน้ำเชื่อมอิ่มตัวป้องกันการเกิดผลึกซูโครส ที่สามารถทำให้เกิดความรู้สึกเป็นเม็ดกรวด (Leiner, 2010) ในผลิตภัณฑ์เนื้อสามารถใช้เจลาตินเพื่อประสานชิ้นเนื้อให้เป็นก้อน ไม่แตกยุ่ย ในผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้สามารถใช้เจลาตินเพื่อทำให้เกิดความใส โดยเจลาตินทำปฏิกิริยากับสารพอลิฟีนอล เช่น แทนนินและโปรตีนในน้ำผลไม้ให้เกิดการตกตะกอน (Ward and Court, 1977)

ปริมาณของเจลาตินที่ใช้ใส่อาหารจะใช้ในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้ เยลลี่ถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่วัดค่าความแข็งแรงของเจลาตินได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้เจลาตินที่ใช้ใส่ในอาหารส่วนใหญ่จะใส่เพื่อวัตถุประสงค์ในการปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของอาหาร เจลาตินทำหน้าที่เป็นสารให้ความคงตัว ช่วยป้องกันการเกิดผลึกของน้ำแข็งและน้ำตาลในระหว่างเก็บรักษา เจลาตินอาจใช้ร่วมกับส่วนผสมอื่นๆ หรือพวกที่สารให้ความหวาน พลังงานต่างๆ กรดชนิดต่าง ๆ เช่น กรดซิตริก (citric acid) กรดทาตาริก (tartaric acid) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่ใช้เจลาติน เช่น ไอศครีม น้ำผัก ผลไม้ ลูกกวาด เยลลี่แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่2.3 หน้าที่ของเจลาตินในการผลิตอาหารชนิดต่างๆ

อาหาร	Bloom (กรัม)	ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	หน้าที่หลัก	หน้าที่รอง
ขนมหวาน	200-260	1.5-3	ก่อเจล	ให้เนื้อสัมผัสความโปร่งแสง ความเป็นประกาย
กัมมี	200-280	6-10	ก่อเจล	ให้เนื้อสัมผัสความยืดหยุ่น ความโปร่งแสงความเป็นประกาย
มาร์ชเมลโลว์	160-260	1-3	ทำให้เกิดโฟม	ทำให้โฟมคงตัวก่อเจล
Nougat	180-220	1.5-3	ทำให้เกิดโฟม	ทำให้โฟมคงตัวก่อเจล
คาราเมล	140-200	0.5-2.5	อิมัลซิไฟเออร์, ทำให้โฟมคงตัว	ทำให้เคี้ยวได้
โยเกิร์ต	220-260	0.2-1	ป้องกันน้ำแยกชั้น	ให้เนื้อสัมผัสความเป็นครีม
ขนมฟองนม	180-240	0.3-3	ทำให้เกิดโฟม	ให้เนื้อสัมผัสความคงตัว
ขนมวุ้นนม	180-240	1-2	ก่อเจล	ให้เนื้อสัมผัสความเป็นครีม
เนื้อและไส้กรอก	220-260	0.5-2	ทำให้อิมัลชันคงตัว	ช่วยอุ้มน้ำ
เนื้อกระป๋อง	220-260	0.5-2	ตัวประสาน	ให้เนื้อสัมผัสสามารถตัดได้

ที่มา:Leiner (2010)

2.9.1 สารทำให้เกิดเจล (Gelling agent) เจลาตินเป็นเจลที่ผันกลับได้ (Reversible gel) เพราะมีจุดหลอมเหลวต่ำ และเนื่องจาก จุดหลอมเหลวต่ำนี้เอง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะละลายในปาก (melt in mout)และมีลักษณะที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ต้องการ Leiner (2010) เยลลี่ที่ทำจากเจลาตินจะมีความยืดหยุ่น และมีลักษณะเหมือนยาง (Elastic and Rubbery)มากกว่าเจลจาก Jelling agent อื่นๆเช่น Pectin นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์คัสตาร์ด เจลาตินจะทำให้พื้นที่ผิวถูกตัดมีลักษณะเรียบมากกว่าAlginate

2.9.2 อิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) เจลาตินเป็นอิมัลซิไฟเออร์ชนิด oil in water emulsifier ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ต่างๆโดยใน whipped cream มีการเติมเจลาติน 0.35 เปอร์เซ็นต์ เพื่อช่วยเป็นสารให้ความคงตัว (Stabilizer)และสามารถลดการสูญเสียไขมันได้ Leiner (2010) นอกจากนี้สามารถ

นำมาใช้ในการผลิต mock cream จากไขมันนมและน้ำตาล ส่วนผลิตภัณฑ์ทางด้านเนื้อสัตว์ จะใช้เจลาตินเพื่อเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ในซุปต่างๆ เช่น Cream soup, Pastes soup หรือใช้ในมายองเนส

2.9.3 สารให้ความข้นหนืด (Thinkener) การใช้เจลาตินเพื่อเพิ่มความข้นหนืด พบมากในไอศกรีม โดยใช้ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ของเจลาตินเพื่อเพิ่มความหนืดของน้ำเชื่อมให้กลิ่นรส (flavoring suyrup) หรือใช้ในอาหารบรรจุกระป๋อง (Leiner, 2010)

2.9.4 ตัวประสาน (Binder) ในยาอม (Lozenge) เป็นผลิตภัณฑ์ประเภท cream past แต่แข็งกว่า sugar paste จะใส่เจลาตินเพื่อให้ผลิตภัณฑ์คงตัวในน้ำเชื่อม

2.9.5 สารช่วยตกตะกอน (Finning agent) เจลาตินมีคุณสมบัติการเป็นตัวช่วยตกตะกอนซึ่งใช้ในน้ำผลไม้ ไวน์ และน้ำส้มสายชู เจลาตินจะทำปฏิกิริยากับแทนนิน จนเกิดการตกตะกอนและมีผลช่วยจับสารที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ขุ่นตกตะกอนลงมาด้วย โดยปริมาณของเจลาตินที่ใช้ประมาณ 1.5 - 5 ออนซ์ต่อ 100 แกลลอน และ 1.5 - 5 ออนซ์ของแทนนิน(ณัฐพร ธนวัฒน์ และรพีพร ศรีวิชญขจร, 2547)

2.9.6 สารให้ความคงตัว (Stabilizer) เจลาตินจะใช้เพื่อลดขนาดผลึกหรือป้องกันการตกผลึกของน้ำตาล ซึ่งมีผลต่อผลึกของแข็งเมื่อสารละลายเป็นน้ำแข็ง ในการผลิต marshmallow จะใช้เจลาตินประมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันการตกผลึกในการผลิตไอศกรีม ใช้เจลาตินเพื่อป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่นอกจากนั้นยังลดอัตราการละลาย ทำให้ไอศกรีมมีความคงตัวละเนื้อสัมผัสเนียน ถ้าใช้เจลาตินน้อยไป ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะหยาบ เหลว และร่วน แต่ถ้าใส่มากจะทำให้เหนียวและในการผลิตโยเกิร์ต เจลาตินในโยเกิร์ตใช้เพื่อลดปริมาณการเกิด syneresis เป็นการไหลซึมของของเหลวที่เป็นส่วนประกอบของเจล เนื่องจากเมื่อเก็บไว้ในตู้เย็นจนเกิดการหดตัว (ณัฐพร ธนวัฒน์ และรพีพร ศรีวิชญขจร, 2547)

2.9.7 Whipping agent ในผลิตภัณฑ์ marshmallow ทำโดยผสมน้ำเชื่อมที่มีเจลาติน 2-3 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ 18-25 เปอร์เซ็นต์ แล้วเติมอากาศเข้าไปในการผลิต nauget ซึ่งเป็นของหวานลักษณะเดียวกับตังเม และในการผลิต frappes โดยการผสมน้ำเชื่อม ไข่ขาวและเจลาติน แล้วนำมาตีให้ขึ้นฟู (ณัฐพร ธนวัฒน์ และรพีพร ศรีวิชญขจร, 2547)

2.9.8 สารที่ทำให้เกิดโฟม (Foaming agent) การทำเจลาตินโฟม เริ่มจากการละลาย เจลาตินแล้วปล่อยให้มีความหนืดเท่ากับความหนืดของ whipped cream แล้วตีด้วย rotary beater เพื่อทำให้เกิดโฟมอย่างรวดเร็ว ลักษณะของโฟมที่ดีต้องมีเนื้อสัมผัสที่เนียนและสม่ำเสมอ ไม่มีอนุภาคเจลเหนียว (gelatinous particle)และมีปริมาตรเพิ่มขึ้น 3 เท่าจากปริมาตรเริ่มต้น ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการเติมกลิ่นรสควรเติมกลิ่นรสที่หอมกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมเจลาติน ชนิดอื่นๆ เพราะจะทำให้เกิดโฟม ทำให้ความเข้มข้นของสารให้ กลิ่นลดลง (ณัฐพร ธนวัฒน์ และรพีพร ศรีวิชญขจร, 2547)

เจลาตินถือว่าเป็นส่วนประกอบในอาหารมากกว่าจะเป็นวัตถุเจือปนในอาหารสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาจัดให้เจลาตินเป็นสารที่โดยทั่วไปถือว่าปลอดภัย (Generally regarded as safe, GRAS) นอกจากนี้ Joint Expert Commission on Food Additive (JECFA) จัดให้เจลาตินเป็นสารที่ใช้ได้อย่างไม่จำ กัดในช่วงแรกที่เกิดการระบาดของโรควัวบ้า ผู้บริโภคหวาดระแวงว่าผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากวัวนั้นอาจมีการปนเปื้อนเชื้อและทำให้เกิดโรคระบบประสาท และสมองที่เรียกว่า Creutzfeldt–Jakob disease (CJD) ในคนซึ่งในปัจจุบันมีข้อพิสูจน์ว่าโรควัวบ้านี้ไม่เกี่ยวข้องกับหนังของสัตว์และเชื้อพริออนไม่สามารถรอดชีวิตจากกระบวนการผลิตเจลาตินได้เจลาตินเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียส่วนใหญ่ดังนั้นกระบวนการผลิตจะต้องมี สุขอนามัยที่ดีเพื่อป้องกันการปนเปื้อนนอกจากนี้ยังควรใช้ระบบ Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) ในการผลิต (ตระกูล พรหมจักร, 2552)

ตารางที่ 2.4 คุณลักษณะทางเคมีและทางจุลชีวิทยาสำหรับเจลาตินประเภทอุตสาหกรรมยา

รายการที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด	วิธีทดสอบ
1	สารหนู มก. ต่อ กก. ไม่เกิน	1	ภาคผนวก ก ข้อ ก.3
2	โลหะหนัก (เทียบเป็นตะกั่ว) มก. ต่อ กก. ไม่เกิน	50	ภาคผนวก ก ข้อ ก.3
3	ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ มก. ต่อ กก. ไม่เกิน	40	ภาคผนวก ก ข้อ ก.3
4	น้ำหนักที่สูญเสียเนื่องจากการอบ ร้อยละ ไม่เกิน	15	ภาคผนวก ก ข้อ ก.4
5	เถ้า ร้อยละ ไม่เกิน	2.0	ภาคผนวก ก ข้อ ก.5
6	ความแข็งของเจล (gel strength) บลูม (bloom)	ให้เป็นไปตาข้อตกลงระหว่างผู้ที่เกี่ยวข้อง ±10	AOAC (2000) ข้อ 948.21
7	ความเป็นกรด-ด่าง	3.8 ถึง 7.6	BP 2002
8	คุณลักษณะทางจุลชีววิทยา		
	-จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด โคโลนีต่อกรัม ไม่เกิน	10^3	BP 2002
	-*E coli* ในตัวอย่าง 1 กรัม	ต้องไม่พบ	
	-Salmonella ในตัวอย่าง 10 กรัม	ต้องไม่พบ	BP 2002

ที่มา : มอก. (2548)

ตารางที่ 2.5 คุณลักษณะทางเคมีและทางจุลชีววิทยาสำหรับเจลาตินประเภทอุตสาหกรรมอาหาร

รายการที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด	วิธีทดสอบ
1	สารหนู มก. ต่อ กก. ไม่เกิน	1	ภาคผนวก ก ข้อ ก.3
2	ตะกั่ว มก. ต่อ กก. ไม่เกิน	5	ภาคผนวก ก ข้อ ก.3
3	โลหะหนัก (เทียบเป็นตะกั่ว) มก. ต่อ กก. ไม่เกิน	50	ภาคผนวก ก ข้อ ก.3
4	ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ มก.ต่อกก. ไม่เกิน	40	ภาคผนวก ก ข้อ ก.3
5	น้ำหนักที่สูญเสียเนื่องจากการอบ ร้อยละไม่เกิน	15	ภาคผนวก ก ข้อ ก.4
6	เถ้า ร้อยละไม่เกิน	2.0	ภาคผนวก ก ข้อ ก.5
7	ความแข็งของเจล (gel strength) บลูม (bloom)	ให้เป็นไปตาข้อตกลงระหว่างผู้ที่เกี่ยวข้อง ±10	AOAC (2000) ข้อ 948.21
8	คุณลักษณะทางจุลชีววิทยา		
	-จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด โคโลนีต่อกรัม ไม่เกิน	10^4	AOAC (2000) ข้อ 966.23
	-เชื้อรา โคโลนีต่อกรัม ไม่เกิน	10	AOAC (2000) ข้อ 940.37
	-โคลิฟอร์ม ต่อกรัม MPN น้อยกว่า	3	AOAC (2000) ข้อ 966.24
	-Salmonella ในตัวอย่าง 25 กรัม	ต้องไม่พบ	AOAC (2000) ข้อ 967.25-967.28
	-*Clostridium perfringens*ต่อกรัม	ต้องไม่พบ	AOAC (2000) ข้อ 976.30

ที่มา : มอก. (2548)

2.10 เยลลี่เจลาติน

เยลลี่ (jelly) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ซึ่งทำจากน้ำผลไม้สดหรือน้ำผลไม้เข้มข้น เช่น สับปะรด กระเจี๊ยบแดง สตรอเบอร์รี่ มะนาว ส้ม มะม่วง ผสมกับสารที่ให้ความหวาน (sweetening agent)

และสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) เช่น เจลาติน (gelatin) คาราจีแนน (carrageenan) กลูโคแมนแนน (glucomannan) มีลักษณะเป็นเจลโปร่งแสง อาจมีการผสม สี (coloring agent) แต่งกลิ่นรส เยลลี่ที่ดีต้องมีลักษณะใสและอ่อนนุ่มแต่ไม่เหนียวหนืดจนหนืด และไม่เหลว ต้องแข็งพอที่จะคงรูปเดิมเมื่อตัดด้วยมีดก็เป็นเหลี่ยมตามรอยมีดมีความหยุ่นตัว

2.10.1 ชนิดของเยลลี่

ผลิตภัณฑ์เยลลี่สำเร็จรูปที่จำหน่ายในท้องตลาดสามารถแบ่งได้เป็น 2 รูปแบบดังนี้

2.10.1.1 เยลลี่ที่รับประทานเป็นอาหารว่าง (dessert jelly) เป็นเยลลี่ที่มีเนื้อสัมผัสนุ่ม มีน้ำมาก ใช้ช้อนตักรับประทาน หรือใช้หลอดดูดได้มักรับประทานแบบแช่เย็น เป็นของหวานเป็นอาหารว่าง หรือ หลังมื้ออาหาร อาจรับประทาน กับไอศกรีมเยลลี่ประเภทนี้ มีส่วนผสมของสารที่ทำให้เกิดเจล ได้แก่คาราจีแนนเจลาติน ผงบุก มีการเติมน้ำตาล กรดซิตริก สีผสมอาหาร และสารปรุงแต่งกลิ่นรส (flavoring agent) ผลิตภัณฑ์มีทั้งรส หวานและรสเปรี้ยว เยลลี่ที่ดี ต้องมีลักษณะใสและมีเนื้อสัมผัส อ่อนนุ่มแต่ไม่เหนียวจนหนืด และไม่เหลว ต้องแข็งพอที่จะคงรูปเดิมเมื่อตัด ด้วยมีดก็เป็นเหลี่ยมตามรอยมีดตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่พบในท้องตลาด อาจเป็นผงเยลลี่ผสมสำเร็จรูป ที่ผู้บริโภคนำมาผสมน้ำร้อนตามสัดส่วน แล้วแช่เย็นเพื่อให้เกิดเจล อีกรูปแบบหนึ่งคือเยลลี่ที่พร้อมรับประทานบรรจุถ้วยในภาชนะที่ปิดผนึกสนิท

2.10.1.2 เยลลี่ที่รับประทานเป็นขนมหวาน (confectionery jelly)อาจเรียกว่า เยลลี่แห้งหรือกัมมี่เยลลี (gummy jelly) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ขนมหวาน (confectionery) ที่ได้จากการนำสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) เช่น เจลาติน คาราจีแนน วุ้น ผสมกับ สารให้ความหวาน (sweetener) เช่น น้ำตาลทราย น้ำเชื่อมกลูโคส (glucose syrup) อาจผสมส่วนผสมอื่นๆ เช่น ผลไม้ ผัก ธัญชาติ สมุนไพร แต่งสีผสมอาหาร สารให้กลิ่นรส (flavoring agent) กรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก นำส่วนผสมมาผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อน จนมีความข้นเหนียวพอเหมาะที่อุณหภูมิที่เหมาะสม หยอดใส่พิมพ์ หรือตัดเป็นชิ้นหลังจากทิ้งไว้ให้เย็น ได้ ผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่ มีลักษณะแห้งไม่ติดมือ มีเนื้อสัมผัสเหนียวหนึบ แล้วอาจคลุกด้วยน้ำตาลหรือแป้งบริโภค

ส่วนประกอบที่สำคัญของเยลลี่ผลไม้ประกอบด้วยน้ำตาล น้ำผลไม้ และสารที่ทำให้เกิดเจล ดังนั้นเยลลี่จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการในด้านพลังงานเป็นส่วนใหญ่ โดยในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม ให้สารอาหารหลักคือ พลังงาน 273 กิโลแคลอรี่ มีปริมาณเกลือแร่และวิตามินเล็กน้อย (กรมวิชาการเกษตร, 2543)

2.10.2 ส่วนประกอบของเยลลี่

2.10.2.1 สารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) การผลิตเยลลี่สำเร็จรูปในเชิงอุตสาหกรรมมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ กัม (Gums) ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล ชนิดของกัมที่ใช้กันอย่าง แพร่หลายได้แก่ คาราจีแนนเจลาติน และเพกติน

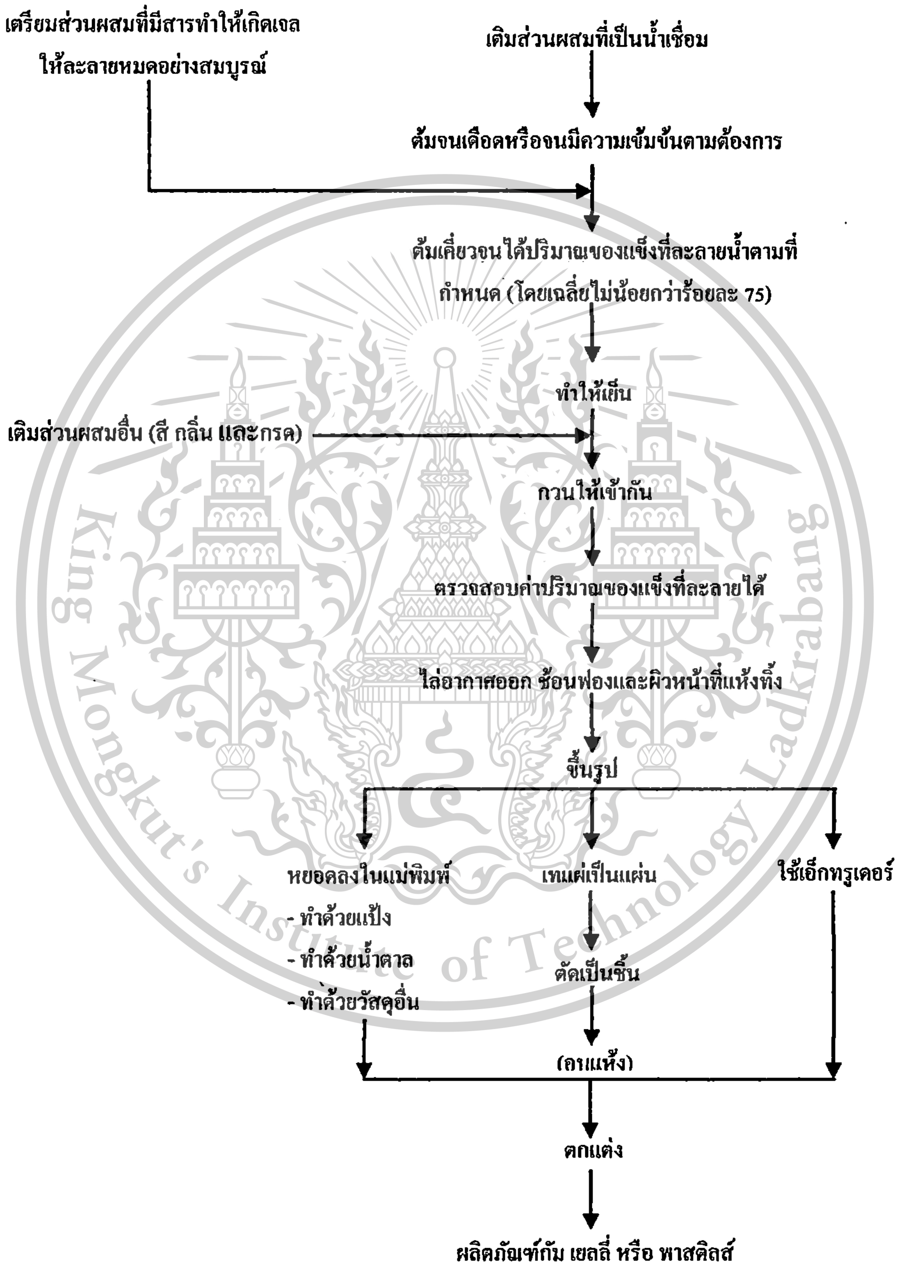
2.10.2.2 สารให้ความหวาน (sweetener) เยลลี่ส่วนใหญ่ใช้น้ำตาลซูโครส เป็นสารที่ให้ความหวาน ช่วยให้เพกติน เกิดโครงสร้างเป็นเจล ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ขึ้นอยู่กับปริมาณเพกตินและความเป็นกรดด่างของเนื้อหรือน้ำ ผลไม้ชนิดนั้น ๆ ถ้าปริมาณ เพกตินมาก ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ต่อน้ำหนักของผลไม้ก็มากด้วย ถ้าผลไม้ มีความเป็นกรดสูง (เปรี้ยว) ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ต่อน้ำหนักผลไม้หรือน้ำผลไม้ต่ำ ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ ไม่ควรสูงกว่า 70 องศาบริกซ์ (วัดโดย refractometer) นอกจากน้ำตาลซูโครส สารให้ความหวานอื่น ที่อนุญาตให้ใช้ในเยลลี่ ตาม มอก. 236-2521 มีหลายชนิด ได้แก่ น้ำตาลอินเวิร์ต (invert sugar) อิน เวิร์ตไซรัป (invert syrup) เดกซโตรส (dextrose) ฟรุกโตสไซรัป (fructose syrup) กลูโคสไซรัป (glucose syrup) และดรายกลูโคสไซรัป (dried glucose syrup)

2.10.2.3 สารควบคุมความเป็นกรดและควบคุมความเป็นกรดด่าง (acidifying และ pH regulating agents) มีความสำคัญต่อรสของผลิตภัณฑ์และช่วยให้เจลอยู่ตัวมากขึ้น ถ้ามีกรด มากเกินไปจะทำลายความอยู่ตัวของเจลได้ โดยปกติความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของเยลลี่อยู่ ระหว่าง pH 2.8 - 3.5 ส่วนpHที่เหมาะสมที่สุดคือ pH 3.2 ในการปรับความเป็นกรด-ด่าง ของเยลลี่ ตาม มอก. 263-2521 ได้กำหนดสารที่ใช้เพิ่มและควบคุมความเป็นกรด-ด่าง ได้แก่ กรดซิตริก (citric acid) กรดมาลิก (malic acid) กรดแลกติก (lactic acid) กรดฟูมาลิก (fumalic acid) และเกลือ โซเดียม โปตัสเซียมและแคลเซียมของกรดเหล่านี้ โซเดียมและโปตัสเซียมไบคาร์บอเนต

2.10.2.4 สี กลิ่นรส หรือน้ำผลไม้ จะช่วยปรับปรุงผลิตภัณฑ์ให้มีลักษณะน่ารับประทาน เพิ่มขึ้น น้ำผลไม้ที่ใช้เป็นส่วนผสมในเยลลี่ต้องเป็นน้ำผลไม้แท้ หรือน้ำสกัดได้จากผลไม้ที่ผ่านการ กรอง เพื่อให้ใส ปราศจากชิ้นหรือเศษผลไม้ และอาจทำให้ข้นโดยการระเหยน้ำออก และน้ำผลไม้หรือ น้ำสกัดจากผลไม้ที่ใช้ต้อง ไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 ของน้ำหนัก (มอก., 2521)

2.10.3 กระบวนการผลิตกัมเยลลี่

กระบวนการผลิตกัมเยลลี่ ตามวิธีของสุวรรณา สุภิมารส (2543) แสดงดังภาพที่ 2.6 เป็นกระบวนการผลิตอย่างง่ายที่เตรียมกัมเยลลี่ได้จากการผสมส่วนผสมที่มีสารที่ทำให้เกิดเจลร่วมกับน้ำเชื่อม แล้วนำไปให้ความร้อน ผสมให้เข้ากัน ก่อนนำไปขึ้นรูปตามต้องการ



ภาพที่ 2.6 กระบวนการผลิตกัมเยลลี่
ที่มา: สุวรรณา สุภิมารส (2543)

2.10.4 เจลาตินผง เป็นไฮโดรคอลลอยด์ที่นิยมมากที่สุดในในการผลิตเจลลี่ ใช้ประมาณ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นกับเนื้อสัมผัสที่ต้องการ หน่วยที่บอกความแข็งแรงเจลของเจลาติน คือ ค่า บลูม (bloom) เจลาตินที่ใช้ในการผลิตเจลลี่มีค่า 180-260 บลูม เจลาตินที่มีค่าบลูมสูง มักจะขาวสะอาด กลิ่นน้อย ใช้เวลาเซ็ทตัวเร็วและสามารถเซ็ทตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า มีลักษณะเหนียวกว่าแต่ไม่เหนอะหนะ (พจนี อุปโภชน์, 2546) ถ้ามีค่าบลูมต่ำหากต้องการให้ได้เจลความแข็งแรงของเจลเท่ากันจะต้องใช้ปริมาณมากขึ้น เจลาตินเป็นโปรตีนซึ่งจะสลายตัวในสภาวะเป็นกรดที่อุณหภูมิสูงกว่า 70องศาเซลเซียสทำให้สูญเสียความสามารถในการเกิดเจล การเตรียมเจลต้องแช่เจลาตินในน้ำอย่างน้อย 1 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนของ เจลาติน:น้ำ (1:4) การแช่น้ำจะต้องเทผงเจลาตินลงในน้ำเย็นอย่างรวดเร็ว และคนอย่างเร็ว ไม่ควรแช่น้ำทิ้งไว้เกิน 2 ชั่วโมง เนื่องจากอาจเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ เจลาตินสามารถจับสารให้กลิ่นได้ดี ทำให้ไม่สามารถปลอดปล่อยสารให้กลิ่นขณะที่รับประทานได้ดีนัก จึงจำเป็นที่จะต้องใช้สารให้กลิ่นเพิ่มมากขึ้นกว่าการใช้ไฮโดรคอลลอยด์ชนิดอื่นเจลาตินเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้เนื่องจากเป็นโปรตีน ดังนั้นเจลาตินที่ผ่านกระบวนที่ใช้อุณหภูมิสูงจึงอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีได้ (พจนี อุปโภชน์, 2546) โดยทั่วไปนิยมใช้เจลาตินในการผลิตเยลลี่ชนิดต่างๆ โดยส่วนผสมในการเตรียมเยลลี่จากเจลาตินแสดงดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ส่วนผสมสำหรับเตรียมเยลลี่รสส้ม (อ้างอิงจากเจลาตินทางการค้าของบริษัท ยูไนเต็ด แดรี่ฟูดส์ จำกัด)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	คิดเป็นเปอร์เซ็นต์
เจลาตินผง	10 กรัม	1.72
น้ำตาลทราย	85 กรัม	14.65
กลิ่นส้ม	2 กรัม	0.34
น้ำสะอาด	480 มิลลิลิตร	83.30

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zhou and Regenstein (2003) ศึกษาการสกัดเจลาตินจากหนังปลา pollock พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของกรด และด่าง ระหว่างการเตรียมตัวอย่างอุณหภูมิการสกัด และเวลามีผลต่อปริมาณผลผลิตรวมและคุณสมบัติการไหล (Rheology) การใช้แคลเซียมคลอไรด์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ร่วมกับกรดอะซิติกเข้มข้น 0.05 นอร์มอล หรือกรดซิตริกเข้มข้น 0.025 นอร์มอล สามารถปรับปรุงค่าความแข็งแรงเจลได้ การใช้อุณหภูมิการสกัดที่สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 180 นาที มีผลให้ปริมาณผลผลิตรวมของเจลาตินสูงขึ้นแต่กลับมีผลให้ค่าความแข็งแรงเจลลดลงผลผลิตเจลาตินจากหนังปลา pollock ที่ได้มากกว่า 12 เปอร์เซ็นต์ และมีไฮดรอกซีโพรลีนประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์

Muyonga *et al.* (2004) สกัดเจลาติน Type A จากหนังและกระดูกของปลา Nile perch (*Lates niloticus*) วัยอ่อนและตัวโตเต็มวัย พบว่าผลผลิตเจลาตินที่สกัดได้จาก หนังปลาตัวเต็มวัย>หนังปลาวัยอ่อน>กระดูกปลาตัวเต็มวัย>กระดูกปลาวัยอ่อน ขณะที่ปริมาณผลผลิตเจลาตินที่สกัดได้เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ คือ หนังปลาวัยอ่อน>หนังปลาตัวเต็มวัย>กระดูกปลาวัยอ่อน>กระดูกปลาตัวเต็มวัย เจลาตินจากหนังที่สกัดได้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 20.5-158 NTU และมีปริมาณเถ้า 0.5-1.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเจลาตินจากกระดูกที่สกัดได้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 109-517 NTU และมีปริมาณเถ้า 4.4-11.2 เปอร์เซ็นต์ เจลาตินจากหนัง และกระดูกมีค่าความแข็งแรงเจลเท่ากับ 81-229 และ 134-179กรัมตามลำดับ เจลาตินจากหนังปลา Nile perch ตัวเต็มวัยมีค่าความหนืดสูงกว่า และเวลาการเกิดเจลสั้นกว่าเจลาตินจากหนังปลา Nile perch วัยอ่อน ฟิลม์จากเจลาตินจากหนังมี ค่าความเค้นแรงดึง (tensile strength) สูงกว่าแต่มีการยืดตัว (elongation) ต่ำกว่าฟิล์มจากเจลาตินจากกระดูก นอกจากนี้ Cho *et al.* (2004) ทำการสกัดเจลาตินจากกระดูกอ่อนของฉลาม (*Isurus oxyrinchus*) พบว่าการสกัดเจลาตินที่มีการกำจัดโปรตีนโดยใช้ด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.6 นอร์มอล ในการสกัด เป็นเวลา 3.16 วัน แล้วสกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ให้ผลิตสูงสุด คิดเป็น 79.9 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าเจลาตินจากกระดูกอ่อนฉลามที่สกัดได้มีปริมาณของกรดอะมิโนไฮดรอกซีโพรลีน ความสามารถในการเกิดโฟม ความคงตัวของโฟม ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความแข็งแรงของเจล ต่ำกว่าเจลาตินจากหนังหมู แต่ความสามารถในการจับกับไขมันของเจลาตินจากกระดูกอ่อนฉลามมีค่าสูงกว่า

Kittiphattanabawon (2004) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเจลาตินจากหนัง และกระดูกปลาตาหวาน พบว่าวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดทำได้โดยการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนในหนังและกระดูก โดยแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.025 นอร์มอล เป็นเวลา 1ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง แล้วกำจัดแร่ธาตุในกระดูกที่ผ่านการกำจัดโปรตีนด้วยการแช่ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1.2 โมลาร์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 4 ครั้ง หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.6 โมลาร์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง หลังจากนั้นทำให้หนังหรือกระดูกพองตัว โดยการแช่ในสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.05 ถึง 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 40 นาที จำนวน 3 ครั้ง ก่อนทำการสกัดเจลาตินจากหนังและกระดูก ด้วยการแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้ได้ผลผลิตเจลาตินคิดเป็น 6.29-7.76 เปอร์เซ็นต์ และ 1.19-2.25 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเปียก ตามลำดับ และพบว่าการทำให้หนังพองตัวด้วยการแช่กรดอะซิติกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ก่อนการสกัดเจลาติน ให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุด

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

ปลาสลาดสดที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 6 ตัวต่อกิโลกรัม เพื่อนำมาศึกษาเบื้องต้นขององค์ประกอบทางกายภาพ และหนังปลาสลาดสด ซึ่งเป็นผลิตผลพลอยได้จากการชำแหละเนื้อปลาสลาด โดยซื้อจากผู้ผลิตเนื้อปลาสลาดจำหน่ายในจังหวัดลพบุรี

3.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง	Sartorius, BP3100S	เยอรมัน
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	Denver, SI-234	เยอรมัน
- ชุดอิเล็กโตรโฟริซิส	ATTO, AE6450	ญี่ปุ่น
- เครื่องกวนชนิดแม่เหล็ก	IKA labortechnik, BIG SQUID	เยอรมัน
- เครื่องวัดสี	Konica Minolta, CR 400	ญี่ปุ่น
- เครื่องวัดความแน่นเนื้อ	Texture analyzer, TA.XT plus	อังกฤษ
- เครื่องหมุนเหวี่ยง	Sorvall, RC-5B plus	อเมริกา
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง	Scientific, Denver 15	อเมริกา
- ชุดกลั่นโปรตีน (Distillation unit)	Gerhardt, Vapodest 30	เยอรมัน
- เครื่องย่อยโปรตีน (Digestion block)	Gerhardt, KB-8S	เยอรมัน
- เครื่องสกัดไขมัน	Gerhardt, S306 AK	เยอรมัน
- ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า	Memmert, UM400	เยอรมัน
- เตาเผาไฟฟ้า	Nabertherm	เยอรมัน
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง	Shimudzu, UV – 1601	ญี่ปุ่น
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	Memmert	เยอรมัน
- เครื่องทำแห้งแบบระเหิด (Freeze dryer)	Scanvac, Coolsafe	เดนมาร์ก
- เครื่องกวน (Mixer)	Heidolp, RZR 2021	เยอรมัน
- Vortex mixer	Scientific Industries, Votex-Genie 2	อเมริกา
- ชุดเครื่องกรองสุญญากาศ		

3.3 สารเคมี

Acetic acid	RCI Labscan	ไทย
Sulfuric acid	Merck	เยอรมัน
Hydrochloric acid	Merck	เยอรมัน
Perchloric acid	Merck	เยอรมัน
Sodium acetate	Merck	เยอรมัน
Tri-sodiumcitrate	Merck	เยอรมัน
Iso-propanol	Merck	เยอรมัน
p-Dimethylamine-benzoldehyde	Merck	เยอรมัน
Sodium hydroxide	Merck	เยอรมัน
Petroleum ether	Merck	เยอรมัน
Coomassie blue R-250	Merck	เยอรมัน
SDS (sodium dodecyl sulfate)	Merck	เยอรมัน
Bromophenol blue	Merck	เยอรมัน
Tris (2-hydroxymethyl-2-methyl-1,3-propanediol)	Sigma-Aldrich	อิตาลี
Acrylamide monomer	Sigma-Aldrich	อิตาลี
Ammoniumpersulfate; APS	Merck	เยอรมัน
2-mercaptoethanol	Merck	เยอรมัน
Methanol	Merck	เยอรมัน
Glycine	Merck	เยอรมัน
Glycerol	Merck	เยอรมัน
TEMED (N,N’N’-tetramethylenediamine)	Sigma-Aldrich	อิตาลี
Bis-acrylamide (N,N’-methylene-bisacrylamide)	Sigma-Aldrich	อิตาลี
glacial acetic acid	Merck	เยอรมัน
DTT (dithiothreitol)	Merck	เยอรมัน
เจลาติน (40 mesh, Bloom 240)	Gelita	อเมริกา
น้ำส้มเข้มข้น	Ding Fong	ไทย

3.4 สถานที่ดำเนินงาน

วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีลพบุรี และห้องปฏิบัติการ (อาคารเจ้าคุณทหาร) คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

3.5 วิธีการดำเนินงาน

3.5.1 การศึกษาเบื้องต้นและการเตรียมวัตถุดิบ

3.5.1.1 การศึกษาเบื้องต้นขององค์ประกอบทางกายภาพของปลาสลาดสด

นำปลาสลาดสด (จำนวน 18 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว) มาล้างน้ำและทำความสะอาดแล้วชำแหละชิ้นส่วนต่าง ๆ คือ ส่วนเนื้อหัว หนัง และก้าง เพื่อคำนวณองค์ประกอบทางกายภาพของปลาสลาดสด โดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ น้ำหนักส่วนประกอบแต่ละส่วนต่อน้ำหนักปลาทั้งหมดแต่ละกลุ่ม

3.5.1.2 การเตรียมวัตถุดิบ

หนังปลาสลาดสดที่เตรียมได้นำมาล้างทำความสะอาด กำจัดเศษปนเปื้อนออกและลดขนาด ตัดเป็นเล็กขนาด 0.5 × 0.5 ซม^2 นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางประการ ดังนี้

ก. วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนและความชื้น ตามวิธี AOAC (2000และ1999)

ข. วิเคราะห์หาปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน ตามวิธี Bergman andLoxley(1963)

3.5.2 การเตรียมเจลาตินจากหนังปลาสลาด

การสกัดเจลาตินจากหนังปลาสลาดโดยดัดแปลงจากวิธีของ Jongjareonrak *et al.* (2006); Nalinanon *et al.* (2008) มีกระบวนการดังนี้

3.5.2.1 การกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน

นำหนังปลาสลาดที่ผ่านการล้างกำจัดเศษปนเปื้อนออกและลดขนาดโดยการตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5 × 0.5 ซม^2 มาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.025 นอร์มอล ในอัตราส่วน 1:9 (w/v) กวนตลอดเวลา เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง ที่อุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียสจากนั้นล้างด้วยน้ำประปาจนกระทั่งเป็นกลาง หรือมีความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับน้ำที่ใช้ล้าง

3.5.2.2 การสกัดเจลาตินจากหนังปลาสลาด

นำหนังปลาสลาดที่ผ่านการกำจัดโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนแล้ว มาปรับสภาพโดยการแช่ในสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ในอัตราส่วนของหนังปลาสลาดต่อสารละลายกรดเท่ากับ 1:10 (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ทำการกวนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 40 นาที แล้วเปลี่ยนสารละลายกรดใหม่อีก 2 รอบ จากนั้นเทสารละลายกรดออกแล้วล้างด้วยน้ำประปา เพื่อปรับpH หนังปลาให้เป็นกลางใช้อัตราส่วนน้ำต่อหนังปลา เท่ากับ 4 : 1 ก่อนนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยกวนตลอดเวลาเป็นเวลา 12 ชั่วโมง กรองสารละลายด้วยผ้าขาวบางสามชั้น จากนั้นกรองด้วยชุดกรองสุญญากาศผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 นำสารละลายเจลาตินที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (Freez dryer)

เจลาตินแผ่นแห้งที่ได้นำไปบดด้วยเครื่องบดละเอียดและนำเจลาตินผงบรรจุในถุงพลาสติกชนิด โพลีเอทธีลิน ขนาด 6×9 นิ้ว พร้อมบรรจุถุงซิลิกาเจลควบคุมความชื้นปิดปากถุงให้สนิท นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

3.5.3 วิเคราะห์ปริมาณผลผลิต องค์ประกอบทางเคมี และคุณสมบัติของเจลาติน

3.5.3.1 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเจลาตินที่ได้

วิเคราะห์ปริมาณผลผลิต รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง จากสูตร

$$\text{ปริมาณผลผลิต}(\%\ \text{โดยน้ำหนักแห้ง}) = \left[\frac{\text{น้ำหนักเจลาตินแห้ง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักหนังปลาแห้ง (กรัม)}}\right] \times 100$$

3.5.3.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

ก. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและความชื้นตามวิธี AOAC (2000 และ 1999)

ข. วิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน ตามวิธี Bergman and Loxley (1963)

ค. วิเคราะห์เพื่อตรวจสอบรูปแบบโปรตีนด้วยใช้วิธี Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) โดยใช้ stacking gel ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ และ running gel ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธี Laemmli (1970)

3.5.3.3 วิเคราะห์สมบัติของเจลาติน

ก. วิเคราะห์ความแข็งแรงของเจล (gel strength) ของเจลาตินเข้มข้น 6.67 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (Fernández-Díaz และคณะ, 2001)

ข. วิเคราะห์ความขุ่น (turbidity) ตามวิธีของ Fernández-Díaz*et al.* (2001)

ค. วัดค่าสีของเจล ด้วยเครื่องวัดสียี่ห้อ Hunterlab Reston รุ่น Color Flex ทำการวัดตัวอย่าง โดยบันทึกค่าที่วัดได้ในระบบ CIE L*a*b*

ง. วิเคราะห์การเกิดโฟมและสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของสารสะลายเจลาติน เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) โดยวิธี Nalinanon *et al.* (2008)

3.5.4 ศึกษาการใช้เจลาตินจากหนังปลาสลาด (SG) ทดแทนเจลาตินทางการค้า (FG) ในการผลิตเยลลี่

3.5.4.1 การเตรียมเยลลี่

เตรียมเยลลี่โดยอ้างอิงจากสูตรมาตรฐาน (มอก., 2548) ของผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่ใช้เจลาตินทางการค้า โดยศึกษาปริมาณเจลาตินหนังปลาสลาดทดแทนเจลาตินทางการค้า ในการผลิตเยลลี่ใช้อัตราส่วนการทดแทนที่ระดับ 0, 20, 40, 60, 80 และ100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับโดยมีขั้นตอนและวิธีการเตรียมแสดงดังภาพที่ 3.1

ละลายเจลาตินผง (50 กรัม) ด้วยน้ำสะอาด (700 มิลลิลิตร)

↓

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

↓

ผสมน้ำส้มเข้มข้น ยี่ห้อติ่งฟง (Ding Fong)250 มิลลิลิตร

↓

ให้ความร้อนต่อจนส่วนผสมมีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

↓

เทใส่พิมพ์วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

↓

ผลิตภัณฑ์เยลลี่

↓

เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมเยลลี่จากเจลาติน

3.5.4.2 การทดสอบผลิตภัณฑ์เยลลี่

ก. วัดค่าสีตามข้อ ค. ในหัวข้อ 3.5.3.3

ข. วัดค่าเนื้อสัมผัสโดยนำเยลลี่ที่ผลิตได้มาวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) โดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) รุ่น TA-XT plus

ค. ทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์เยลลี่ของผู้ทดสอบชิม โดยใช้การประเมินผลทางประสาทสัมผัส ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ทดสอบชิมโดยใช้วิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9-pointHedonic scale ในด้านคุณลักษณะต่าง ๆ คือลักษณะปรากฏ ความยืดหยุ่น เนื้อสัมผัส สี กลิ่นรสและความชอบรวม

3.5.5 ศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเยลลี่เจลาตินหนังปลาสลาด

เตรียมเยลลี่เจลาตินหนังปลาสลาดตามวิธีการในข้อ 3.5.4.1 โดยใช้ปริมาณเจลาตินหนังปลาสลาดทดแทนที่เหมาะสมจากที่คัดเลือกได้ในข้อ 3.5.4.2 มาเปรียบเทียบกับสูตรที่ใช้เจลาตินทางการค้าเยลลี่เจลาตินที่เตรียมได้นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2, 4, 8, 16 และ 24 วัน ทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเยลลี่เจลาติน ดังนี้

ก. วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยวิธี AOAC (1999)

ข. วัดค่าสี (ตามข้อ 3.5.4.2)

ค. วัดค่าเนื้อสัมผัส (ตามข้อ 3.5.4.2)

ง. วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักที่สูญเสีย (weight loss) ตามภาคผนวก ข. ข้อ ข.2

3.5.6 การวางแผนการทดลอง และการวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design,CRD) โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบรายคู่ ใช้วิธี T-test

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการเตรียมเจลาตินจากหนังปลาสลาด ปริมาณผลผลิตและองค์ประกอบของเจลาติน

ปริมาณผลผลิตเจลาตินจากหนังปลาสลาดปริมาณความชื้นโปรตีนและไฮดรอกซีโพรลีนของหนังปลาสลาดเจลาตินจากหนังปลาสลาด (SG) และเจลาตินเกรดอาหารทางการค้า (FG) แสดงดังตารางที่ 4.1 ผลการทดลองพบว่าการสกัดเจลาตินจากหนังปลาสลาดที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างให้เกิดการพองตัวด้วยกรดอะซิติกทำให้ได้ปริมาณผลผลิตเท่ากับ 7.24 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง SG ที่สกัดได้มีปริมาณโปรตีนและไฮดรอกซีโพรลีนเท่ากับ 87.36 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักแห้ง) และ 89.24 (มก./กรัมตัวอย่าง) ตามลำดับซึ่งเพิ่มสูงขึ้นจากที่มีอยู่ในหนังปลาสลาด ซึ่งเป็นวัตถุดิบอย่างเห็นได้ชัด ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่า SG ที่เตรียมได้มีความบริสุทธิ์สูงอย่างไรก็ตามพบปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนใน SG ต่ำกว่าที่พบใน FG (115.03มก./กรัมตัวอย่าง) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้ FG ซึ่งเตรียมได้จากกระดูกวัวซึ่งเป็นสัตว์บกมักพบปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนสูงกว่าเจลาตินจากสัตว์น้ำโดยทั่วไป (Jongjareonrak *et al.*, 2006; Nalinanon *et al.*, 2008)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของหนังปลาสลาดเจลาตินจากหนังปลาสลาด (SG) และเจลาตินทางการค้า (FG) และปริมาณผลผลิตเจลาตินจากหนังปลาสลาด (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์)

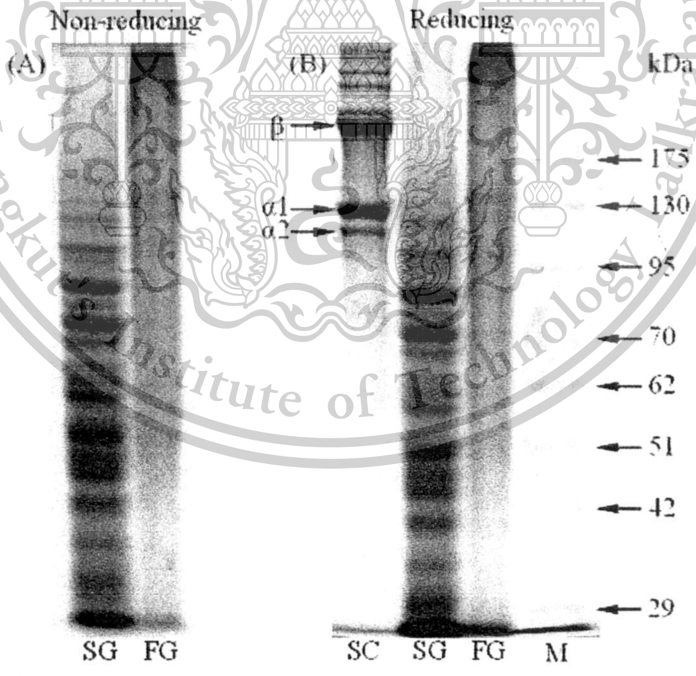
ตัวอย่าง	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณโปรตีน (%)	ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน (มก./กรัมตัวอย่าง)	ปริมาณผลผลิตเจลาติน (%)
หนังปลาสลาด	66.48 ± 1.20^{b}	24.14 ± 0.11^{a}	18.78 ± 0.06^{a}	-
SG	9.87 ± 0.32^{a}	87.36 ± 0.15^{c}	89.24 ± 0.26^{b}	7.24 ± 0.15
FG	10.14 ± 0.28^{a}	85.22 ± 0.08^{b}	115.03 ± 0.42^{c}	-

^{abc} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$

4.2 ผลการวิเคราะห์รูปแบบโปรตีน

รูปแบบโปรตีนของคอลลาเจน (SC) และเจลาติน (SG) จากหนังปลาสลาดและเจลาตินเกรดอาหารทางการค้า (FG) ที่วิเคราะห์โดยเทคนิค SDS-PAGE ภายใต้สภาวะที่ไม่มี β- mercaptoethanol (βME) (Non-reducing condition: A) และสภาวะที่มี βME (Reducing condition: B) แสดงดังภาพที่ 4.1 โดยเมื่อเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนของ SC และSG ผลการทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่ากระบวนการเตรียมและการสกัดเจลาตินอาจมีผลทำให้โครงสร้างสายโปรตีนโดยเฉพาะองค์ประกอบ β และ α ของเจลาตินเกิดการสลายตัวและแทบไม่พบองค์ประกอบหลักทั้งสองใน SG ทั้งนี้ องค์ประกอบหลักดังกล่าวเกิดการสลายตัวไปเป็นโปรตีนสายสั้นที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 100 kDa กระจายตัวอยู่ใน สัดส่วนที่แตกต่างกัน นอกจากนี้พบว่ารูปแบบโปรตีนของ SG และ FG ในสภาวะมีและไม่มี βME มีลักษณะเหมือนกันแสดงให้เห็นว่าทั้ง SG และ FG ไม่พบการเชื่อมประสานด้วยพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างสายพอลิเปปไทด์ของเจลาติน อย่างไร ก็ตามแม้รูปแบบโปรตีนของ FG ไม่แสดงองค์ประกอบ β และ α ได้ชัดเจนแต่พบการกระจายตัวขององค์ประกอบโปรตีน หลักสายยาวที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 120 kDa กระจายตัวอยู่ในสัดส่วนที่สูงกว่าที่พบใน SG อย่างเห็นได้ชัดเจน



ภาพที่ 4.1 รูปแบบโปรตีนของคอลลาเจน (SC) และเจลาติน (SG) ทีสกัดจากหนังปลาสลาด เจลาตินเกรดอาหารทางการค้า (FG) และ protein marker (M) ที่วิเคราะห์โดยเทคนิคSDS-PAGE ภายใต้สภาวะที่ไม่มี β-mercaptoethanol (βME) (Non-reducing condition: A) และสภาวะที่มี βME (Reducing condition: B)

4.3 ผลการวิเคราะห์สมบัติของเจลาติน

4.3.1 สมบัติทางกายภาพด้านสีและความขุ่นของเจลาตินหนังปลาสลาด

ค่าสีและค่าความขุ่นของสารละลายเจลาตินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 4.2 ผลการทดลองพบว่า เจลาตินจากหนังปลาสลาด (SG) มีค่า L*, a* และ b* รวมทั้งค่าความขุ่นสูงกว่าที่พบในสารละลายเจลาตินเกรดอาหาร ทางการค้าในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบทั้งนี้อาจเป็นผลจากกระบวนการเตรียมเจลาตินทั้งในแง่ของการให้ความร้อนในการสกัดและการปนเปื้อนของสารสีที่พบในหนังปลาโดยธรรมชาติ (Jongjareonrak *et al.*, 2006; Nalinanon *et al.*, 2008)

ตารางที่ 4.2 ค่าสีในระบบ CIE Lab และความขุ่นของเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาสลาดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (%)	L*	a*	b*	ความขุ่น (A_{360})
SG	0.1	98.31 ± 0.10^{e}	0.40 ± 0.02^{d}	1.28 ± 0.06^{b}	0.213 ± 0.010^{c}
	1.0	75.04 ± 0.09^{b}	3.55 ± 0.02^{e}	19.12 ± 0.03^{e}	1.691 ± 0.035^{d}
	2.0	57.88 ± 0.27^{a}	5.31 ± 0.03^{f}	23.65 ± 0.05^{f}	2.737 ± 0.050^{e}
FG	0.1	99.89 ± 0.25^{f}	-0.03 ± 0.02^{c}	0.44 ± 0.15^{a}	0.018 ± 0.001^{a}
	1.0	97.37 ± 0.33^{d}	-0.10 ± 0.04^{b}	4.99 ± 0.04^{c}	0.153 ± 0.003^{b}
	2.0	95.44 ± 0.05^{c}	-0.22 ± 0.02^{a}	8.35 ± 0.07^{d}	0.232 ± 0.004^{c}

[abc] อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.3.2 สมบัติเชิงหน้าที่ของเจลาติน

ค่าความแข็งแรงเจลสมบัติการเกิดโฟมและสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์แสดงดังตารางที่ 4.3 การทดสอบความแข็งแรงเจลของเจลาตินพบว่าเจลาตินจากหนังปลาสลาด (SG) มีค่าความแข็งแรงเจลเท่ากับ 77.35 กรัมซึ่งต่ำกว่าที่พบในเจลเจลาตินเกรดอาหารทางการค้า (130.89 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากความยาวของสายพอลิเปปไทด์และประมาณไฮดรอกซีโพรลีนของ SG ที่พบต่ำกว่า FG (Jongjareonrak *et al.*, 2006)

จากการวิเคราะห์สมบัติการเกิดโฟมโดยพิจารณาค่าการขยายตัวของโฟม (FE) และค่าความคงตัวของโฟม (FS) พบว่า SG มีค่า FE และ FS ไม่แตกต่างกันและเมื่อทิ้งไว้ที่ระยะเวลา 10 และ 30 นาทีค่าความคงตัว (FS) ก็ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.3 สมบัติเชิงหน้าที่ของเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาสลาด

สมบัติเชิงหน้าที่			SG	FG
ความแข็งแรงของเจล	(กรัม)		77.35±1.29[a]	130.89±2.37[b]
สมบัติการเกิดโฟม	FE (เปอร์เซ็นต์)		116.67±2.89[a]	120.20±3.54[a]
	FS (เปอร์เซ็นต์)	ที่ 10 นาที	95.71±0.10[a]	93.06±2.41[a]
		ที่ 30 นาที	94.32±2.30[a]	91.67±2.43[a]
สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์	EAI (เมตร.^{2}/กรัม)		44.89±1.13[b]	39.61±2.66[a]
	ESI (นาที)		66.27±7.84[a]	83.20±7.15[b]

[abc] อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

FE คือ ค่าการขยายตัวของโฟม ; FS คือ ค่าความคงตัวของโฟม ; EAI คือ ดัชนีกิตกรรมการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และ ESI คือ ค่าความคงตัวของอิมัลชั่น

SG มีค่าดัชนีกิจกรรมการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (EAI) สูงกว่า FG อย่างไรก็ตามพบว่า ค่าดัชนีความคงตัวอิมัลชัน(ESI) ของ SG ต่ำกว่า FG อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการที่ SG ประกอบไปด้วยโปรตีนที่ความยาวสายพอลิเปปไทด์โดยเฉลี่ยสั้นกว่าที่พบใน FG จึงทำให้ SG เคลื่อนที่เข้าสู่บริเวณระหว่างเฟสได้เร็วทำให้มีค่า EAI สูง แต่เนื่องจากการมีสายพอลิเปปไทด์ที่สั้นกว่าจึงไม่สามารถห่อหุ้มเม็ดไขมันได้ดี ทำให้ความคงตัวของระบบอิมัลชันลดลง

4.4 ผลการศึกษาการใช้เจลาตินจากหนังปลาสลาดทดแทนเจลาตินทางการค้าในการผลิตเยลลี่

4.4.1 การวิเคราะห์ทางกายภาพของเยลลี่ที่ใช้เจลาตินสกัดจากหนังปลาสลาดทดแทนเจลาตินทางการค้า

จากการศึกษาปริมาณการใช้เจลาตินที่สกัดได้จากหนังปลาสลาดในการทดแทนเจลาตินทางการค้า ในอัตราส่วนการทดแทนที่ระดับ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับพบว่า ผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่ใช้เจลาตินสกัดจากหนังปลาสลาดทดแทนมีแนวโน้มของค่าสีที่วัดในระบบ CIE Lab ที่ใกล้เคียงกัน โดยที่ค่า L* ในทุกระดับของการทดแทนมีค่า L* ที่ไม่แตกต่างกันกับชุดควบคุม ($p\geq0.05$) มีค่าอยู่ระหว่าง 30.74 – 33.13 ในขณะที่ค่า a* ตัวอย่างเยลลี่ที่ทดแทนด้วยเจลาตินที่สกัด

จากปลาสลาดที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์มีค่า a* ต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 5.83 และค่า b* นั้นในทุกชุดการทดลองมีค่าที่ใกล้เคียงกันซึ่งมีค่า b* อยู่ระหว่าง 11.00 – 20.32

จากการวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) พบว่า ตัวอย่างเยลลี่ที่ทดแทนด้วยเจลาตินหนังปลาสลาดที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (เยลลี่ที่ใช้เจลาติน FG) โดยมีค่าเท่ากับ 88.02 กรัม ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าความแข็งแรงเจลของชุดควบคุม แต่เมื่อเพิ่มระดับในการทดแทนมากขึ้น ผลการทดลองพบว่า ค่าความแข็งแรงเจลมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยระดับการทดแทน 100 เปอร์เซ็นต์ ตัวอย่างเยลลี่มีค่าความแข็งแรงเจลต่ำที่สุด และมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม($p \leq 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 38.35 กรัม ทั้งนี้ อาจเป็นผลจากการเกิดการจับตัวกัน (Aggregation) ของโมเลกุลเจลาตินจากหนังปลาสลาดในระดับที่สูงขึ้น ที่ระดับการทดแทนตั้งแต่ 60 เปอร์เซนต์ขึ้นไป

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เยลลี่เจลาตินที่ทดแทนเจลาตินทางการค้า (FG) ด้วยเจลาตินหนังปลาสลาด (SG) ที่ระดับต่าง ๆ

เยลลี่ทดแทน FG ด้วย SG (%)	L* [ns]	a*	b*	Gel strength (g)
0 (100FG)	32.41±3.25	7.27±0.54[b]	17.26±4.94[ab]	58.49±0.56[b]
20 (80FG)	32.09±1.77	9.31±0.91[c]	20.32±4.95[b]	88.02±1.45[f]
40 (60FG)	30.74±0.37	8.78±0.18[c]	16.00±0.94[ab]	84.04±0.66[e]
60 (40FG)	31.85±2.94	7.41±0.70[b]	14.00±3.59[ab]	77.19±0.70[d]
80 (20FG)	31.99±1.77	7.03±0.26[b]	11.75±1.15[a]	71.30±0.13[c]
100(0 FG)	33.13±1.86	5.83±0.28[a]	11.00±2.25[a]	38.35±2.47[a]

[abc] อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4.4.2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ที่ใช้เจลาตินหนังปลาสลาดทดแทนเจลาตินทางการค้า

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory) ด้วยวิธี 9 – point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน (n = 30) และใช้แบบสอบถามดังแสดงในภาคผนวก ค. พบว่า ผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับในด้านกลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่ทดแทนด้วย เจลาตินสกัดจากหนังปลาสลาดที่ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($p \geq 0.05$) ขณะที่ในด้านสีและความชอบโดยรวมมีผลการวิเคราะห์ที่มีความแตกต่างไม่ชัดเจนนัก แต่มีแนวโน้มของการยอมรับ

เยลลี่ที่มีการทดแทนเจลาตินทางการค้าด้วยเจลาตินที่สกัดจาดหลังปลาสลาดจากผู้ทดสอบชิมที่ระดับการทดแทน 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับการทดแทนสูงสุดที่ผู้ทดสอบชิมยังให้การยอมรับใกล้เคียงกับเยลลี่ในชุดควบคุม (100 FG) โดยเมื่อเพิ่มระดับการทดแทนตั้งแต่ 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าผู้ทดสอบชิมมีแนวโน้มให้การยอมรับผลิตภัณฑ์น้อยกว่าชุดควบคุม

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่ทดแทนเจลาตินทางการค้า (FG) ด้วยเจลาตินหนังปลาสลาดที่ระดับต่าง ๆ

เยลลี่ทดแทน FG ด้วย SG (%)	สี	กลิ่น[ns]	รสชาติ[ns]	เนื้อสัมผัส[ns]	ความชอบโดยรวม
0 (100FG)	7.77±1.48[d]	7.00±1.49	7.17±1.39	7.07±1.26	7.70±1.21[c]
20 (80FG)	7.57±1.38[cd]	7.00±1.26	7.40±1.00	7.10±1.42	7.13±1.07[abc]
40 (60FG)	7.20±0.19[c]	7.27±1.28	7.30±1.15	7.10±1.52	7.10±1.37[ab]
60 (40FG)	6.73±0.98[ab]	6.70±1.70	6.87±1.36	6.83±1.21	7.20±1.03[abc]
80 (20FG)	6.33±1.12[a]	7.03±1.10	6.73±1.46	6.87±1.25	6.70±1.02[a]
100(0 FG)	6.70±1.64[ab]	6.83±1.49	6.87±1.46	7.03±1.16	7.30±0.99[bc]

[abc] อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเยลลี่ที่ใช้เจลาตินสกัดจากหนังปลาสลาดทดแทนเจลาตินทางการค้าในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

จากผลการวิเคราะห์ข้อ 4.4.1 และ 4.4.2 ทำให้สามารถคัดเลือกระดับที่เหมาะสมของการทดแทนเจลาตินทางการค้าด้วยเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาสลาด โดยเลือกใช้การทดแทนที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นระดับการทดแทนสูงสุดที่ผู้ทดสอบชิมมีแนวโน้มให้การยอมรับค่อนข้างดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเยลลี่เจลาตินทางการค้า (ชุดควบคุม) โดยเมื่อนำตัวอย่างเยลลี่ที่ผลิตได้ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 วัน พบว่า ตัวอย่างเยลลี่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีที่วัดในระบบ CIE Lab (ค่า L*, a*, b*) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา ($p>0.05$) ในขณะที่ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) พบว่า มีค่า

ลดลงและน้ำหนักสูญเสีย พบว่า มีปริมาณเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) โดยค่าความแข็งแรงของเจลและการสูญเสียน้ำหนักในวันที่ 24 ของการเก็บรักษาเท่ากับ 47.24 กรัม และ 3.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ตรวจไม่พบการเกิดปริมาณน้ำที่แยกตัวออกจากเยลลี่ (syneresis) ในระหว่างการเก็บรักษา

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบผลิตภัณฑ์เยลลี่เจลาตินที่ทดแทนด้วยเจลาตินหนังปลาสลาดเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2, 4, 8, 16 และ 24 วัน

วันที่	$L^{*\,ns}$	$a^{*\,ns}$	$b^{*\,ns}$	Gel Strength (g)	pH^{ns}	การสูญเสียน้ำหนัก (%)
0	27.81±0.92	7.90±0.68	14.77±1.90	95.06±0.49^{g}	3.70±0.02	0.00±0.00^{a}
1	27.54±1.39	8.55±0.34	16.94±1.81	81.92±0.85^{f}	3.74±0.01	0.04±0.02^{a}
2	28.77±1.61	8.31±0.65	15.03±1.85	71.97±1.80^{e}	3.73±0.03	0.56±0.03^{b}
4	27.55±1.31	8.17±0.31	15.54±0.77	65.88±3.57^{d}	3.70±0.06	1.04±0.07^{c}
8	28.62±1.33	8.15±0.64	14.54±1.49	60.72±0.91^{c}	3.72±0.03	1.44±0.10^{d}
16	27.88±0.39	7.83±0.02	14.64±0.64	50.76±0.68^{b}	3.73±0.02	1.98±0.10^{e}
24	27.53±0.71	8.39±0.16	16.45±0.69	47.24±1.00^{a}	3.73±0.02	3.84±0.20^{f}

^{abc} อักษรที่แตกต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

เจลาตินที่สกัดจากหนังปลาสลาดมีความแตกต่างจากเจลาตินเกรดอาหารทางการค้าในด้านคุณลักษณะและสมบัติเชิงหน้าที่ด้วยสมบัติที่ดีด้านการเกิดโฟมและการอิมัลซิไฟเออร์ประกอบกับความสามารถในการเกิดเจลเจลาตินจากหนังปลาสลาดจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารได้อย่างหลากหลาย และในการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่ใช้เจลาตินที่สกัดจากหนังปลาสลาดทดแทนเจลาตินทางการค้าก็พบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่มีการทดแทนที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ โดยเป็นระดับการทดแทนสูงที่สุดที่มีการยอมรับเทียบเคียงกับผลิตภัณฑ์เยลลี่ชุดควบคุมที่ใช้เจลาตินทางการค้าเพียงอย่างเดียว ดังนั้นหนังปลาสลาดซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปจึงเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการนำไปผลิตเป็นเจลาตินเพื่อใช้ทดแทนเจลาตินทางการค้าจากสัตว์บกได้

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาคุณลักษณะและสมบัติเชิงหน้าที่ของเจลาตินจากหนังปลาสลาดและการประยุกต์ใช้สำหรับผลิตเยลลี่ ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะ ดังนี้

เยลลี่เจลาตินที่ได้จากการสกัดจากหนังปลาสลาดในด้านสี กลิ่น และรสชาติยังไม่ทัดเทียมเยลลี่เจลลาตินทางการค้า ดังนั้นการนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเยลลี่ จึงควรมีการศึกษาในเรื่องของการกำจัดสี และกลิ่นจากหนังปลาในการทำวิจัยในอนาคต

บรรณานุกรม

กรมประมง. 2555. ปลาสลาด. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา: http://www.moohin.com/fish/fish-fwf193.shtml (10 พฤษภาคม 2555).

กรมวิชาการเกษตร. 2543. เยลลี่มะม่วง. วารสารสถาบันอาหาร 3(14): 41-42.

ณัฐพร ธนวัฒน์ และรพีพร ศรีวิชญขจร. 2547. การผลิตเจลาตินจากหนังปลานิล. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

นัฏฐา คเชนภักดี. 2549. การสกัดเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า. วิทยานิพนธ์ คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.105 หน้า.

ตระกูล พรหมจักร. 2552. การสกัดเจลาตินจากหนังปลาเผาะ. วิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พจนี อุปโภชน์. 2546. การพัฒนาเจลลี่เจลาตินผสมชาเขียว. วิทยานิพนธ์ คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 149 หน้า.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2556. Jelly/เยลลี่.Food Network Solution ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา:www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0882/jelly-เยลลี่ (10 สิงหาคม 2556).

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2556. Collagen/คอลลาเจน.Food Network Solution ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา:http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0727/collagen-คอลลาเจน (10 สิงหาคม 2556).

วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์. 2540. เจลลาตินจากหนังปลากะพงแดง. วิทยานิพนธ์ คณะบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 400 หน้า.

วิภาพร สกุลครู. 2547. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่มะม่วง.สาขาวิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์. 2547. หนังสือสาระน่ารู้ ปลาน้ำจืดไทย เล่ม 1. องค์การค้าคุรุสภา. กรุงเทพมหานคร. 264 หน้า.

สันต์ นาตะสุวรรณ. 2548. คู่มือปลาน้ำจืด. เพ็ท-แพล้น พับลิซซิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 400 หน้า.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2521. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม แยม เยลลี่ และมาร์มาเลด. มอก. 263-2521. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เจลาติน. มอก. 799-2548. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

สุวรรณา สุภิมารส. 2543. เทคโนโลยีการผลิตลูกกวาดและชอกโกแลต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Ananlytical Chemists Inc, Arlington.

Bergman, I. and Loxley, R. 1963. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. Anal. Chem. 35: 1961-1965.

Chobert, J., Sitohy, M. Z., and Whitaker, J. R. 1988. Solubility and emulsifying properties of caseins modified enzymatically by Staphylococcus aureus V8 protease. J. Agric. Food Chem. 36: 220–224.

Cho, S. M., Kwak, K. S., Park, D. C., Gu, Y. S., Ji, C. I., Jang, D. H., Lee, Y. B. and Kim, S. B. 2004. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurusoxyrinchus*) cartilage.Food Hydrocolloid. 18: 573-579.

Cole, C.G.B. 2000. Gelatin. In Encyclopedia of Food Science and Technology. Frederick, J.F. (ed.). 2nd ed. New York : John Wiley & Sons.

Djagny, K.B., Wang, Z., and Xu, S. 2001. Gelatin: a valuable protein for food and pharmaceutical industries. Crit. Rev. Food Sci.41 : 481-492.

Fernandez-Diaz, M. D., Montero, P. and Gomez-Guillen, M. C. 2001. Gel properties of collagen from skin of cod (*Gadus morhua*) and hake (*Merluccius merluccius*) and their modification by coenhancers magnesium sulphate, glycerol and transglutaminase. Food Chem. 74: 161-167.

Foegeding, E.A., Lanier, T. C. and Hutin, H.O. 1996. Characteristic of edible muscle tissues.*In* Food chemistry. 3rd Ed. (Fennema, O. R., ed.). p. 902-906. Marcel Dekker. New York.

Gomez-Guilien, M.C., Montero, P. 2001. Extraction of gelatin from megrim (*Lepidorhombus boscii*) skins with several organic acids. J.Food Sci. 66: 213-216.

Gudmundsson, M. and Hafsteinsson, H. 1997. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. J. Food Sci. 62: 37-40.

Herpand, N., Huad and Aquatic, F, 2011. Fish bone and scale as a potential source of Halal gelatin. J. Fish Aghat. Sci. 6: 379-389.

Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Tanaka, M. 2006. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: Chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. Food Hydrocolloid. 20: 1216-1222.

Karim, A. A. and Bhat, R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. Food Hydrocolloid, 23: 563-576.

Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Nagai, T., and Tanaka, M. 2005. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (Priacanthus tayenus). Food Chem. 89: 363–372.

Kolodziejska, I., Skierka, E., Sadowska, M., Kolodziejski, W., and Niecikowska, C. 2008. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. Food Cherm.107 : 700-706.

Michell, J. R. 1986. Foaming and emulsifying properties of proteins. *In* Development in food protein. 4th ed. (Hudson, B. J. F., ed.). p. 291-338. Elsevier Applied Science Publishers, London.

Moulton, C.R. 1984. Meat Through The Microscrope. Institute of Meat Packing The University of Chicago. 592 p.

Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., Duodu, K.G. 2004. Extraction and physic-chemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. Food Hydrocolloid. 18: 581-59

Nagai, T. and Suzuki, N. 2000. Isolation of collagen from fish waste material – skin, bone and fins. Food Chem, 68: 277–281.

Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W.and Kishimura, H. 2008. Improvement of gelatin extraction from bigeye snapper skin using pepsin-aided process in combination with protease inhibitor. Food Hydrocolloid. 22: 615-622.

Nalinanon, S., Benjakul, S. and Kishimura, H. 2010. Collagens from the skin of arabesque greenling (*Pleurogrammus azonus*) solubilized with the aid of acetic acid and pepsin from albacore tuna (*Thunnus alalunga*) stomach. J. Sci. Food Agric. 90: 1492-1500.

Nalinanon, S., S. Benjakul, H. Kishimura, and F. Shahidi. 2011. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. Food Chem 124:1354-1362.

Ockerman, H.W. 1988. Animal by product processing. Ellis Horwood International Publishers in Science and Technology. 366p.

Okuzaki, H. 2001. General theory of gel preparation.*In* Gel Handbook. Vol. I. (Osada, Y. and Kajiwara, K., eds.). p. 112-116. Academic Press. New York.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage. T4. Nature 227:680-685.

Leiner P.B. 2011. Gelatin Application (Online).Available : http://www.gelatin.com [2011, August 9]

Pearce, K.N. and Kinsella, J. 1978. Emulsifying properties of Protein : evaluation of turbid metric Technique. Food Chem. 26: 719-723

Schrieber, R., and Gareis, H. 2007. Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice. Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach. McGraw-Hill, New York.

Vegard H. Segtnan, V.H. Isaksson, T. 2002. Department of Food Science, Agricultrual University of Norway, P.O. Box, 5036, N-1432 As Norway Received 10 June 2002, accepted 7 October 2002.

Ward, A. G. and Courts, A. 1977. The science and technology of gelatin. Academic Press. London.

Wong, D.W.S. 1998. Machanism and theory in food chemistry, Van Nostrand Ricnhad. NewYork.

Zhou, P., Regenstein, J.M. 2005. Effects of alkaline and acid pretreatments on alaska pollock skin gelatin extraction. J. Food Sci. 70: 392-396

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การทดสอบเจลาตินตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 799-2548 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548)

ก.1 ให้ใช้วิธีทดสอบที่กำหนดในมาตรฐานนี้ หรือ วิธีอื่นใดที่ให้ผลเทียบเท่า แต่ในกรณีที่มีข้อโต้แย้งให้ใช้วิธีที่กำหนดในมาตรฐานนี้

ก.2 การทดสอบลักษณะชี้บ่ง

ก.2.1สารละลายและวิธีเตรียม

ก.2.1.1 สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 0.2 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ก.2.1.2 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 3 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ก.2.1.3 สารละลายกรดแทนนิก

ละลายกรดแทนนิก 1 กรัม ในเอทานอล 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 10 ลูกบาศก์เดซิเมตร สารละลายนี้ให้เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

ก.2.2 วิธีทดสอบ

ก.2.2.1 ละลายเจลาติน 1 กรัม ในน้ำร้อน 100 ลูกบาศก์เดซิเมตร เติมสารผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 0.2 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร กับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 3 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ในอัตราส่วน 4:1 จำนวน 20 ลูกบาศก์เดซิเมตร แล้วตรวจพินิจ

ก.2.2.2 เตรียมสารละลายเจลาติน 0.2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร โดยใช้น้ำร้อน เติมสารละลายกรดแทนนิก แล้วตรวจพินิจ

ก.3 การทดสอบสารหนู ตะกั่ว โลหะหนัก และซัลเฟอร์ไดออกไซด์

ให้เป็นไปตาม Food Chemical Codex Fourth Edition

ก.4 การทดสอบน้ำหนักที่สูญเสียเนื่องจากการอบ

ก.4.1 เครื่องมือ

ก.4.1.1 ตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 100 องศาเซลเซียส ถึง 105 องศาเซลเซียส

ก.4.1.2 จานอลูมิเนียม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 มิลลิเมตร ถึง 75 มิลลิเมตร ความสูง 15 มิลลิเมตร ถึง 25 มิลลิเมตร พร้อมฝาปิด ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว

ก.4.2 วิธีทดสอบ

ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนถึง 0.0001 กรัม (m_0) ใส่ลงในจานอลูมิเนียมเติมน้ำกลั่น 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ให้ตัวอย่างดูดน้ำจนชุ่ม ปิดด้วย

อลูมิเนียมเปลว ให้ความร้อนบนเครื่องอังไอน้ำ เพื่อให้ตัวอย่างละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วให้ความร้อนต่อจนน้ำระเหยหมด อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ถึง 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (โถดูดความชื้น) แล้วชั่ง อบต่อที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ถึง 105 องศาเซลเซียส อีกครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งน้ำหนักที่ชั่งได้ 2 ครั้งต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม (m_1)

หมายเหตุ ในการทดสอบนี้ ตังอย่างที่เป็นแผ่นไม่ต้องทำให้เป็นผง

ก.4.3 วิธีคำนวณ

น้ำหนักที่สูญเสียเนื่องจากการอบ (%)= $\frac{(m_0-m_1)}{m_0} \times 100$

เมื่อ m_0 คือ น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ เป็นกรัม

m_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างที่เหลือจากการอบ เป็นกรัม

ก.5 การทดสอบเถ้า

ก.5.1 เครื่องมือ

ก.5.1.1 เตาเผาไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 525 องศาเซลเซียส ±25 องศาเซลเซียส

ก.5.1.2 ถ้วยแพลทินัมหรือถ้วยกระเบื้อง ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว

ก.5.2 วิธีทดสอบ

ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนถึง 0.0001 กรัม (m_0) ใส่ในถ้วยแพลทินัม เผาบนแผ่นให้ความร้อนจนหมดควัน แล้วเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส จนกระทั่งปราศจากคาร์บอน ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่ง ถ้าในการเผาคาร์บอนยังไม่หมด ให้เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วเผาต่อที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส จนหมดคาร์บอน ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่ง (m_1)

ก.5.3 วิธีคำนวณ

เถ้า (%)= $\frac{m_1}{m_0} \times 100$

เมื่อ m_0 คือ น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ เป็นกรัม

m_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างที่เหลือจากการเผา เป็นกรัม

ก.6 การทดสอบน้ำหนักสุทธิ

ชั่งตัวอย่างพร้อมภาชนะบรรจุ แล้วเทเจลาตินออก ชั่งภาชนะเปล่า แล้วหาผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้เป็นน้ำหนักสุทธิ

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี และการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี

ข-1 การวิเคราะห์ปริมาณผลผลิต (Yield)

วิเคราะห์ปริมาณผลผลิต รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง จากสูตร

$$\text{ปริมาณผลผลิต}(\%\ \text{โดยน้ำหนักแห้ง}) = \left[\frac{\text{น้ำหนักเจลาตินแห้ง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักหนังปลาแห้ง (กรัม)}}\right] \times 100$$

ข-2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักที่สูญเสีย (Weight Loss)

เพื่อใช้วัดการสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำวิเคราะห์โดยทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างเยลลี่ก่อนและหลังการนำไปเก็บรักษาบันทึกน้ำหนักแล้วนำมาคำนวณหาการสูญเสียน้ำหนักจากสูตร

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก}(\%) = \left[\frac{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}}\right] \times 100$$

ข-3 การวิเคราะห์ผลค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี

วัดสีด้วยเครื่องวัดสียี่ห้อ Hunterlab Restonรุ่นColorFlex ทำการวัดตัวอย่าง โดยบันทึกค่าที่วัดได้ในระบบ CIE L*a*b* โดย

ค่า L* แสดงความสว่างเมื่อมีค่าเข้าใกล้ 100 และแสดงความมืดเมื่อมีค่าเข้าใกล้ 0

ค่า a* คือแสดงความเป็นสีแดง – เขียว โดยถ้ามีค่า +a*= สีแดง และ –a*= สีเขียว

ค่า b* คือแสดงความเป็นสีเหลือง – น้ำเงิน โดยถ้ามีค่า +b*= สีเหลืองและ –b*= สีน้ำเงิน

ข-4 การวิเคราะห์ความแข็งแรงของเจล (gel strength)

วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Texture analyzerรุ่น TA.XT plusใช้หัววัดทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.7 มิลลิเมตร (P/0.5R) ทดสอบในรูปแบบ compressionกำหนดการเคลื่อนที่ของหัววัดเป็น return to start ใช้อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของหัววัดในการกดคือ

ก. Pre-test speed = 0.5 มิลลิเมตร/วินาที

ข. Test peed = 0.5 มิลลิเมตร/วินาที

ค. Post-test speed = 0.5 มิลลิเมตร/วินาที

และทำการกดลงบนตัวอย่างเป็นระยะทาง4มิลลิเมตรวัดความแข็งแรงของเจลจากแรงสูงสุดที่ใช้ในการกดเจลวิเคราะห์ค่าที่วัดได้ด้วยโปรแกรม texture exponent 32รายงานค่าที่ได้ในหน่วยกรัม

ภาพภาคผนวกที่ ข-1 กราฟการวิเคราะห์ความแข็งแรงของเจลจากเครื่อง texture analyzer

ข-5 การวิเคราะห์ความขุ่น (turbidity)(Fernández-Díaz *et al.*,2001)

สารละลายเจลาตินความเข้มข้น 6.67 เปอร์เซ็นต์ (w/v) โดยละลายเจลาตินด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร

ข-1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลห์ดาล(AOAC, 2000)

วิธีทดสอบ

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน (ขวด Kjeldahl)
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 1 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 15 มิลลิลิตร
3. นำไปย่อยบนเตาไฟฟ้าในตู้ดูดควันจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งให้เย็น

4. นำไปกลั่นโดยเติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 มิลลิลิตร
5. รองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ที่บรรจุกรดบอริกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์
6. เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด
7. กลั่นจนได้สารละลายในรูปก๊าซประมาณ 250 มิลลิลิตร
8. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ
9. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 0.02 นอร์มัล จนได้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน
10. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 2.-9.

วิธีคำนวณ

ปริมาณโปรตีน (%) $= \frac{(a-b)\times N\times 14\times factor}{W}$

เมื่อ a = ปริมาณสารละลายกรดเกลือที่ใช้ (มิลลิลิตร)

b= ปริมาณสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็นblank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ (นอร์มัล)

W= น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

factor = 6.25

(น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน = 14.007)

ข-2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน(AOAC, 2000)

วิธีทดสอบ

1. อบบีกเกอร์สำหรับหาไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 150 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีให้สารละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอกเลต

4. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในบีกเกอร์หาไขมันปริมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางลงบนเตาให้ความร้อน
5. ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 45 นาที โดยปรับความร้อนให้หยดของสารละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรส่วน 150 หยดต่อนาที
6. ระเหยจนเหลือสารละลายในบีกเกอร์เพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย
7. นำบีกเกอร์ไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์
8. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาทีจนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{(W_3 - W_2)\times 100}{W_1}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักบีกเกอร์ (กรัม)

W_3 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีไขมัน (กรัม)

ข-3 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยใช้ตู้อบไฟฟ้า (AOAC, 1999)

วิธีทดสอบ

1. อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 120±3 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนัก (W_1)
2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 3-5กรัมใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบและชั่งน้ำหนักเรียบร้อยแล้ว (W_2)
3. นำกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาไปอบในตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 120±3องศาเซลเซียสนาน 3ชั่วโมงโดยเปิดฝาออก
4. นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าและทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
5. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักที่คงที่ (ผลต่างของการชั่ง 2 ครั้งติดกันไม่เกิน 0.002 กรัม) (W_3)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_2 - W_1}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้น (กรัม)

W_2= น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_3= น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ข-4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า(AOAC, 1999)

วิธีทดสอบ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ600องศาเซลเซียส (เท่ากับอุณหภูมิที่ใช้เผาตัวอย่าง) นาน 3ชั่วโมงทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W_1) และใส่ตัวอย่างทันทีในถ้วยกระเบื้องเคลือบชั่งน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2กรัม (W_2)
2. นำไปเผาบนเตาไฟฟ้า โดยเพิ่มความร้อยทีละน้อยจนไหม้เกรียมให้หมดควันในตู้ดูดควัน
3. นำไปเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ600องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว (ใช้เวลา3 ชั่วโมง)
4. ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนักไว้
5. ทำซ้ำตามข้อ 3 และ 4 โดยใช้เวลาเผา 1 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของการชั่ง 2 ครั้งติดกันไม่เกิน 0.002 กรัม) ชั่งน้ำหนักที่ได้ (W_3)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{(W_3 - W_1) \times 100}{W_2 - W_1}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)

W_2= น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่าง (กรัม)

W_3= น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและเถ้า (กรัม)

ข-5 การวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน (Bergman andLoxley, 1963)

สารเคมี

- สารละลายออกซิเดชัน (Oxidant solution)

1. สารละลายคอลลามีนความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เตรียมก่อนใช้
2. Acetate/citrate buffer pH = 6.0 โดยเตรียมจาก โซเดียมอะซีเตทปริมาณ 57 กรัมไตรโซเดียมซิเตรทปริมาณ 37.5 กรัม กรดอะซีติค ปริมาณ 5.5 กรัม และไอโซโพรพานอล ปริมาตร 385 มิลลิลิตร นำมาละลายให้เข้ากันด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
3. ผสมสารละลายออกซิเดชันโดยใช้สารละลายคอลลามีน 1 ส่วนต่อ acetate/citrae buffer 4 ส่วน โดยเตรียมก่อนการวิเคราะห์

- สารละลายเออร์ริช (Ehrlich's reagent)

1. ละลายp-Dimethylamine-benzoldehyde ด้วย percholric acid ความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ในอัตราส่วน 2:3 (w/v) เก็บสารละลายในขวดแก้วสีชา
2. เตรียมสารละลายเออร์ริชโดยใช้สารละลายจากข้อ 1. ปริมาณ 3ส่วนต่อสารละลายไอโซโพรพานอล 13 ส่วน โดยเตรียมก่อนการวิเคราะห์

วิธีเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง โดยตัวอย่างสดชั่งน้ำหนักให้ได้ 0.5-1.0 กรัมตัวอย่างเจลาตินผงชั่งน้ำหนักให้ได้ 0.1 กรัม นำตัวอย่างมาทำการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่างที่เติมกรดไฮโดรคลอริกแล้วมาทำการย่อยโดยการให้ความร้อนในอ่างน้ำมันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. เมื่อครบเวลา ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วใส่ผงถ่านกัมมัน (activated carbon)นำไปผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer
4. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับให้เป็นกลาง (pH = 6.0-6.5) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 โมลาร์
5. นำมาปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

วิธีทดสอบ

1. ปิเปตตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมข้างต้นมาตัวอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว เติมสารละลายไอโซโพรพานอลปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร นำมาผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer
2. นำสารละลายจากข้อ 1. มาเติมสารละลายออกซิเดชันปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 นาที
3. เมื่อครบเวลา เติมสารละลายเออร์ริชทันที แล้วผสมให้เข้ากัน
4. นำไปให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที จากนั้นทำให้เย็นด้วยน้ำประปาไหลผ่านด้านข้างหลอดทดลองเป็นเวลา 2-3 นาที
5. นำมาเจือจางด้วยสารละลายไอโซโพรพานอลปริมาตร 3.3 มิลลิลิตร
6. นำสารละลายที่ได้มาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 558 นาโนเมตร
7. ทำ blank ตามข้อ 1.-5. โดยเปลี่ยนจากตัวอย่างเป็นน้ำกลั่น
8. นำค่าที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณปริมาณไฮดรอกซีโพลีนจากกราฟมาตรฐาน

ข-6 การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีนโดยใช้วิธี SDS-PAGE (Leammli, 1970)

สารเคมี

- <u>Stock Solution</u>

1. สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ; pH=8.8 ความเข้มข้น 2 โมลาร์ โดยชั่ง Tris-base 24.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับ pH โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นอย่างช้าๆ ให้ได้pH=8.8 (ใช้กรดไฮโดรคลอริกประมาณ 4 มิลลิลิตร) จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ; pH=6.8 ความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยชั่ง Tris-base 12.1 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับ pH โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นอย่างช้าๆ ให้ได้pH=6.8 (ใช้กรดไฮโดรคลอริกประมาณ 8 มิลลิลิตร) จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. สารละลาย SDS ความเข้มข้น 10 เปอเซ็นต์ (w/v) โดยชั่ง SDS มา 10 กรัม เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร สารละลาย SDSสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

4. สารละลาย.bromophenol blue 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) โดยชั่ง bromophenol blue มา 100 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรจากนั้นนำไปกรองเพื่อกำจัดตะกอน

- <u>Working Solution</u>

1. สารละลายอะคริลาไมด์ 40 เปอร์ เซ็นต์ โดยชั่งอะคริลาไมด์โมโนเมอร์ 38.93กรัม และชั่งบิส-อะคริลาไมด์ 1.067 กรัม ผสมสารทั้งสองให้ ละลายอย่างสมบูรณ์ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร สามารถเก็บรักษาสารละลายในตู้เย็นไว้ใช้ งานได้หลายเดือน
2. สารละลาย separating gel buffer ความเข้มข้น 4 เท่า โดยตวงสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ; pH=8.8 ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 75 มิลลิลิตร (หลังจากผสมแล้วจะมีความเข้มข้นสุดท้าย 1.5 โมลาร์) และตวงสารละลาย SDS ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) 4 มิลลิลิตร (หลังจากผสมแล้วจะมีความเข้มข้นสุดท้าย 0.4 โมลาร์ จากนั้นเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 21 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันและสามารถเก็บสารละลายในตู้เย็นไว้ใช้งานได้หลายเดือน
3. สารละลาย stacking gel buffer ความเข้มข้น 4 เท่าโดยตวงสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ; pH=6.8 ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร(หลังจากผสมแล้วจะมีความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 โมลาร์) และตวงสารละลาย SDS ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) 4 มิลลิลิตร (หลังจากผสมแล้วจะมีความเข้มข้นสุดท้าย 0.4 โมลาร์ จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 46 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันและสามารถเก็บสารละลายในตู้เย็นไว้ใช้งานได้หลายเดือน
4. สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้ มข้น 10 เปอร์ เซ็นต์ โดยชั่งแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร
5. สารละลาย running buffer (สารละลาย Tris-glycine buffer ; pH=8.3) โดยชั่ง Tris-base 3 กรัม (หลังจากผสมแล้วจะมีความเข้มข้นสุดท้าย 25 มิลลิโมลาร์) ชั่ง glycine 14.4 กรัม (หลังจากผสมแล้วจะมีความเข้มข้นสุดท้าย 192 มิลลิโมลาร์) และชั่ง SDS 1 กรัม (หลังจากผสมแล้วจะมีความเข้มข้นสุดท้าย 0.1เปอร์เซ็ นต์) ผสมสารให้เข้ากันด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ได้มีค่าประมาณ 8.3 ทั้งนี้สามารถเตรียมสารละลายในรูปสารละลายเข้มข้น 5-10 เท่า โดยสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน
6. สารละลายสีย้อมเจล coomassie blue (coomassie gel stain)โดยชั่ง coomassie blue R-250 1 กรัม เติมเมทานอลปริมาตร 450 มิลลิลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร และกรดอะซิติกปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการผสมให้สารละลายสีย้อมเจล coomassie blue ละลายอย่าง

สมบูรณ์ ทำการหุ้มภาชนะที่ใส่สีย้อมเจล coomassie blue ด้วยแผ่นฟลอยด์และสามารถเก็บสารละลายสีย้อมเจล coomassie blue ไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง

7. สารละลายสำหรับล้างสี coomassie blue (coomassie gel destain) โดยตวงเมทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และกรดอะซิ ติกปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 800 มิลลิลิตร ผสมสารละลายสำหรับล้างสี coomassie blue ให้เข้ากันและสามารถเก็บสารละลายสำหรับล้างสี coomassie blue ไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง

การเตรียมเจล

ทำการเตรียม running gel ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความสูงของ running gel ประมาณ 4.5 เซนติเมตร จากนั้นใช้น้ำกลั่นเติมทับลงบนชั้นเจล เพื่อให้ผิวหน้าของเจลเรียบปล่อยให้เกิดการพอลิเมอไรซ์โดยปกติจะใช้ เวลาประมาณ 30–60 นาที ทั้งนี้สามารถสังเกตการเกิดพอลิเมอไรซ์ได้จากสารละลายผสมที่เหลือในภาชนะเตรียมเจล

เมื่อเจลในชั้น running มีการพอลิเมอไรซ์แล้วจะสังเกตเห็นรอยต่อระหว่างชั้นเจลกับน้ำกลั่นที่เททับลงบนเจลทำการเทน้ำกลั่นที่เททับบนเจลออก จากนั้นทำการเตรียม stacking gel ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ทำการเติมสารละลายทับลงบน running gel จนเต็ม จากนั้นเสียบ comb ลงบน stacking gel โดยระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ ปล่อยให้เกิดการพอลิเมอไรซ์ โดยปกติจะใช้เวลาประมาณ 30 นาที เมื่อเกิดการพอลิเมอไรซ์อย่างสมบูรณ์จึงทำการดึง comp ออกอย่างเบาๆ

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างเจลาตินและคอลลาเจนที่ต้องการตรวจสอบรูปแบบและหาน้ำหนักโมเลกุลมาต้มในอ่างน้ำเดือด ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วแบ่งมา 28 ไมโครลิตรผสมกับสีย้อม bromophenol blue ปริมาณ 7 ไมโครลิตรตัวอย่างที่ได้นำไปใช้ในการทำอิเล็กโทรฟอริซิส

การวิเคราะห์

ประกอบชุดทำอิเล็กโทรฟอริซิสแล้วทำการเติม running buffer จนเต็มช่องกระจกทางด้านในดูดตัวอย่างที่เตรียมไว้ค่อยๆ เติมลงในหลุม หลุมละ 10 ไมโครลิตรและสำหรับการเติม Protein marker ทำการเติม 5 ไมโครลิตร เมื่อทำการเติมตัวอย่างเสร็จแล้ว จะเติมสารละลาย running buffer ให้มีระดับสูงใกล้เคียงกับช่องกระจกด้านในเพื่อลดความร้อนที่เกิดจากการทำอิเล็กโทรฟอริซิส จากนั้นเปิดเครื่องตั้งค่าการทำงานให้ค่าความต่างศักย์คงที่ที่ 160 โวลต์ แล้วกดปุ่ม Run เพื่อเริ่ม

ดำเนินการ เมื่อสีของ bromophenol blue เคลื่อนตัวลงมาจนถึงขอบล่างของเจลให้กดปุ่ม End เพื่อหยุดการทำงานปิดเครื่องแล้วนำเจลออกจากชุดทำอิเล็กโทรฟอริซิส

ทำการย้อมสีเจลโดยเทสีย้อมเจล coomassie blue ลงในภาชนะที่มีขนาดพอเหมาะกับขนาดของเจล จากนั้นนำเจลที่ได้ ใส่ลงในสีย้อมนำไปวางบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วในการเขย่าต่ำเป็นเวลา 30 นาทีเมื่อครบเวลาทำการเทสีย้อมเจลออกจากนั้นเติมสารละลายล้างสี coomassie blue ลงในอ่างให้ท่วมเจลแล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วในการเขย่าต่ำเป็นเวลาประมาณ 30 นาที ทำการเปลี่ยนสารละลายล้างสี coomassie blue ทำเช่นนี้จนสามารถเห็นแถบโปรตีนอย่างชัดเจน

ข-8การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยชั่งตัวอย่างเยลลี่ 20 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง blender เป็นเวลา 30 วินาที วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter ขั้วอิเลคโทรดแก้วที่อุณหภูมิห้อง

วิธีทดสอบ

1. กด calที่เครื่องจนกระทั่งขึ้น Ct1
2. จุ่ม probe ลงใน pH 7 กด Enter รอจนกระทั่ง Ct2 ปรากฏ
3. ล้างหัว probe ด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษทิชชู
4. จุ่ม probe ลงใน pH 4 กด Enter รอจนปรากฏค่า slope ในช่วง 56 – 62 (ค่าติดลบ)
5. ล้างหัว probe ด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยทิชชู
6. จุ่ม probe ลงในตัวอย่าง กด Enter 2 ครั้ง จะปรากฏค่า pH ตัวอย่าง

หมายเหตุ

- pH Buffer ต้องมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง
- ในขั้นตอนที่ 2 ใช้เวลาไม่เกิน 10 – 15 นาที ถ้าเกินให้ปิดเครื่องและทำการ Calibrate ใหม่
- ถ้าไม่ขึ้น Ct2 แต่ขึ้น Et3 ให้ปิดเครื่องและทำการ Calibrate ใหม่ ถ้ายังไม่ได้ให้เปลี่ยน pH Buffer ที่ใช้

ภาคผนวก ค

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ 9 – point hedonic scales

ชื่อผู้ทดสอบ .... วันที่.............................. ลำดับที่...............

คำชี้แจง : กรุณาทดสอบตัวอย่างผลิตภัณฑ์เยลลี่จากซ้ายไปขวา(บ้วนปากก่อนทดสอบตัวอย่างทุกครั้ง)แล้วให้คะแนนตามความชอบของผลิตภัณฑ์ดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด **4 = ไม่ชอบเล็กน้อย** **7 = ชอบปานกลาง**
2 = ไม่ชอบมาก **5 = เฉยๆ** **8 = ชอบมาก**
3 = ไม่ชอบปานกลาง **6 = ชอบเล็กน้อย** **9 = ชอบมากที่สุด**

รหัสตัวอย่าง					
สี					
กลิ่น					
รสชาติ					
เนื้อสัมผัส					
ความชอบโดยรวม					

ข้อเสนอแนะ

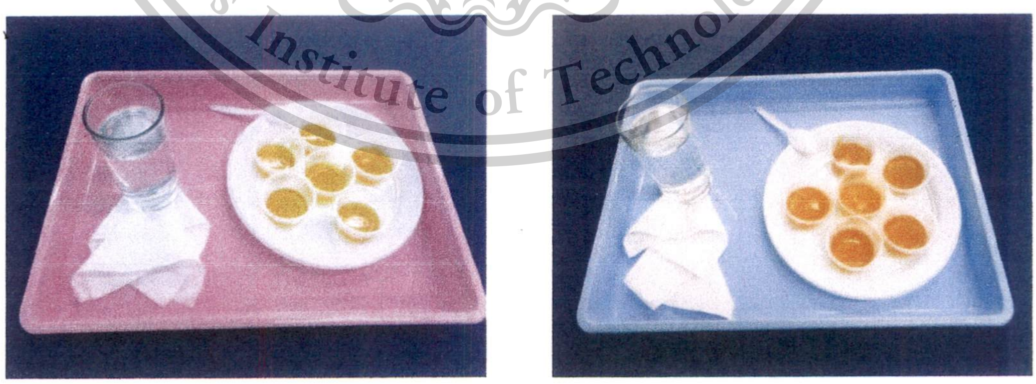
....

....

....

ภาคผนวก ง
การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ภาพภาคผนวกที่ ง-1 ตัวอย่างเยลลี่เจลาตินที่ใช้ในการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส



ภาพภาคผนวกที่ ง-2 การจัดเตรียมตัวอย่างในการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ภาพภาคผนวกที่ ง-3 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ภาคผนวก จ
ภาพตัวอย่างปลาสลาด

ภาพภาคผนวกที่ จ-1 ตัวอย่างปลาสลาดที่ใช้ในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาสลาด

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล นางสาวศิริพันธรัตน์ วัฒนโยธิน

วัน เดือน ปีเกิด 31 มกราคม พ.ศ. 2503

ที่อยู่ปัจจุบัน 34/17 ม.7 ต.เขาพระงาม อ.เมือง จ.ลพบุรี

ประวัติการศึกษา ปีพุทธศักราช 2525 สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี หลักสูตรการศึกษาศาสตรบัณฑิต วิชาเอกคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร

ผลงานวิจัยที่นำเสนอ ศิริพันธรัตน์ วัฒนโยธิน และสิทธิพงศ์ นลินานนท์. 2555. คุณลักษณะและสมบัติเชิงหน้าที่บางประการของเจลลาตินจากหนังปลาสาด. **การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 1** “อุตสาหกรรมเกษตรไทย เทิดไท้องค์ราชันย์” วันที่ 7 กันยายน 2555 โรงแรมดิเอมเมอรัลด์ รัชดาภิเษก กรุงเทพมหานคร