1279

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การสกัดเจลาตินจากเศษกระดูกไก่

(Gelatin Extraction from Bone Residue of Mechanically Debone Machine)

โดย

นางสาวอิษยา ภูธนกิจ

นางสาวอุดมลักษณ์ ภักดีภิญโญ

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....23/3/37..... **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(ผศ. เยาวลักษณ์ สุรัสพันธุ์ศิริ)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

( )

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 28 **เดือน** มีนาคม **พ.ศ.** 37

ฝพ.
075911
2536

14485

การสกัดเจลาตินจากเศษกระดูกไก่

(Gelltin Extraction from Bone Residue of Mechanically Debone Machine)

T096963

นางสาวอิษยา ภูธนกิจ

นางสาวอุดมลักษณ์ ภักดีภิญโญ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

พ.ศ.2537

ปพ.
อ759ก
2537
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 96963
วัน.เดือน.ปี 5 JUN 2538

อิษยา ภูธนกิจ และ อุดมลักษณ์ ภักดีภิญโญ. 2537. การสกัดเจลาตินจากเศษกระดูกไก่ (Gelatin Extraction from Bone Residue of Mechanically Debone Machine). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง : อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. เยาวลักษณ์ สุรพันธนิศิษฐ์ ,57 หน้า

เจลาติน เป็นอินทรียสารพวกโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนคอลลาเจน ซึ่งพบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน หนัง และ กระดูกของสัตว์ กระดูกไก่เป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจจะนำมาผลิตเจลาติน เนื่องจาก มีปริมาณกระดูกไก่ที่เหลือจากอุตสาหกรรมการส่งออกเนื้อไก่ไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี การเปลี่ยนคอลลาเจนให้เป็นเจลาตินที่มีคุณภาพสูง เริ่มจากการนำกระดูกไก่สดที่ผ่านการกำจัดไขมัน ด้วยเฮกเซนในอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 15 ชั่วโมง แล้วนำไปทำแห้งเพื่อให้สามารถเก็บรักษากระดูกได้ที่อุณหภูมิห้องมากำจัดแร่ธาตุ เพื่อกำจัดไตรแคลเซียมฟอสเฟตออกจากกระดูก โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ภายหลังจากการกำจัดแร่ธาตุ กระดูกจะผ่านสู่การเตรียมการก่อนการสกัดเนื่อทำให้คอลลาเจนในกระดูกพองตัวและเปลี่ยนเป็นเจลาตินได้ง่ายขึ้น ที่สภาวะที่เหมาะสม คือ แช่กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 10 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำกระดูกมาสกัดเจลาตินโดยใช้น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะได้เจลาตินที่มีคุณภาพดี โดยมีความแข็งแรงของเจลสูงถึง 2.62 และ Yield สูงถึงร้อยละ 30.1760 และเมื่อนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสแล้ว จะได้เจลาตินผงที่มีความชื้นร้อยละ 11.33 ปริมาณเถ้าร้อยละ 1.97

อิษยา ภูธนกิจ
อุดมลักษณ์ ภักดีภิญโญ ..... 23 มี.ค. 37

ลายมือชื่อนักศึกษา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา วัน เดือน ปี

กิตติกรรมประกาศ

การทำปัญหาพิเศษเรื่องการสกัดเจลาตินจากเศษกระดูกไก่นี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดีด้วยความอนุเคราะห์ของหลายๆฝ่ายด้วยกัน คือ บ.ไก่สดศรีไทย ที่ได้เอื้อเฟื้อกระดูกไก่ที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณ อ.ผศ. เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ สำหรับความเมตตา ความช่วยเหลือ เอาใจใส่ห่วงใยในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้

ขอขอบพระคุณ อ.ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม และ อ.รวิพิมน์ ฉวีสุข อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆที่มีค่าต่อการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือเอื้อเฟื้อความสะดวกในการทำปัญหาพิเศษนี้

และสุดท้ายขอขอบคุณกำลังใจและน้ำใจที่มีให้กันตลอดมาจากเพื่อนๆภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกคนทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้เสร็จลงโดยสมบูรณ์

ถ้าปัญหาพิเศษฉบับนี้พอจะมีประโยชน์สำหรับผู้อื่นอยู่บ้าง ขอยกความดีนี้ให้แก่ พ่อ แม่ ครูอาจารย์ ที่ได้อบรมสั่งสอน ให้ความรู้ ให้การศึกษา และความหวังดีมาโดยตลอด

อิษยา ภูธนกิจ

อุดมลักษณ์ ภักดีภิญโญ

มีนาคม 2537

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญตาราง	1
สารบัญภาพ	2
สารบัญตารางภาคผนวก	2
บทที่	
1. บทนำ	3
2. วารสารปริทัศน์	5
3. อุปกรณ์และสารเคมี	21
4. ผลการทดลอง	27
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	38
เอกสารอ้างอิง	40
ภาคผนวก	41

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	เจลาตินที่สกัดได้ที่สภาพความเป็นกรดด่างต่างๆกัน	15
2.	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในเศษกระดูกไก่สด	27
3.	ปริมาณเถ้าที่เหลืออยู่ในเศษกระดูกไก่โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก	28
4.	แสดงค่า yield และ ค่าความแข็งแรงของเจล(Gel strength) ที่ได้ภายหลังจากผ่านการกำจัดแร่ธาตุด้วยกรดไฮโดรคลอริก	30
5.	แสดงลักษณะปรากฏของเจลที่ได้	32
6.	แสดงค่าความแข็งแรงของเจลาตินที่ได้ภายหลังจากผ่านกระบวนการเตรียมก่อนการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆ	33
7.	แสดง yield ของเจลาตินที่ได้ภายหลังจากผ่านกระบวนการเตรียมก่อนการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆ	34
8.	แสดงค่าความแข็งแรงของเจล และ yield ของเจลาติน ที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 55 และ 75 องศาเซลเซียส	35
9.	แสดงค่าความแข็งแรงของเจล และ yield ของเจลาติน ที่สกัดได้ที่เวลา 3 5 และ 7 ชั่วโมงตามลำดับ	36
10.	แสดงผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และ จุลินทรีย์ของเจลาตินที่ผลิตได้เทียบกับมาตรฐาน มอก. เลขที่ 34 (มอก.802-2531)	37

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ขั้นตอนการผลิตเจลาติน	24

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางผนวกที่		หน้า
จ.1	การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณเถ้าที่หลงเหลือภายหลังการกำจัดแร่ธาตุที่ระดับความเข้มข้น และ เวลาต่างๆกัน	46
จ.2	การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความแข็งแรงของเจลภายหลังการกำจัดแร่ธาตุที่ระดับความเข้มข้น และ เวลาต่างๆกัน	47
จ.3	การวิเคราะห์ทางสถิติของ yield ภายหลังการกำจัดแร่ธาตุที่ระดับความเข้มข้น และ เวลาต่างๆกัน	48
จ.4	การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความแข็งแรงของเจล ภายหลังผ่านการเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆกัน	49
จ.5	การวิเคราะห์ทางสถิติของ yield ภายหลังผ่านการเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆกัน	50
จ.6	การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความแข็งแรงของเจล ภายหลังผ่านการเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดฟอสฟอริก ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆกัน	51
จ.7	การวิเคราะห์ทางสถิติของ yield ภายหลังผ่านการเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดฟอสฟอริก ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆกัน	52
จ.8	การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความแข็งแรงของเจลภายหลังผ่านการสกัดที่อุณหภูมิ 55 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 5 และ 7 ชั่วโมงตามลำดับ	53
จ.9	การวิเคราะห์ทางสถิติของ yield ภายหลังผ่านการสกัดที่อุณหภูมิ 55 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 5 และ 7 ชั่วโมง	54

บทที่ 1

บทนำ

เจลาติน(Gelatin)เป็นผลิตภัณฑ์พวกอินทรีย์วัตถุประเภทโปรตีนชนิดหนึ่ง ที่ได้จากการย่อยสลายของคอลลาเจน ซึ่งพบมากในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหนัง และกระดูกของสัตว์ เจลาตินมีความสำคัญมากในทางอุตสาหกรรมต่างๆ โดยใช้อุตสาหกรรมอาหารมากถึงประมาณร้อยละ 55 ของปริมาณเจลาตินที่ใช้ทั้งหมดในตลาดโลก โดยใช้เป็นสารให้ความคงตัว (Stabilizer) ในอาหารหวาน ไอศครีม และใช้เป็นสารช่วยให้เกิดฟอง(Foaming agent) ในการทำขนม

ในอดีต การผลิตเจลาตินทำได้จากกระดูกของสัตว์ใหญ่ เช่น วัว ควาย และ หนังสัตว์ ซึ่งเป็นผลิตผลพลอยได้ของโรงฆ่าสัตว์ เศษกระดูกไก่จากเครื่องถอดกระดูก เป็นวัสดุเหลือใช้ของโรงงานชำแหละไก่ มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้คือ โปรตีนทั้งหมดร้อยละ 20.5 โดยเป็นโปรตีนคอลลาเจนร้อยละ 38.7 ของโปรตีนทั้งหมด ไขมันร้อยละ 8.9 รงควัตถุร้อยละ 0.2 เถ้าร้อยละ 6.9 และเศษกระดูก (Bone particle) ร้อยละ 32.5 (Kijawski & Niewiarowicz ,1985) โปรตีนที่มีอยู่ในเศษกระดูกไก่นับว่าเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพดีเพราะมีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบสมบูรณ์

ในปัจจุบันเศษกระดูกไก่จากโรงงานชำแหละต่างๆในประเทศไทย มีอยู่เป็นปริมาณมาก ยิ่งปริมาณการส่งออกเนื้อไก่แช่แข็งไปจำหน่ายยังต่างประเทศเพิ่มมากขึ้นเท่าใด ปริมาณเศษกระดูกไก่ที่เหลืออยู่จะมีมากขึ้นเท่านั้น ดังเช่นในปี พ.ศ.2532 ซึ่งสามารถส่งออกเนื้อไก่แช่แข็งได้ถึง 108,089 เมตริกตันต่อปี (กองนโยบายแผนพัฒนาการเกษตร,2534) ซึ่งจากการคำนวณจะมีเศษกระดูกไก่เหลืออยู่ถึง 13,536 เมตริกตันต่อปี แต่การใช้ประโยชน์จากเศษกระดูกไก่ส่วนใหญ่จะนำไปผลิตอาหารสัตว์ และปุ๋ยซึ่งมีมูลค่าต่ำ เป็นการใช้ประโยชน์จากโปรตีน ที่มีอยู่ในเศษกระดูกไก่อย่างไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ ดังนั้นจึงน่าที่จะได้มีการศึกษาเพื่อนำโปรตีนคอลลาเจนที่มีอยู่ในเศษกระดูกไก่เหล่านี้ออกมาใช้ประโยชน์ก่อนในรูปของเจลาติน ซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆดังได้กล่าวมาแล้ว อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่า และใช้ประโยชน์จากกระดูกไก่ได้เพิ่มมากขึ้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาพวัตถุดิบที่เหมาะสมในการสกัดเจลาติน
2. ศึกษาสภาพที่เหมาะสมในการผลิตเจลาตินจากกระดูกไก่
3. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของเจลาตินที่ผลิตได้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

1. เจลาติน

เจลาติน เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่ได้จากการทำลายพันธะไฮโดรเจนในคอลลาเจน ซึ่งพบมากในหนัง เอ็น เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และ กระดูกของสัตว์ คอลลาเจนมีอยู่ 1 ส่วนใน 3 ส่วน ของโปรตีนทั้งหมดในกล้ามเนื้อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม เจลาตินเป็นโปรตีนซึ่งสามารถละลายน้ำได้ (Water soluble protein) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 16 และ กรดอิมิโน 2 ชนิด โดยมีกรดอะมิโน พวกไกลซีน อยู่ 1 ใน 3 ส่วน อะลานีน 1 ใน 9 ส่วน โดยมีโพรลีนน้อยกว่า 1ใน 8 ส่วน และ ไฮดรอกซีโพรลีนมากกว่า 1ใน 11 ส่วน เนื่องจากปริมาณโพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีนในโมเลกุลมีเป็นจำนวนมาก ทำให้โมเลกุลเจลาตินไม่สามารถขดเป็นเกลียว (Helical shape)ได้เหมือนโปรตีนทั่วไป แต่ในทางตรงกันข้ามโมเลกุลของเจลาตินจะเป็นสายยาวทำให้เกิดความหนืดในตัวทำละลาย และ ช่วยให้สร้างเจลได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ขั้ว (Polar group) ในโมเลกุลของเจลาตินจะเป็นส่วนเสริมให้โมเลกุลจับตัวกันได้มากขึ้น คือ ถ้าในโมเลกุลของเจลาตินมีสัดส่วนของส่วนที่มีขั้วมากขึ้นเท่าใด โมเลกุลก็สามารถจับตัวกันได้มากขึ้นเท่านั้น

เจลาตินทางการค้าจะมีลักษณะแห้ง บริสุทธิ์ ไม่มีรส มีสีเหลืองอ่อน ใสเหมือนแก้วจนแสงสามารถผ่านได้

2. คอลลอยด์ในเจลาติน

เจลาตินเป็นคอลลอยด์ที่อนุภาคคอลลอยด์มี affinity ต่อตัวกลางสูง เรียกว่า ไลโอฟิลิก คอลลอยด์ (Lyophilic colloid)โดยตัวกลางส่วนใหญ่เป็นน้ำ จึงอาจเรียกว่าเป็นไฮโดรฟิลิกคอลลอยด์ เจลาตินสามารถอยู่ในสภาพสารละลาย เรียกว่า ซอล (Sol) หรืออยู่

ในสภาวะกึ่งของแข็งเรียกว่า เจล(Gel) และสามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้(Reversible gel) ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ในระยะเริ่มต้นเมื่อส่วนผสมถูกทำให้ร้อน จะอยู่ในรูป ซอล เมื่อปล่อยให้เย็นลง ซอล จะเปลี่ยนเป็นเจล โดยการเปลี่ยนแปลงความหนืด คือ ซอล จะเป็นของเหลวที่มีความหนืด ความหนืดของซอลจะขึ้นอยู่กับรูปร่างหรือโครงสร้างของอนุภาคคอลลอยด์ ถ้าโมเลกุลของอนุภาคเป็นสายยาวจะทำให้แรงเสียดทานระหว่างอนุภาคและตัวกลางสูง ความหนืดของ ซอล ก็จะสูง เมื่อโมเลกุลของอนุภาคคอลลอยด์เข้ามาอยู่ใกล้กันและจับกันแน่นขึ้น ซอล จะมีความหนืดเพิ่มขึ้น เกิดลักษณะกึ่งของแข็งที่สามารถคงตัวได้(Rigidity) เรียกสถานะนี้ว่า เจล(Gel) เจลเป็นสารละลายของโพลิเมอร์ชนิดเป็นสาย (Thread like molecule) และจะเกิดพันธะ (Crosslink)ขึ้น เมื่ออนุภาคคอลลอยด์มาเกาะกันเป็นคู่ และแต่ละคู่จะจับรวมกันเป็นผลึก (Crystallite) แล้วเพิ่มขนาดขึ้นเรื่อยๆโดยผลึกหนึ่งจะไปจับกับอีกผลึกหนึ่งเกิดเป็นโครงสร้างเจลที่มีลักษณะเป็น Brush Heap Fibrilar ที่โมเลกุลจำนวนมากจับตัวกันแน่นเป็นโครงร่างตาข่าย(Net work)โดยมีโมเลกุลของตัวกลาง คือ น้ำ ซึ่งเคลื่อนที่ไม่ได้แทรกตัวอยู่ระหว่างโมเลกุลของอนุภาคคอลลอยด์ภายในโครงสร้างตาข่ายนั้น ทำให้เจลแข็งตัวและมีรูปร่างแน่นอน

ปัจจัยที่มีผลต่อการแข็งตัวของเจล คือ

1.ความเข้มข้นของอนุภาคคอลลอยด์ ในที่นี้ก็คือ ความเข้มข้นของเจลาตินในน้ำ ถ้ามีความเข้มข้นสูง จะเกิดเจลได้ง่ายกว่า แต่ต้องสัมพันธ์กับอุณหภูมิและเวลาด้วย เช่น เจลาตินที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 จะแข็งตัวภายในเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส แต่ถ้าเจลาตินมีความเข้มข้นร้อยละ 1 จะแข็งตัวที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาเดียวกัน

2.อุณหภูมิของสารละลาย ความหนืดของสารละลายจะแปรผกผันกับอุณหภูมิ โดยเมื่อความหนืดเพิ่มมากขึ้น อนุภาคคอลลอยด์จะเคลื่อนที่ได้ช้าลง ทำให้โมเลกุลเกาะตัวกันเร็วขึ้น เจลจะแข็งตัวเร็วขึ้นด้วย

3.การคน มีผลต่อการแข็งตัวของเจลเนื่องจาก การคนจะทำลายการเกาะตัวกันของโมเลกุล ถ้าเจลแข็งตัวแล้ว มีการคนจะทำให้โครงสร้างของเจลแตก และมีของเหลวออกมามากขึ้น ระบบคอลลอยด์ของเจลจะเปลี่ยนสภาวะไป เรียกว่า Thixotropy

4.ปัจจัยอื่นๆ เช่น สภาพความเป็น กรด-ด่าง ความเข้มข้นของเกลือ

3.การใช้เจลาตินในอาหาร

3.1 การกระจายตัวของเจลาตินแห้ง

เจลาตินที่พบในท้องตลาดจะบรรจุซอง เมื่อเติมน้ำร้อนคนให้กระจาย เจลาตินขนาดอาจโตเกินไปควรบดจึงกระจายในน้ำได้ดีขึ้น อาจป้องกันการจับตัวในก้อนด้วยการแช่ในน้ำเย็น (โดยใช้ปริมาณน้ำเย็น 3 - 4 เท่าของปริมาณเจลาติน)การแช่น้ำช่วยการกระจายตัวในน้ำร้อนได้ดี อุณหภูมิของน้ำร้อนมีผลต่อการกระจายตัว อุณหภูมิสุดท้ายหลังจากการเติมลงในเจลาตินแล้วอย่างน้อยควรเป็น 53 องศาเซลเซียส หรือ อาจจะนำเจลาตินที่แช่ในน้ำเย็นไปตั้งไฟได้เป็นสารละลาย ส่วนที่มีขั้ว(Polar group)ของโมเลกุลเจลาตินช่วยทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำ โมเลกุลน้ำอาจจับกับโมเลกุลน้ำชั้นแรกสร้างเป็นชั้นของน้ำล้อมแต่ละโมเลกุลเจลาติน เจลาตินจะต้องถูกไฮเดรทอย่างเพียงพอก่อนที่จะเกิดเป็นสารละลายคอลลอยด์ ซึ่งแตกต่างจากเคซีนที่โมเลกุลแขวนลอยเป็นสารละลาย เนื่องจากถูกไฮเดรทและมีประจุคล้ายกันในโมเลกุลที่ผลักกัน โปรตีนส่วนมากถูกแปรสภาพธรรมชาติด้วยความร้อน แต่เจลาตินจะไม่ถูกทำให้เสียสภาพธรรมชาติเนื่องจากมีโพรลีนสูง

3.2 การเกิดเจลของสารละลายเจลาติน

เมื่อสารละลายเจลาตินเย็นตัวความหนืดจะเพิ่มขึ้น โดยเปลี่ยนแปลงจากสารละลายเป็นเจล นอกเหนือจากความหนืดจะเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายเปลี่ยนเป็นเจลแล้ว ความแข็ง (Rigidity) ก็เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อทำให้เย็น ความแข็งเป็นสมบัติของเจล ในขณะที่การไหลเป็นลักษณะของสารละลาย โมเลกุลเจลาตินยาว ย่อมทำให้เกิดเจลได้ดีกว่าโมเลกุลสั้น นอกจากนี้พบว่าหากใช้ไม้ชุบสีอาหารปักลงในเจลของเจลาตินทิ้งไว้ในของเหลวพบว่าสีจะสามารถแทรกซึมจากส่วนหนึ่งของเจลไปยังอีกส่วนหนึ่งได้ หลังจากแช่สารละลายเจลาตินในตู้เย็นหรือห้องเย็นเพื่อให้เป็นเจล เมื่อสารละลายเปลี่ยนเป็นเจล เจลสามารถทนอุณหภูมิสูงโดยเจลไม่เหลว อย่างไรก็ตามเจลที่ใช้รับประทานเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จะนิ่มหรือหลอมเหลว

โดยทนอุณหภูมิได้สูง ก่อนที่จะเหลวเข้าใจว่าการทำให้เย็นช้า ๆ ทำให้การจัดตัวของโมเลกุลเจลาตินในการสร้างเจลดีกว่า เมื่อเกิดเจลพบว่าจะเป็นเจลได้เร็วขึ้นในครั้งแรก อันนี้ชี้ให้เห็นว่าเจลสามารถเกิด 2 ขั้น คือ ในขั้นแรกเป็นการจัดเรียงตัวของโมเลกุลของสารละลายเจลาติน และ ขั้นที่สองการจับตัวของโครงสร้างตาข่าย ขั้นแรกค่อนข้างช้า ในขณะที่ขั้นที่สองรวดเร็ว กรดจะทำให้เกิดเจลช้า และ อุณหภูมิของการหลอมเหลวต่ำ เมื่อเก็บเจลไว้จะเห็นของเหลวแยกตัวออกจากโครงสร้างตาข่าย แรงเกาะกันหายไปหรือถูกทำลายระหว่างโมเลกุลเจลมากขึ้น

3.3 สัดส่วนของเจลาติน

สัดส่วนของเจลาติน ปริมาณเจลาตินที่สร้างเจลในของเหลวอยู่ระหว่าง 1-2 เปอร์เซ็นต์ โดยทั่วไปนิยมใช้ 1 ช้อนชาต่อของเหลว 1 ไพนท์ จำเป็นต้องใช้เจลาตินเนียงพอมิให้เหลวตัวขณะรอเสริฟ หากเป็นที่อากาศร้อนอาจต้องใช้ปริมาณเจลาตินเพิ่มขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปจะแข็งและเหนียว เจลที่ดีต้องอยู่ตัวคงรูปร่างได้แต่นิ่ม ทาร์ตเจลลี่ (Tart jelly) มีความเป็นกรดจึงต้องใช้เจลาตินเพิ่มขึ้น (ความเป็นกรดจะทำให้เจลเหลว รวมทั้งมีผลต่อความใสของเจล) เมื่อนำไปละลายน้ำสารละลายที่ได้จะขุ่นหากเติมกรดเล็กน้อยในน้ำจะทำให้สารละลายใสขึ้น หากผสมผักและผลไม้กับสารละลายเจลาตินควรทำให้เย็นและตั้งทิ้งไว้จนพร้อมที่จะเกิดเป็นเจล ซึ่งพบว่าสารละลายเจลาตินที่ได้มีความหนาพอที่จะทำให้ชิ้นผักและผลไม้ถูกจับตัวอยู่ในเนื้อของผลิตภัณฑ์ ผลไม้ดิบมักจะลอยเพราะมีอากาศในเนื้อผลไม้ ไม่ใช้สับปะรดกับเจลาตินเพราะสับปะรดมีเอนไซม์โบรมีเลนซึ่งไม่เพียงแต่เปลี่ยนคอลลาเจนไปเป็นเจลาติน แต่ยังไฮโดรไลซ์โมเลกุลเจลาตินด้วย ทำให้สารละลายเจลาตินไม่สร้างเจล

4.กระบวนการผลิตเจลาติน

กระบวนการผลิตเจลาตินมีวัตถุประสงค์เพื่อ เปลี่ยนวัตถุดิบที่มีคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบเป็นเจลาตินที่มีคุณภาพ คือ มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physio chemical properties) ที่ดี เช่น ความแข็งแรงของเจล (Gel strength) ความหนืด (Viscosity) ความใสของ

ผลิตภัณฑ์ และได้เจลาตินเป็นปริมาณมาก

กระบวนการผลิตเจลาตินมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

4.1 การกำจัดไขมัน (Degreasing)

การกำจัดไขมันเป็นขั้นตอน กำจัดไขมัน น้ำ และเศษชิ้นส่วนของเนื้อที่ปะปนมากับเศษกระดูกบด โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม เช่น เบนซิน (Benzene) คลอริเนตเตดไฮโดรคาร์บอน (Chlorinated hydrocarbon) เฮกเซน และการใช้น้ำร่วมกับความร้อนภายใต้อัตราส่วน อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสม

การกำจัดไขมันสามารถทำได้หลายวิธี โดยใช้อุณหภูมิระหว่างจุดหลอมเหลวของไขมันและจุดตกตะกอนของอัลบูมิน (Albumin) คืออยู่ระหว่าง 32-80 องศาเซลเซียส ในสภาพสูญญากาศสูง (ปนิดา, 2536)

การกำจัดไขมันโดยวิธีดั้งเดิมจะใช้การสกัดด้วย ตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่นิยมใช้คือ เบนซิน คลอริเนตเตด ไฮโดรคาร์บอน จากนั้นกลั่นสารที่สกัดได้กลับมาเนื่อนำตัวทำละลายมาใช้ใหม่ วิธีนี้มีข้อดีคือตัวทำละลายไม่ติดไฟ และมีคุณสมบัติในการฟอกจางสีแต่ก็มีข้อเสียคือทำให้อุปกรณ์ที่ทำด้วยเหล็กสึกกร่อนเกิดสารพิษที่เป็นอันตรายได้ (Hinterwaldner, 1977)

ต่อมามีการพัฒนาการกำจัดไขมันซึ่งนอกจาก จะเป็นการกำจัดไขมันแล้วยังสามารถทำให้กระดูกแห้งในเวลาเดียวกัน (Chochlowa และคณะ,1953) วิธีนี้จะให้ความร้อนกับกระดูกที่เก็บสำรองไว้ (Bone stock) ที่อุณหภูมิ 91-93 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิเมื่อไขมันละลายออกมาจะถูกกำจัดโดยการผ่านน้ำ อุณหภูมิไม่เกิน 68 องศาเซลเซียส วิธีการนี้สามารถกำจัดไขมันให้เหลือน้อยกว่าร้อยละ 1 โดยน้ำหนักของไขมัน และ โอเซอินไม่ได้รับความเสียหาย

กระบวนการกำจัดไขมันแบบเปียก(Wet rendering)ถูกพัฒนาให้เป็นระบบต่อเนื่องโดยใช้อุณหภูมิประมาณ 72 องศาเซลเซียส เวลาน้อยกว่า 30 นาที วิธีนี้มีข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับ วิธีการกำจัดไขมันแบบเปียกแบบธรรมดา คือ สามารถรักษาคลอลาเจนทำให้กระดูกสำรองยังมีคุณภาพเหมาะสมในการสกัดเจลาติน (Hinterwaldner,1977)เพื่อรักษาคุณภาพของคอลลาเจน การกำจัดไขมันอาจใช้น้ำเย็นเรียกวิธีนี้ว่า CHAYEN PROCESS กระดูกที่ผ่านการกำจัดไขมันด้วยวิธีนี้ จะมีร้อยละของไขมันที่เหลือไม่เกินร้อยละ 2 และสามารถพัฒนาไปสู่ระบบการผลิตแบบ

ต่อเนื่องได้

หลังจากการกำจัดไขมันแล้ว กระดูกจะถูกนำมาทำแห้ง เพื่อสะดวกในการเก็บรักษา คือ สามารถเก็บรักษาได้ดีที่อุณหภูมิห้อง (เพราะว่าแบคทีเรียเจริญไม่ได้ และ การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์เกิดขึ้นน้อยมาก) วิธีการทำแห้งอาจใช้การทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิไม่สูงนัก คือ ประมาณ 60 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเสียสภาพของคอลลาเจนหรืออาจจะใช้การทำแห้งแบบลูกกลิ้งก็ได้ กระดูกที่ได้จากการทำแห้งแล้วเรียกว่า Pocker bone

4.2 การกำจัดแร่ธาตุ (Demineralization)

การกำจัดแร่ธาตุมีวัตถุประสงค์เพื่อ กำจัดแร่ธาตุที่มีอยู่ในโครงสร้างของคอลลาเจน ซึ่งแร่ธาตุส่วนใหญ่คือ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Tricalcium phosphate) และแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate)โดยพบมากถึง ร้อยละ 60 ของน้ำหนักแร่ธาตุทั้งหมด ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอนนี้ เรียกว่า โอเซอิน (Ossein)

การกำจัดแร่ธาตุจากชิ้นกระดูก จะใช้หลักของ Fick's diffusion(Groome and Clegg,1965) ที่สันนิษฐานว่าการแพร่ของกรดสู่ชิ้นกระดูกขึ้นอยู่กับ ความแตกต่างของสารละลายระหว่างผิวกระดูกกับภายในชิ้นกระดูก จนกระทั่งกระดูกเป็นกรดโดยสมบูรณ์ การกำจัดแร่ธาตุออกจากกระดูกเพื่อให้ได้โอเซอินนั้น ใช้สารละลายกรดแร่ โดยเฉพาะ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) นอกจากนั้นสามารถใช้กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายกรดแร่เหล่านี้ ควรอยู่ระหว่าง 1-3

แคลเซียมฟอสเฟตจะละลายออกมาในรูป แคลเซียมอิออน กระบวนการกำจัดแร่ธาตุนี้ขึ้นกับธรรมชาติของวัตถุดิบ ความเข้มข้นของกรด ซึ่งนิยมใช้ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 2-6 นอกจากนั้นยังขึ้นกับอุณหภูมิ ควรหลีกเลี่ยงการใช้อุณหภูมิสูง เพื่อหลีกเลี่ยงการย่อยสลายคอลลาเจนซึ่งสามารถทดสอบโดยหาปริมาณไนโตรเจนในกรด (Schachrasarowa,1952) และยังมีข้อแนะนำอีกว่า ถ้าหลีกเลี่ยงการใช้อุณหภูมิสูงไม่ได้ ก็ควรจะลดความเข้มข้นของกรดลง

ผลพลอยได้จากการกำจัดแร่ธาตุคือ ไดแคลเซียมฟอสเฟต (Di-calcium phosphate) ซึ่งจะตกตะกอนแยกออกมาจากสารละลายภายหลังจากการกำจัดแร่ธาตุ โดยการเติมสารละลายด่างจากนั้นนำตะกอนที่ได้มาล้าง ทำแห้งและรอการจำหน่ายเพื่อผสมทำอาหารสัตว์

โอเซอินที่ได้จะนำมาล้างเพื่อกำจัดกรดที่หลงเหลืออยู่ การล้างอาจจะใช้ สารละลายด่าง

อ่อนเข้มข้นร้อยละ 0.5 หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เจือจาง แล้วล้างน้ำเพื่อทำให้เป็นกลางอีกครั้ง (Hinterwaldner, 1977) สำหรับการส่งโอเซอินเป็นสินค้าออก ผู้ผลิตจำเป็นต้องทำแห้งโอเซอินเพื่อสะดวกในการขนส่ง แต่การทำแห้งจะมีผลเสียคือ เจลาตินที่ได้จะมีคุณภาพต่ำ

4.4 การเตรียมการก่อนการสกัด(Preatreatment)

วัตถุประสงค์ของการเตรียมการก่อนการสกัดคือ การทำให้คอลลาเจนที่มีอยู่ในวัตถุดิบเกิดการพองตัว ทำให้สามารถเปลี่ยนคอลลาเจนในกระดูกไปเป็นเจลลาตินให้ง่ายขึ้น และยังสามารถขจัดสารที่ไม่ต้องการเช่น โปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน (Non collagenous protein) Mucopolysaccharide ทำให้เจลาตินที่ได้มีสีใสขึ้น (Ward, 1977) วิธีการเตรียมการก่อนการสกัดทำได้ 3 วิธีคือ การใช้สารละลายกรด ด่าง และการใช้เอนไซม์

การเตรียมการก่อนการสกัด เป็นการเตรียมคลอลาเจนให้เปลี่ยนเป็นเจลาตินได้ง่ายขึ้น สามารถทำได้ 3 วิธีคือ

1. กระบวนการใช้ด่าง (Alkaline Process, Liming Process) เจลาตินที่ได้จากกระบวนการใช้ด่างเรียกว่า เจลาตินชนิดบี (type-B gelatin)

กระบวนการใช้ด่าง คือการแช่วัตถุดิบในสารละลายด่าง ความเข้มข้นร้อยละ 2 - 5 โดยน้ำหนักขึ้นกับขนาดและธรรมชาติของวัตถุดิบ ขบวนการก่อนหน้านี้ คือ การกำจัดไขมันและการกำจัดแร่ธาตุ และอุณหภูมิ เวลาที่ใช้คือ 6 - 20 สัปดาห์ โดยทั่วไปใช้ 8 - 12 สัปดาห์ แต่สำหรับโอเซอินอาจใช้เวลาน้อยกว่านี้ระหว่างการแช่ด่าง ถ้ามีการกวนโดยผ่านอากาศเข้าไปจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพได้

วัตถุประสงค์ของกระบวนการใช้ด่าง คือ ทำลายพันธะทางเคมีที่ยังหลงเหลืออยู่ในคอลลาเจนและกำจัดสารที่ไม่ต้องการ เช่น โปรตีนอื่น ๆ หรือ คาร์โบไฮเดรต โดยไขมันที่ยังหลงเหลืออยู่จะเปลี่ยนไปเป็นสบู่ที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble lime soaps)

ระหว่างการใช้ด่างนี้ พันธะโควาเลนต์ระหว่างคอลลาเจนอาจถูกทำลาย โดยเฉพาะเมื่อแช่ด่างเป็นเวลานานซึ่งอาจจะทำลายพันธะเปปไทด์ด้วย

กระบวนการใช้ด่างที่ใช้เวลานานแม้จะให้ความแข็งแรงของเจลสูง แต่ปริมาณเจลาตินที่ได้จะต่ำเพราะแอมโมเนียจะถูกปลดปล่อยจากหมู่เอไมด์ (amide group) หมู่คาร์บอกซิล

(carboxyl group) จากแอสพาราจีน เมื่อจำนวนพันธะลดลงทำให้อุณหภูมิการหดตัว (shrinkage temperature) ลดลง ซึ่งมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ของผลิตภัณฑ์เจลาตินที่ได้

ในอุตสาหกรรม สามารถติดตามและควบคุมกระบวนการใช้ด่างโดย

- หาค่าความเป็นด่าง (degree of alkalinity) ของสารละลายด่าง โดยวิธีการไตเตรต

- หาค่าไนโตรเจนและรีแอคทีฟซัลเฟอร์ (reactive sulphur)

- หาผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนทั้งหมด (total protein decomposition product)

- หาค่าความพร้อมของวัตถุดิบ (degree of prepareness of material) ซึ่งทดสอบโดยการสกัด

วิธีที่จะทำให้ลดระยะเวลาการใช้ด่างคือ การเติม peptizing substance เช่น ยูเรีย แอมโมเนีย (NH_3) ในสารละลายด่าง

หลังจากผ่านกระบวนการใช้ด่าง จะแยกคอลลาเจนที่ได้ มาทำให้เป็นกลางในน้ำธรรมดา ซึ่งสามารถกำจัดด่างได้แค่ผิวหน้าเท่านั้น การกำจัดด่างในรูขุมขน ทำโดยการล้างอีกครั้งหนึ่งด้วยสารละลายกรด เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอสฟอริก ซึ่งจะทำเมื่อล้างน้ำจนค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 9-10

ข้อควรระวังในการใช้กรดล้างคือ ความเป็นกรดมากเกินพอ เพื่อป้องกันการพองตัวของกระดูกมากเกินไป หลังจากนั้น ล้างด้วยน้ำอ่อน หรือน้ำที่ปราศจากเกลือ (Fully desalted water) อีกครั้งหนึ่งเพื่อกำจัดกรด การล้างนี้อาจจะใช้เครื่องมือกลในการล้าง เครื่องมือที่นิยมใช้คือ เครื่องล้างแบบใบพัด (Paddle washer) และเครื่องล้างแบบหมุนรูปกรวย (Cone roller machine) เวลาที่ใช้ในการล้างขึ้นกับ ธรรมชาติของวัตถุดิบ ปริมาณน้ำที่ใช้ และขนาดอุปกรณ์ ซึ่งโดยทั่ว ๆ ไปจะใช้ 5-48 ชั่วโมง

2. กระบวนการใช้กรด (Acid Process) เจลาตินที่ได้จากกระบวนการใช้กรดเรียกว่าเจลาตินชนิดเอ (type-A gelatin)

กระบวนการใช้กรด มีต้นกำเนิดจากประเทศสหรัฐอเมริกาและเริ่มนิยมใช้กันมาก

ในแถบยุโรป กระบวนการใช้กรดนี้ เหมาะกับวัตถุดิบพวกหนังหมู และ โอเซอิน จากกระดูกลูกวัว ลูกควาย วิธีการใช้กรดเป็นวิธีที่ได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจาก

- ใช้ระยะเวลาเพียง 10-48 ชั่วโมงเท่านั้น
- น้ำเสียจากกระบวนการน้อยกว่ากระบวนการใช้ด่าง
- กระบวนการกำจัดไขมันแบบใหม่ โอเซอินที่ได้ เหมาะแก่การใช้กรด
- ต้นทุนการผลิตต่ำกว่า

กรดที่นิยมใช้ในกระบวนการใช้กรด คือ กรดแร่เจือจาง ความเข้มข้นของกรดไม่ควรเกินร้อยละ 5 ถ้าความเป็นกรดด่างอยู่ระหว่าง 3.5 - 4.5 กรดแร่ที่ใช้อาจใช้กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอสฟอริก กรดซัลฟูริก หรือของผสมของกรดเหล่านี้ การเปลี่ยนแปลงของกระดูก ในกระบวนการใช้กรดคือ กระดูกจะพอง แต่ไม่เปลี่ยนแปลง คุณสมบัติการละลายน้ำ

กระบวนการใช้กรดจะสิ้นสุดเมื่อ วัตถุดิบมีความเป็นกรดโดยสมบูรณ์ หรือมีการพองตัวสูงสุด ระยะเวลาที่ใช้ในการแช่กรด ขึ้นกับ ธรรมชาติของวัตถุดิบ ความเข้มข้นของกรด และอุณหภูมิ โดยนิยมใช้เวลา 10-48 ชั่วโมง หลังจากกระบวนการใช้กรดสิ้นสุดลง จะนำมาล้างน้ำเย็น เพื่อกำจัดกรดที่ติดอยู่ จนกระทั่งความเป็นกรดด่างมากกว่า 4 เพราะที่ความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4-5 เป็น pI ของ โปรตีนที่ไม่ใช่คลอราเจนจึงทำให้สารดังกล่าวละลายได้น้อย และตกตะกอนออกมาในขั้นตอนการสกัด การล้างควรเปลี่ยนน้ำบ่อย ๆ จนกระทั่ง ความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4 แล้วจึงผ่านกระดูกไปสู่ขั้นตอนการสกัด

หมายเหตุ pI ของเจลาตินที่ได้ ขึ้นกับ วิธีการเตรียมการก่อนการสกัด ถ้าใช้กระบวนการใช้ด่าง เจลาตินที่ได้มี pI ที่ค่าความเป็นกรดด่าง ประมาณ 5 ถ้าใช้กระบวนใช้กรด เจลาตินที่ได้มี pI ที่ค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 9

3. กระบวนการใช้เอนไซม์ (Enzymatic Process) วิธีการใช้เอนไซม์ เป็นวิธีที่ค่อนข้างใหม่และมีประสิทธิภาพเนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับเสตรท (substrate) สูง จึงใช้ปริมาณเอนไซม์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

กระบวนการใช้เอนไซม์ การเตรียมวัตถุดิบที่มีคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบ ด้วยวิธีทางชีววิทยาและชีวเคมีนั้นเป็นวิธีที่ค่อนข้างใหม่ มีผู้ทดลองใช้เอนไซม์โปรเนส (Pronase)

ร่วมกับการใช้แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ระยะเวลาของกระบวนการใช้เอนไซม์จะสั้นกว่าการใช้ด่างและอาจจะสั้นกว่ากระบวนการใช้กรด หลังจาก inactive เอนไซม์ และการกำจัดสารอินทรีย์ออก จะทำการสกัดเจลาตินโดยใช้น้ำอุ่น

จากวิธีนี้พบข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการใช้ด่างคือ

- ใช้เวลา 1 ใน 5 ของกระบวนการใช้ด่าง
- ให้ผลผลิตเกือบ 100 %
- คุณสมบัติทางกายภาพเช่น ความแข็งแรงของเจล จุดหลอมเหลว (melting point) จุดเซ็ทตัว (setting point) ดีกว่าใช้กระบวนการเก่า ๆ ซึ่งได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีเพียง 30 เปอรเซนต์
- ค่าใช้จ่ายในการระเหยให้เข้มข้นลดลง
- การกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลของเจลาตินที่ได้จะแคบกว่ากระบวนการใช้ด่างมาก
- เจลาตินที่ได้มีความบริสุทธิ์มากกว่า

วัตถุดิบที่นิยมการเตรียมการก่อนสกัดโดยใช้กรด คือ หนังหมู ส่วนวัตถุดิบที่นิยมใช้การเตรียมการก่อนสกัดโดยใช้ด่างคือ หนังวัวและหนังควาย สำหรับโอเซอินนั้น สามารถใช้ได้ทั้งสองวิธี

4.4 การสกัดเจลลาติน (Gelatin extraction)

การสกัดเป็นการเปลี่ยน โอเซอิน เป็นเจลลาตินโดยใช้น้ำร่วมกับความร้อนในสภาวะความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะสมซึ่งขึ้นกับ วิธีเตรียมการก่อนการสกัด

การสกัดจะมีหลักการคือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดต้องมากกว่าอุณหภูมิหดตัวของคอลลาเจน แต่ไม่สูงพอที่จะทำลายโปรตีนได้ การสกัดเป็นการทำลายพันธะไฮโดรเจนซึ่งเป็นพันธะที่ทำให้คอลลาเจนคงตัว ประสิทธิภาพการสกัดนอกจากจะขึ้นอยู่กับวัตถุดิบคือ ควรนำมาจากสัตว์อายุน้อย และยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ สภาพความเป็นกรด-ด่าง โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด คือ 60-90 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างควรอยู่ระหว่าง 4-7 สภาวะต่าง ๆ ที่ต้องควบคุมนี้จะผลต่อความแข็งแรงของเจลและความหนืด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงคุณภาพของเจลาตินที่สกัดได้ที่สภาพความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ กัน

ตัวอย่าง	pH	T(°c)	เวลาในการสกัด (ชม.)	%Yield	ความแข็งแรงของเจล (dyn/cm^2)	ความหนืด (cp)
1	2.0	50	0.33	24	96000	7.5
2	2.0	50	0.42	19	93000	5.2
3	2.5	50	1.50	12	99000	16.2
4	2.5	50	1.25	8	98000	10.3
5	2.8	55	3.50	14	100000	10.0
6	3.0	60	4.00	3	80000	4.2
7	3.3	60	7.00	5	56000	-
8	6.4	60	2.00	22	87400	7.9
9	6.4	70	2.50	17	76000	9.6
10	6.4	80	4.00	27	67700	14.1
11	6.4	95	4.00	13	51700	5.4

ที่มา : Hinterwaldner (1977)

หมายเหตุ การวัดความแข็งแรงของเจลและความหนืด จะเก็บเจลาตินที่สกัดได้ไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการฟอร์มเจล

จากตาราง พบว่าการสกัดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกับสภาพที่เป็นกลาง(ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.4) คุณภาพเจลที่ได้จะแปรผกผันกับอุณหภูมิและเวลา แต่เมื่อศึกษาจากความหนืด พบว่า ความหนืดจะเพิ่มขึ้นจนถึง 14.1 เซนติพอยท์ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัดเป็น 4 ชั่วโมง จากนั้นความหนืดจะลดลงเนื่องจาก สภาวะในการสกัดมีผล

ในการย่อยสลายเจลาตินที่สกัดได้ แต่ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการสกัดมีค่าความเป็นกรดค่อนข้างสูง (ค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 2)ต้องใช้เวลาในการสกัดสั้น เพื่อให้เจลาตินที่สกัดได้มีคุณภาพดี

วิธีการสกัดเป็นการทำลายพันธะไฮโดรเจนเพื่อให้ได้เจลาติน สามารถทำได้สองวิธี คือ

1. เพิ่มอุณหภูมิให้แก่คอลลาเจนอย่างน้อยให้ถึงจุดที่มันหดตัว วิธีการนี้เป็นวิธีที่นิยมมากในทางอุตสาหกรรม

2. สกัดที่อุณหภูมิห้องโดยใช้ตัวทำลายพันธะไฮโดรเจน วิธีนี้เป็นวิธีที่น่าสนใจทางทฤษฎีเท่านั้น

ในทางอุตสาหกรรมนิยมใช้การสกัดโดยใช้น้ำอุ่น โดยเพิ่มอุณหภูมิขึ้นเรื่อย ๆ อุณหภูมิแรกที่ใช้ในการสกัดคือ 50-60 องศาเซลเซียส และเพิ่มอุณหภูมิทีละ 4-5 องศาเซลเซียส จนกระทั่งอุณหภูมิการสกัดใกล้เคียงจุดเดือดของน้ำ คุณภาพของเจลาตินที่ได้ จะแปรผกผันกับอุณหภูมิ จึงควรแยกเจลาตินที่สกัดได้ ในแต่ละอุณหภูมิไว้เพื่อรอการทำแห้งต่อไป การสกัดนิยมทำในอุปกรณ์ที่เป็นเหล็กปลอกสนิม (stainless steal)

การสกัดในทางอุตสาหกรรมพยายามทำให้เป็นระบบต่อเนื่อง น้ำที่ใช้ในการสกัดจะผ่านเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน (heat exchanger) ส่วนน้ำที่สกัดได้ที่แต่ละอุณหภูมิ จะถูกทำให้เข้มข้นร้อยละ 3-8 ในขณะสกัด ควรมีการกวนหรือการหมุนเวียนของน้ำสกัดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการ จากนั้นกรองสารละลายที่สกัดได้ ผ่านไดอะตอมมาเชียสเอิร์ทที่ความดันสูง แล้วนำมาทำให้เข้มข้น โดยใช้เครื่องระเหยเข้มข้นแบบหลายขั้นตอนจนมีความเข้มข้นร้อยละ 15 นำมากรองอีกครั้งหนึ่ง โดยใช้เครื่องกรองแบบเฟรม เพื่อทำให้ความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ ร้อยละ30

วิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้เจลาตินที่ได้มีความใสนอกจากการฟอกสี ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต การกำจัดไอออนก่อนการระเหยเข้มข้นโดยการตกตะกอนด้วยเกลืออินทรีย์ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรม โดยเฉพาะถ้าสภาพความเป็นกรดด่างที่ใช้ในการสกัดมีค่าต่ำ

ปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องควบคุมคือ สภาพปลอดเชื้อในโรงงานผลิตที่ทันสมัยจะมีการเสตอริไรซ์ โดยใช้ความร้อนหลังจากการระเหยเข้มข้นครั้งสุดท้าย โดยน้ำสกัดจะถูกทำให้ร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 130 - 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 นาที แล้วทำให้เย็นทันที

และควรควบคุมความสะอาดของเครื่องมือด้วย

4.5 การทำแห้ง (Drying)

การทำแห้งเป็นการกำจัดน้ำออกจากสารละลายเจลาตินเหลว เพื่อสะดวกในการเก็บรักษาและการนำไปใช้ประโยชน์ต่าง ๆ วิธีการทำแห้งสามารถทำได้หลายวิธีเช่น การใช้ตู้อบลมร้อนธรรมดาโดยอบที่อุณหภูมิไม่สูงนักเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของเจลาติน หรือการใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer) และเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (Roller dryer) ปัจจุบันมีการทำแห้งโดยการใช้เครื่องทำแห้งแบบฟลูอิดไดซ์เบด (Fluidized bed dryer) การเลือกวิธีทำแห้งที่เหมาะสมควรคำนึงถึงคุณภาพของเจลาตินที่ได้ วิธีการทำแห้งที่ดีต้องไม่ทำลายเจลาตินนอกจากนั้นยังต้องคำนึงถึงต้นทุนและค่าใช้จ่ายต่าง ๆ รวมทั้งความสะดวกในการควบคุมระบบการทำงานของเครื่องมือ

วิธีทำแห้งอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรม คือ การทำสารละลายเจลาตินให้อยู่ในรูปเจลโดยใช้เครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนชนิดพิเศษแล้วผ่านแม่พิมพ์เพื่อตัดให้เป็นเส้น จากนั้นผ่านเส้นเจลไปยังอุโมงค์ทำแห้ง ในระบบสายพานแบบต่อเนื่อง ภายในอุโมงค์จะมีอากาศที่ปราศจากความชื้นที่มีอุณหภูมิสูง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งโดยวิธีนี้ จะมีความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 8 - 12 (Lundquist,1972) เจลาตินจากการทำแห้งจะส่งไปยังโรงบดเพื่อบดเป็นผงละเอียดและแยกตามเกรดต่าง ๆ ขนาดของผงเจลาตินเป็นปัจจัยสำคัญของอัตราการละลายของเจลาตินในสารละลายต่าง ๆ การพองตัวและการดูดน้ำของเจลาตินจะขึ้นกับขนาดของผนึกเจลาติน หรือพื้นที่ผิวต่อหน่วยน้ำหนัก การเลือกใช้เจลาตินในอุตสาหกรรมต่าง ๆ จึงควรคำนึงถึงปัจจัยนี้ด้วย

เจลาตินที่บดละเอียดแล้ว จะถูกบรรจุในภาชนะที่ไม่ยอมให้อากาศผ่านเข้าไปได้ เพื่อรอการจำหน่ายต่อไป (Anonymous,1984)

5.การใช้ประโยชน์จากเจลาติน

เจลาตินมีการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย คือ

อุตสาหกรรมอาหาร	55 %
อุตสาหกรรมการผลิตยา	25 %
อุตสาหกรรมภาพถ่าย	15 %

96963

อุตสาหกรรมอื่น ๆ 5 %

5.1 เจลาตินในอุตสาหกรรมอาหาร

ในอุตสาหกรรมอาหารได้นำเจลาตินมาใช้ประโยชน์มากมาย เช่น Jelling agent , สารให้ความคงตัว (Stabilizer) , สารเชื่อม (Binder) สารทำให้เกิดฟองในขนมหวาน (Foaming agent) , สารที่ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งเล็ก ๆ ในการแช่แข็งอาหาร (Crystal growth modifier) เป็นต้น

5.1.1 Jelling agent

เจลาตินเป็น Reversible gel เพราะมีจุดหลอมเหลวต่ำและเนื่องจากจุดหลอมเหลวต่ำนี้เอง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะละลายในปาก (Melt in mouth) ซึ่งเป็นลักษณะที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ต้องการ เยลลี่ที่ทำจากเจลาตินจะมีความยืดหยุ่น (Elastic) และมีลักษณะเหมือนยาง (Rubbery) มากกว่าเจลจาก Jelling agent อื่น ๆ เช่น Pectin นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์คัสตาร์ด เจลาตินจะทำให้พื้นที่ผิวที่ถูกตัดมีลักษณะเรียบ (Smooth cut surface) มากกว่า Alginate

5.1.2 Emulsifier

เจลาตินเป็น Oil in water emulsifier ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ดังนี้ ใน Whipped cream เติมเจลาติน 0.35 % จะช่วยเป็นสารให้ความคงตัว (Stabilizer) และสามารถลดการสูญเสียไขมันได้ (Blumenthal, 1984) นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการผลิต Mock cream จากไขมันนมและน้ำตาล ส่วนทางด้านผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ จะใช้เจลาตินเพื่อเป็น Emulsifier ในซุปต่าง ๆ เช่น Cream soups , Pastes soups หรือใช้ในมายองเนส

5.1.3 Thickener

การใช้เจลาติน เพื่อเพิ่มความหนืด พบมากในการทำไอสกรีม โดยใช้ 0.1 % ของเจลาตินเพื่อเพิ่มความหนืดของน้ำเชื่อม ทำให้กลิ่นรส (Flavoring syrup) (Gerrard , 1968) หรือในซุปบรรจุกระป๋อง

5.1.4 Binder

ใน Lozenge เป็นผลิตภัณฑ์ประเภท Cream paste แต่แข็งกว่า Sugar paste จะใส่เจลาติน เพื่อให้ผลิตภัณฑ์คงตัวในน้ำเชื่อม

5.1.5 Finning

คุณสมบัติการเป็น Finning agent ของเจลาติน ใช้ในน้ำผลไม้ ไวน์ น้ำส้มสายชู เจลาตินจะทำปฏิกิริยากับแทนนิน แล้วตกตะกอน และมีผลช่วยจับสารที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ขุ่นตกตะกอนลงมาด้วย ปริมาณเจลาตินที่ใช้ประมาณ 1.5 - 5 ออนซ์ต่อ 100 แกลลอน เติม 1.5 - 5 ออนซ์ ของแทนนินด้วย

5.1.6 Stabilizer

เจลาตินจะใช้เพื่อลดขนาดผลึกหรือป้องกันการตกผลึกของน้ำตาล ซึ่งมีผลต่อผลึกของน้ำแข็งเมื่อสารละลายเป็นน้ำแข็ง ในการผลิต Marshmallow จะใช้เจลาตินประมาณ 1.5 % เพื่อป้องกันการตกผลึก

- ไอศกรีม เจลาตินในไอศกรีม ใช้เพื่อป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ นอกจากนั้นยังลดอัตราการละลาย ทำให้ไอศกรีมมีความคงตัวและเนื้อสัมผัสเนียน ถ้าใช้เจลาติน

น้อยไป ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเนื้อหยาบ เหลว และร่วน แต่ถ้าใส่มากจะทำให้เหนียว

- โยเกิร์ต เจลาตินในโยเกริ์ตใช้เพื่อลดปริมาณการเกิด Synerresis (การเกิด Synerresis เป็นการไหลซึมของของเหลวที่เป็นส่วนประกอบของเจล เนื่องจากเมื่อเก็บไว้ในตู้เย็นและเกิดการหดตัว) เมื่อเทียบกับ Stabilizer อื่น ๆ จะบดบังกลิ่นรสน้อยกว่า

5.1.7 Whipping agent

- ใช้ในการผลิต Mashmallow โดยผสมน้ำเชื่อมที่มีเจลาติน 2 - 3 เปอร์เซนต์ และ น้ำ 18 - 25 เปอร์เซนต์ แล้วเติมอากาศเข้าไป
- ใช้ในการผลิต Naugat ซึ่งเป็นของหวานลักษณะเดียวกับตังเม
- ใช้ในการผลิต Frappes โดยผสมน้ำเชื่อม ไข่ขาว และเจลาติน แล้วนำมาตีให้ขึ้นฟู

5.1.8 Foaming agent

การทำเจลาตินโฟม เริ่มจากละลายเจลาตินแล้วปล่อยให้มีความหนืดเท่า ๆ กับความหนืดของ Whipping cream แล้วตีด้วย Rotary beater เพื่อทำให้เกิดโฟมอย่างรวดเร็ว ลักษณะของโฟมที่ดีต้องมีเนื้อสัมผัสที่เนียนและสม่ำเสมอ ไม่มี Gelatinous particle และมีปริมาตรเพิ่มขึ้น 3 เท่าจากปริมาตรเริ่มต้น ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการเติมกลิ่นรสควรเติมกลิ่นรสที่หอมกว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมเจลาตินชนิดอื่น ๆ เพราะการทำให้เกิดโฟมจะทำให้ความเข้มข้นของสารให้กลิ่นรสลดลง

14485

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ

- เศษกระดูกไก่สด

2. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- เครื่องชั่ง
- โหลแก้วทรงสูง
- เครื่องแก้ว ได้แก่ แท่งแก้วคน กระบอกตวง บีกเกอร์ ปิเปต เป็นต้น
- pH meter
- water bath
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- เครื่องชั่งละเอียดของ METTLER รุ่น AE 50
- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน (Buchi)
- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน (Soxterm)
- aluminium can
- crucible
- plate
- Viscometer model RVF-100

3. สารเคมี

- กรดไฮโดรคลอริก (Hcl)
- กรดฟอสเฟอร์ริก (H_3PO_4)
- กรดบอริก (H_3BO_3)
- คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)
- ปิโตรเลียมอีเทอร์ (PETROLIUM ETHER)
- เฮกเซน (HEXANE)

[illegible]

วิธีการทดลอง

1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเศษกระดูกไก่ ดังนี้

- วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน โดยวิธี 10.119 (AOAC 1984)
- วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธี 1.984-2.057(AOAC 1984)
- วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า โดยวิธี 18.025(AOAC 1984)
- วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น โดยวิธี 24.003(AOAC 1984)

2.ศึกษาสภาพที่เหมาะสมในการผลิตเจลาตินจากเศษกระดูกไก่

ในการศึกษาจะเตรียมการขั้นต้นเพื่อการเก็บรักษาเศษกระดูกไก่ โดยแช่เศษกระดูกไก่ในสารละลายเฮกเซนในอัตราส่วน 1 :1เป็นเวลา 15 ชั่วโมง แล้วนำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ก่อนนำเศษกระดูกไก่มาใช้เพื่อการศึกษาต่อๆไป

2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ (demineralization)

กำจัดแร่ธาตุจากวัตถุดิบโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 1 2และ 3 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ โดยแช่กระดูกในอัตราส่วนกระดูกแห้ง (ที่มีความชื้นร้อยละ 56.93 ไขมันร้อยละ 9.20 ,ภาคผนวก ข และ ง)50 กรัม ต่อ สารละลายกรด 300 มิลลิลิตร ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 10 และ 15 วัน ตามลำดับจากนั้นนำมาทำให้เป็นกลางโดยใช้น้ำล้าง

2.1.1 ตรวจหาปริมาณเถ้าที่มีเหลืออยู่ในเศษกระดูกไก่ภายหลังจากการกำจัดแร่ธาตุ

2.1.2 ตรวจหาคุณภาพและปริมาณของเจลาตินที่ได้ภายหลังจากการกำจัดแร่ธาตุแล้ว โดยนำเศษกระดูกไก่ที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุในสภาวะทดลองต่างๆมา เตรียมวัตถุดิบขั้นต้นด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 % เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แล้วนำมาสกัดเจลาติน ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัตถุดิบขั้นต้น (pretreatment)

เปรียบเทียบการใช้กรด 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริก และ กรดฟอสเฟอร์ริก ที่ความเข้มข้น 1 3 และ 5 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ แช่กระดูกไก่โดยใช้อัตราส่วนกระดูกแห้ง 50 กรัม ต่อสารละลายกรด 300 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 20 และ 30 ชั่วโมง ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อแช่กระดูกไว้ในสารละลายกรดตามเวลาที่ทดลองแล้วนำเศษกระดูกไก่มาล้างน้ำเย็นจนกระทั่งความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 4 (เนื่องจากค่า pIของโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ระหว่าง 4-5)

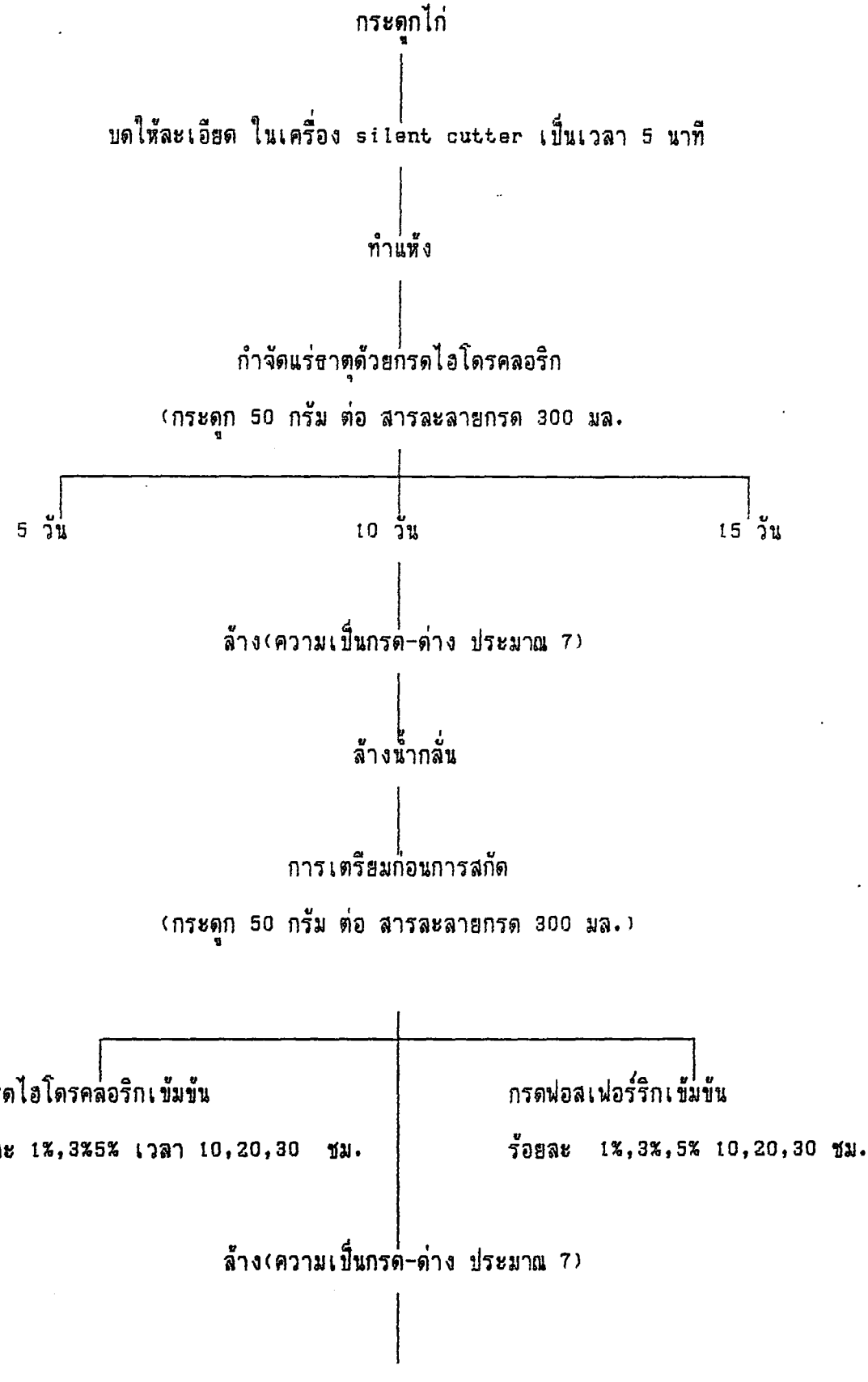
การตรวจหาสภาพที่เหมาะสมในการเตรียมวัตถุดิบทำได้โดยนำตัวอย่างที่ทำการเตรียมในขั้นต้นมาสกัดเจลาตินด้วยน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมงใช้อัตราส่วนของกระดูกต่อน้ำเท่ากับ 1 : 3 เปรียบเทียบคุณภาพและปริมาณของเจลาตินที่ได้ในแต่ละหน่วยทดลองโดยตรวจสอบความแข็งแรงของเจล (Gel strength) ที่ได้ด้วย KMITL Food Texture Measuring Instrument และหา yield ของเจลาตินที่ได้

2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเจลาติน

โดยใช้น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 55 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 5 และ 7 ชั่วโมง ตามลำดับ

- การตรวจหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโดยเปรียบเทียบปริมาณและความแข็งแรงของเจลาติน เลือกสภาวะการผลิตที่ให้เจลคุณภาพดีและปริมาณผลผลิตที่เหมาะสม เพื่อเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเจลาตินจากกระดูกไก่ต่อไป ขั้นตอนการผลิตจะแสดงในภาพที่ 1

ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงการทดลองสกัดเจลาตินจากกระดูกไก่



ล้างน้ำกลั่น

สกัดด้วยน้ำกลั่น(อัตราส่วนกระดูก 50 กรัม ต่อ น้ำกลั่น 150 มล.)

อุณหภูมิ 55 °c เวลา3,5,7 ชม.

อุณหภูมิ 75 °cเวลา 3,5,7 ชม.

ทำแห้งที่อุณหภูมิ 65 °c

เวลา 24 ชม.

บดให้ละเอียด

3. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และ จุลินทรีย์ของเจลาตินที่ผลิตได้

3.1 การตรวจคุณภาพทางกายภาพ โดยตรวจ

- สี ใช้วิธีตรวจพินิจ
- Gel strength โดยใช้ KMITL Food Texture Measuring Instrument Texturometer

3.2 การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี โดยวิเคราะห์หา

- ความชื้น โดยวิธีของ AOAC (1984)
- pH โดยใช้ pH meter
- ปริมาณเถ้า โดยวิธีของ AOAC (1984)

3.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี AOAC(1984)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1.การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเศษกระดูกไก่สด แสดงผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในเศษกระดูกไก่สด

ปริมาณองค์ประกอบ	ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง
ไขมัน	9.20
โปรตีน	20.54
เถ้า	15.58
ความชื้น	56.93

จากตารางที่ 2 พบว่า เศษกระดูกไก่สดมีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ คือ ไขมัน 9.2 เปอร์เซนต์ ปริมาณโปรตีน 20.54 เปอร์เซนต์ ปริมาณเถ้า 15.58 เปอร์เซนต์ ปริมาณความชื้น 56.93 เปอร์เซนต์ จากข้อมูลดังกล่าวพบว่า องค์ประกอบของไขมันและความชื้นอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างสูง จึงทำให้วัตถุดิบต้องการการเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งอยู่เสมอ ดังนั้นเพื่อให้สามารถเก็บวัตถุดิบไว้ใช้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง จึงจำเป็นต้องมีการกำจัดไขมัน และ ทำแห้งวัตถุดิบก่อน โดยการแช่เศษกระดูกไก่ในสารละลายเฮกเซนในอัตราส่วน1 : 1 เป็นเวลา 15 ชั่วโมง แล้วทำแห้งเศษกระดูกที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ก่อนจะนำวัตถุดิบไปใช้เพื่อการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเจลาตินจากกระดูกไก่

2.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุ โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกที่ระดับความเข้มข้น 1 2 และ 3 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ เป็นเวลา 5 10 และ 15 วัน ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณเถ้าที่เหลืออยู่ในเศษกระดูกไก่โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก

เวลาที่แช่ (วัน)	ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก		
	1 %	2 %	3 %
5	13.2848 a	9.5630 b	2.3914 c
10	12.8320 a	10.1174 b	1.4590 c
15	13.1550 a	9.4732 b	3.1281 c

a,b,c อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นกรดที่สูงขึ้นมีผลทำให้ปริมาณเถ้าในเศษกระดูกไก่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยที่ระดับความเข้มข้นกรด 3 เปอร์เซนต์ จะเหลือปริมาณเถ้าในเศษกระดูกไก่น้อยที่สุด คือ เหลืออยู่ประมาณ 1.45 - 3.21 เปอร์เซนต์ ในขณะที่ความเข้มข้นกรดที่ระดับ 1 และ 2 เปอร์เซนต์ จะเหลืออยู่ปริมาณเถ้าอยู่ในเศษกระดูกสูงถึงในช่วงประมาณ 9 - 13 เปอร์เซนต์ และเมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาในการแช่ที่มีผลต่อปริมาณเถ้าที่เหลือพบว่า ระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นในการแช่ไม่มีผลต่อปริมาณเถ้าที่ถูกกำจัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ดังนั้นในทาง

ปฏิบัติจึงเลือกใช้ระยะเวลาน้อยที่สุดในการกำจัดแร่ธาตุ คือ ที่เวลา 5 วัน เพื่อประหยัดเวลาและพลังงานรวมทั้งต้นทุนการผลิต แต่ค่าปริมาณเถ้าที่วิเคราะห์ได้นี้ไม่สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุได้ ทั้งนี้เนื่องจากค่าที่ได้นี้ไม่สามารถบอกถึงความแข็งแรงของเจล และyield ของเจลาตินที่ผลิตได้ ดังนั้นจึงทำการทดลองตรวจหาสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุโดยการตรวจสอบ ปริมาณ และ ความแข็งแรงของเจลาตินที่ผลิตได้ภายหลังจากผ่านการกำจัดแร่ธาตุแล้ว โดยนำเศษกระดูกไก่ที่ผ่านการกำจัดแร่ธาตุแล้วที่สภาวะทดลองต่างๆ มาทำการเตรียมก่อนสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 10 ชั่วโมง และนำมาสกัดเจลาตินที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดง yield และ ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) ที่ได้ภายหลังจากผ่านการกำจัดแร่ธาตุด้วยกรดไฮโดรคลอริก

ความเข้มข้นกรด	เวลาที่แช่ (วัน)	% yield	gel strength (kg force)
	5	28.1442 a	3.2970 a
1 %	10	13.2913 e	1.1353 d
	15	14.0005 de	0.3798 e
	5	15.7724 cde	2.5847 b
2 %	10	16.9248 cd	2.0434 c
	15	24.9659 b	0.3949 e
	5	22.8295 b	2.8696 b
3 %	10	13.8750 de	1.0373 d
	15	17.5367 c	0.0000 e

a,b,c... อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง แสดงถึงข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากตารางที่ 4 พบว่า ในการแช่กรดที่ใช้ระยะเวลาน้อย จะให้เจลาตินที่มีค่าความแข็งแรงของเจล และ yield สูง ดังนั้นจึงสามารถเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดแร่ธาตุได้ คือ ใช้ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก 1 เปอร์เซนต์ ระยะเวลาในการแช่ 5 วันซึ่งจากตาราง ที่สภาวะดังกล่าวจะให้เจลาตินที่มีค่าความแข็งแรงของเจลเท่ากับ 3.2970 กิโลแรง และให้ yield เท่ากับ 28.1442 เปอร์เซนต์ แสดงให้เห็นว่าการกำจัดแร่ธาตุออกจากเศษกระดูกไก่ไม่มีความจำเป็นต้องกำจัดแร่ธาตุออกจนหมด หรือกำจัดให้เหลือน้อยที่สุดก็ได้เนียง แค่สามารถกำจัดออกได้ที่ระดับหนึ่งก็เพียงพอ

2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมวัตถุดิบขั้นต้นก่อนการสกัด

จากการนำกระดูกมาเตรียมก่อนการสกัดโดยการแช่ในสารละลายกรด เปรียบเทียบชนิดของกรด ความเข้มข้น และเวลาที่ใช้ คือ กรดไฮโดรคลอริก กรดฟอสเฟอร์ริก เข้มข้น 1 3 และ 5 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 10 20 และ 30 ชั่วโมง ตามลำดับ กระดูกที่ผ่านกระบวนการแล้ว นำไปทดลองสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง สังเกตลักษณะปรากฏของเจลาติน วัดค่าความแข็งแรงของเจล และ yield ที่ได้ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 5 6 และ 7 ตามลำดับ

ตารางที่ 5 แสดงลักษณะปรากฏของเจลที่ได้

ความเข้มข้นของกรด	เวลา (ชม.)	ชนิดของกรดที่ใช้	
		HCl	H_3PO_4
1 %	10	เจลสีเหลืองอ่อน ใส	เจลสีเหลืองอ่อน ใส
	20	เจลสีเหลืองอ่อน มีตะกอนเล็กน้อย	เจลสีเหลืองอ่อน ใส
	30	เจลสีเหลืองน้ำตาล มีตะกอนเล็กน้อย	เจลสีเหลืองขุ่น ไม่มีตะกอน
2 %	10	เจลใสสีเหลืองเข้ม	เจลสีเหลืองอ่อน มีตะกอน
	20	เจลสีเหลืองเข้ม มีตะกอนเล็กน้อย	เจลสีเหลืองเข้ม มีตะกอนขุ่นมาก
	30	เจลสีน้ำตาลเข้ม	เจลสีเหลืองเข้ม มีตะกอนขุ่นมาก
3 %	10	เจลสีน้ำตาลไหม้	เจลสีเหลืองน้ำตาลขุ่น
	20	เจลสีน้ำตาลไหม้	เจลสีเหลืองน้ำตาลขุ่น
	30	เจลสีน้ำตาลไหม้	เจลสีเหลืองน้ำตาลขุ่น

ตารางที่ 6 แสดงค่าความแข็งแรงของเจลาตินที่ได้ภายหลังจากผ่านกระบวนการเตรียมก่อนการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆ

ความเข้มข้นของกรด	เวลา (ชม.)	ชนิดของกรดที่ใช้	
		HCl	H_3PO_4
1 %	10	3.2970 b	1.3971 d
	20	3.1812 b	2.1306 bc
	30	2.8429 c	1.7923 c
2 %	10	3.6621 a	2.5313 b
	20	3.3415 b	2.0416 c
	30	3.3777 b	1.9614 c
3 %	10	3.7600 a	3.8846 a
	20	2.5224 d	2.3428 bc
	30	2.7806 c	1.5964 cd

a,b,c... อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง แสดงถึงข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 7 แสดง yield ของเจลาตินที่ได้ภายหลังจากผ่านกระบวนการเตรียมก่อนการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆ

ความเข้มข้นของกรด	เวลา (ชม.)	ชนิดของกรดที่ใช้	
		HCl	H_3PO_4
1 %	10	28.1442 [a]	8.2824 [e]
	20	18.4642 [c]	11.9531 [c]
	30	10.0262 [d]	19.7372 [c]
2 %	10	22.4295 [bc]	18.8164 [c]
	20	21.5931 [bc]	24.3575 [b]
	30	18.1884 [c]	21.1195 [b]
3 %	10	18.8164 [c]	26.4398 [ab]
	20	24.3573 [b]	29.5855 [a]
	30	21.1195 [bc]	24.1652 [b]

a,b,c... อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง แสดงถึงข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากตารางที่ 5 6 และ 7 แสดงให้เห็นว่า เมื่อนำกระดูกไก่มาผ่านการกำจัดแร่ธาตุด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 เปอร์เซนต์ ที่เวลา 5 วัน แล้วทำการเตรียมวัตถุดิบให้มีสภาพที่เหมาะสมต่อการสกัด สภาวะที่เหมาะสมควรเป็นที่การใช้กรดไฮโดรคลอริก เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 10 ชั่วโมงจะให้เจลที่มีสีเหลืองใสมีค่าความแข็งแรงของเจล เท่ากับ 3.2970

กิโลแรง และให้ yield สูงถึง 28.1142 เปอร์เซนต์ ซึ่งเมื่อเทียบกับสภาวะอื่นๆ พบว่าค่าที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเจลาติน

จากการเตรียมการขั้นต้น โดยนำเศษกระดูกไก่แห้งมากำจัดแร่ธาตุ ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 5 วัน และเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แล้วนำมาสกัดโดยเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ที่ 55 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 5 และ 7 ชั่วโมงตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8 และ 9 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 แสดงค่าความแข็งแรงของเจล และ yield ของเจลาติน ที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ 55 และ 75 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ(องศาเซลเซียส)	gel strength	% yield
55	1.0685 b	28.163 b
75	1.8175 a	34.271 a

a,b อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง แสดงถึงข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากตารางที่ 8 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นจะได้เจลาตินที่มีค่าความแข็งแรงของเจลและ yield สูงขึ้น คือ ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส จะให้ค่าความแข็งแรงของเจล เท่ากับ 1.8175 กิโลกรัมแรง (kg force) และให้ yield เท่ากับ 34.271 เปอร์เซนต์ และเมื่อพิจารณาถึงผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อค่าความแข็งแรงของเจลและ yield ที่ผลิตได้ แสดงผลที่ได้ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงค่าความแข็งแรงของเจล และ yield ของเจลาติน ที่สกัดได้ที่เวลา 3 5 และ 7 ชั่วโมง ตามลำดับ

เวลา (ชม.)	gel strength (kg force)	% yield
3	1.647 [a]	33.406 [a]
5	1.548 [a]	32.934 [a]
7	1.133 [b]	27.312 [b]

a,b อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง แสดงถึงข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากตารางที่ 9 พบว่า เจลาตินที่สกัดได้ที่ระยะเวลา 3 และ 5 ชั่วโมง จะให้ค่าความแข็งแรงของเจล และ yield ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ และให้ค่าสูงกว่าที่ระยะเวลาในการสกัด 7 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ คือ ให้ค่าความแข็งแรงของเจลอยู่ในช่วง 1.548 - 1.647 กิโลแรง และให้ yield อยู่ในช่วง 32.934 - 33.406 เปอร์เซนต์ ดังนั้นจึงสามารถเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดได้ คือ ใช้น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3. ผลการตรวจวิเคราะห์หาคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ของเจลาตินที่ผลิตได้

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของเจลาตินที่ผลิตได้ ได้ผลเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. เลขที่ 34 แสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 10 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของเจลาติน ที่ผลิตได้เทียบกับมาตรฐาน เลขที่ มอก. 34

คุณลักษณะที่ตรวจสอบ	เจลาตินที่ผลิตได้	มาตรฐาน มอก.34
สีและลักษณะทั่วไป	เกล็ดสีน้ำตาล ค่อนข้างใส	เกล็ดสีขาว ค่อนข้างใส
ความเป็นกรดด่าง	3.8	4.7
ความชื้น	ร้อยละ 11.3	ไม่เกินร้อยละ 10 - 15
ปริมาณเถ้า	ร้อยละ 1.97	ไม่เกินร้อยละ 1
ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด	$6.9 * 10^{4}$	ไม่เกินร้อยละ $1x10^{5}$ โคโลนีต่อกรัม

จากตารางพบว่า เจาตินที่ผลิตได้มีสีเข้มเป็นสีน้ำตาล ทั้งนี้เนื่องจากเจลาตินที่ได้จากกระบวนการยังไม่ได้ผ่านการฟอกสีและทำให้บริสุทธิ์ (purify) จึงทำให้สีเข้มกว่ามาตรฐานและมีค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 3.8 ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐานทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำกลั่นที่ใช้ละลายผลเจลาตินแห้งในห้องปฏิบัติการมีความเป็น กรด - ด่าง จึงทำให้ค่าที่วิเคราะห์ได้คลาดเคลื่อน ปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้มีค่าร้อยละ 11.3 มีปริมาณเถ้าร้อยละ 1.97 และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ $6.9 * 10^{4}$ โคโลนีต่อกรัม ซึ่งคุณสมบัติต่างๆเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด (มอก.34)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1.จากการใช้กรดไฮโดรคลอริกในการกำจัดแร่ธาตุและเตรียมการก่อนการสกัดพบว่าระยะเวลาในการแช่กรดที่นานขึ้น ไม่มีผลทำให้ค่าความแข็งแรงของเจล และ yield ที่ได้สูงขึ้น

2.จากการเพิ่มความเข้มข้นของกรดสูงขึ้นในการกำจัดแร่ธาตุ และการเตรียมการก่อนการสกัดพบว่าความเข้มข้นที่สูงขึ้นมีผลทำให้ ค่าความแข็งแรงของเจลที่ได้ลดลงและลักษณะปรากฏของเจลาตินที่ได้ไม่ดี มีสีเข้มและตะกอนขุ่น

3.สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเจลาตินจากกระดูกไก่ คือ การกำจัดแร่ธาตุด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 5 วัน และ เตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แล้วสกัดด้วยน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยเจลาตินที่ได้สามารถเกิดเจลได้ดีมีความแข็งแรงของเจลและ yield สูง

4.เจลาตินที่ผลิตได้จากการทดลองที่สภาวะดังกล่าว มีสมบัติใกล้เคียงกับมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.802-2531) ทั้งในด้านของลักษณะทางกายภาพและทางเคมี เช่น ความชื้น เถ้า และค่าความเป็นกรด-ด่าง รวมทั้งปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่ามาตรฐาน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระบวนการต่างๆในการเตรียมวัตถุดิบขั้นต้นเป็นกระบวนการใช้กรด และ น้ำกลั่นในห้องปฏิบัติการที่นำมาล้างเศษกระดูกมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูง

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากสภาวะที่เหมะสมในการผลิตเจลาตินที่ได้จากการทดลองนี้ เป็นสภาวะที่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก และเวลาในการปฏิบัติงานน้อยที่สุด จึงควรทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต ที่ความเข้มข้นของสารละลายกรด และเวลาที่ต่ำลง

2. เนื่องจากกระบวนการทำแห้งเจลาตินให้เป็นเจลาตินผง ใช้การทำแห้งในตู้อบลมร้อน ซึ่งต้องใช้เวลานาน ดังนั้น จึงควรเปลี่ยนวิธีการทำแห้งโดยใช้ Vacuum dryer เพื่อลดเวลาในการปฏิบัติงานและเพิ่มประสิทธิภาพของเจลาตินที่ผลิตได้

3. ควรเปลี่ยนระบบการกรองจากการใช้ผ้าขาวบางเป็น การกรองผ่าน ไดอะตอมมาเซียส เอิร์ท เพื่อให้ได้เจลาตินที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น

4. หากจะนำผลการทดลองที่ได้ไปผลิตในเชิงการค้า ควรมีการฟอกสีและPurify เจลาตินที่ได้ก่อน เพื่อให้เจลาตินที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้น และลักษณะปรากฏเป็นที่ยอมรับ

เอกสารอ้างอิง

- กองนโยบายและแผนพัฒนาการเกษตร. 2534. แนวทางพัฒนาการผลิตและการตลาดไก่เนื้อ. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ปนิดา ประวิตรวงศ์ และ วนิดา ปลาทอง . 2535. การศึกษาสภาวะเบื้องต้นที่เหมาะสมในการผลิตเจลาตินจากกระดูกปลาฉลาม. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพ.ล
- ชิดชม วิทวัสวงศ์,มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด, สมชาญ เลิศปัณณะพงศ์ และ สมยศ จรรยาวิลาศ. 2535. การผลิตเจลาตินจากหนังหมู. วารสารอาหาร 22(1) : 7-17. ฉบับที่ 1 ม.ค.- มี.ค. 2535 : หน้า 7-16
- หนังสือพิมพ์กรุงเทพธุรกิจ. 2535 . เจลาติน : ผลิตภัณฑ์จากกระดูกวัตถุดิบของอุตสาหกรรมหลากหลาย ส่องธุรกิจน่าลงทุน. 13 มกราคม. หน้า 26-27.
- AOAC. 1984. Official Methods of analysis. 14 th ed. The Association of Official Analytical Chemists . Arlington, Virginia . 1141p.
- Hinterwaldner,R. 1977. Raw Material. pp.259-314. In Ward, A.G. and A.Courts.The Science and Technology of Gelatin,New York.
- Kijowski, J., A.A. Niewiarowicz, M. Laskowska and M. Matuszak. 1985. Use of protein extract from bone residue in poultry meat processing. J. Food Tecnol. 20(1) : 51-56
- Schwarzkopf,M. German P.751,071: Treatment and Extaction from Bones to Gelatin and Glue
- Ward,A.T. and A. Courts. (eds.). The Science and Technology of Gelatin. Academic Press.

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์โปรตีนโดยใช้ kjeldahl method (AOAC 1984 - 2.057)

สารเคมี

1.กรดซัลฟุริก(Conc. H_2SO_4 93-98 % reagent grade)

2.กรดบอริก(H_3BO_3 2 %)

3.กรดซัลฟุริก 0.1 N.

4.โซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 %

5.คาตาลิสต์ (catalyst)

ซิลิเนียมไดออกไซด์ (SeO_2)

โปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)

คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 . 5 H_2O$)

ชั่งซิลิเนียมไดออกไซด์ 2.5 กรัม โปตัสเซียมซัลเฟต 100 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต 20 กรัม ผสมให้เข้ากันอย่างดี

6.Mixed indicator

6.1 เตรียม 0.1 Bromocresol green (ใน 95 %แอลกอฮอล์) และ 0.1 % Methyl red (ใน 95 % แอลกอฮอล์)

6.2 ผสม 1 มิลลิลิตร Bromocresol green กับ 2 มิลลิลิตร. metthyl red ในขวดหยดสารละลายดังกล่าว 4 หยด มีปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

วิธีการ

1.ชั่ง ตัวอย่างอาหาร 1 กรัม (ถ้าเป็นอาหารที่มีโปรตีนต่ำ เช่น ผลไม้ ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ผัก 3 กรัม เป็นต้น) ใส่ลงใน Kjeldahl flash ขนาด 250 มิลลิลิตร อย่าให้ตัวอย่างเกาะตามคอขวด

2.เติมคะตะลิส 2 กรัม และกรดซัลฟุริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

3.นำ Kjeldahl flask ไปตั้งบนชุดเครื่องย่อยโปรตีนที่มีระบบดูดไอกรดที่ดี ใช้เครื่องย่อยโปรตีน Buchi 425 ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จนกระทั่งสารละลายมีสีฟ้าใส

4.ปล่อยให้สารละลายสีฟ้าอ่อนเย็น และหมดควันของไอกรด

5.ปล่อยให้สารละลายกรดบอริก 2 เปอร์เซนต์ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตรที่แห้งสะอาด หยด indicator 4 หยด เขย่าสารละลายก่อนนำไปวางใต้เครื่องกลั่นให้ปลายคอนเดนเซอร์จุ่มลงในตัวสารละลาย นำ Kjeldahl flask ที่ได้จากข้อ 4 ตั้งบนชุดเครื่องกลั่นโปรตีน Buchi 321 เปิดเครื่องเติมน้ำกลั่นลงไปจนปริมาตรสารละลายได้ถึง 100 มิลลิลิตร เติม 40 เปอร์เซนต์ NaOH ลงไปทำปฏิกิริยาจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีดำ กลั่นโปรตีนเป็นเวลานาน 3 นาที

6.เมื่อกลั่นโปรตีนครบเวลาลดระดับของ Erlenmeyor flask ให้ปลายคอนเดนเซอร์ด้วยน้ำกลั่น รอให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไป ประมาณ 1-2 นาที ก่อนนำไปไตเตรตกับสารละลายกรดซัลฟุริก 0.1 N.จนสีน้ำเงินเปลี่ยนไปเป็นไม่มีสี

7.ทำการทดลองกับ Blank เหมือนกับ ตัวอย่างทุกประการ

<u>การคำนวณ</u>

$$\text{เปอร์เซนต์โปรตีน (crude protein)} = \frac{[6.25 \times 1.4 \times C \times (A-B)]}{\text{น้ำหนัก ตัวอย่าง}}$$

เมื่อ A = มิลลิลิตรของสารละลายกรดซัลฟุริกที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง

B = มิลลิลิตรของสารละลายกรดซัลฟุริกที่ใช้ไตเตรต Blank

C = นอร์มอลของสารละลายกรดซัลฟุริก

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ความชื้น

การวิเคราะห์ความชื้นโดยใช้วิธีของ AOAC (1984)

<u>วิธีการ</u>

1.อบ aluminium can ที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน dessicator

2.ชั่งตัวอย่างอาหารน้ำหนักแน่นอนประมาณ 5 กรัม ลงใน aluminium can จากข้อ 1 นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน dessicator

3.ชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณความชื้นจากน้ำหนักที่หายไป คิดเป็นร้อยละ

ภาคผนวก ค

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยวิธีของ Galatin Manufactures Institute of American Inc.

วิธีการ

1. เตรียมสารละลายเจลาตินเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก ในน้ำกลั่น

2. วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายด้วยเครื่องวัด pH (pH-meter) ที่ 25 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

วิธีการ

1.ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งแล้ว 5- 10 กรัม ใน thimble ปิดด้านบนของตัวอย่างด้วยสำลี หรือ กระดาษกรองป้องกันการฟุ้งกระจายของตัวอย่าง

2.บรรจุ thimble ในชุดสกัดไขมัน soxhlet โดย thimble อยู่ใน extraction tube ซึ่งด้านบนต่อกับ condenser ส่วนด้านล่าง ต่อกับ round-bottom Flask ชนิด 2 หรือ 3 คอ

3.ตวง anhydrous ether 150 ml. ในขวดแก้วก้นกลม ต่อสายยางนำน้ำเข้า-ออก จาก condenser ก่อนเปิดสวิสช์ ของเตา heating mantle ปรับระดับความร้อนอย่างเหมาะสม เช่น 150 หยดต่อนาที เพื่อให้ไอของ anhydrous ether ควบแน่นหยดน้ำลงบนตัวอย่างต่อเนื่อง นาน 16 ชั่วโมง

4.แยก anhydrous ether ออกด้วย vacuum evaporator นำส่วนของไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที นำไปทำให้เย็นใน desicator ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักของ crude fat

5.คำนวณเปอร์เซนต์ไขมัน = $\frac{\text{น.น.บีกเกอร์และไขมัน - น.น.บีกเกอร์}}{\text{น.น.ตัวอย่างแห้ง}} \times 100$

ข้อแนะนำ

นิยมใช้ anhydrous ethyl ether หรือ petroleum ether (จุดเดือด 35 องศาเซลเซียส) ในการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างอาหาร petroleum ether มีราคาถูก ส่วน diethyl ether ควรเลือกชนิด anhydrous ทั้งนี้เนื่องจากถ้ามีน้ำปะปน จะสามารถละลายน้ำตาลและสารประกอบอื่น

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณเถ้าที่หลงเหลือภายหลังการกำจัดแร่ธาตุ

ตารางภาคผนวกที่ จ.1. การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณเถ้าที่หลงเหลือภายหลังกำจัดแร่ธาตุที่ระดับความเข้มข้น และ เวลาต่างๆกัน

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
BETWEEN TREATMENT	2	181.61	90.94	256.14 *	6.94
WITHIN TREATMENT	2	0.31	0.15	0.42 ns	6.94
ERROR	4	1.42	0.35		
TOTAL	8	183.60			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ.2. การวิเคราะห์ทางสถิติของ ค่าความแข็งแรงของเจล ภายหลังกำจัดแร่ธาตุ ที่ระดับความเข้มข้น และ เวลาต่างๆกัน

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
ACID	2	0.47	0.23	7.44*	4.26
TIME	2	21.34	10.67	338.55*	4.26
ACID*TIME	4	1.48	0.37	11.71*	3.63
ERROR	9	0.28	0.03		
TOTAL	17	23.57			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ.3. การวิเคราะห์ทางสถิติของ yield ภายหลังกำจัดแร่ธาตุที่ระดับความเข้มข้น และ เวลาต่างๆกัน

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
ACID	2	12.83	6.41	3.10^{ns}	4.26
TIME	2	255.82	127.90	61.80*	4.26
ACID*TIME	4	432.99	108.25	52.30*	3.63
ERROR	9	18.63	2.07		
TOTAL	17	720.27			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ.4. การวิเคราะห์ทางสถิติของ ความแข็งแรงของเจล ภายหลังผ่านการเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่ระดับความเข้มข้นและ เวลาต่างๆกัน

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
ACID	2	0.65	0.32	27.03*	4.26
TIME	2	1.27	0.63	53.18*	4.26
ACID*TIME	4	0.77	0.19	16.04*	3.63
ERROR	9	0.11	0.01		
TOTAL	17	2.81			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ.5. การวิเคราะห์ทางสถิติของ yield ภายหลังผ่านการเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆกัน

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
ACID	2	2.60	1.30	0.48^{ns}	4.26
TIME	2	212.163	106.08	38.66*	4.26
ACID*TIME	4	386.44	96.61	35.21*	3.63
ERROR	9	24.69	2.74		
TOTAL	17	625.91			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ.6. การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความแข็งแรงของเจล ภายหลังผ่านการเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดฟอสฟอริก ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆกัน

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
ACID	2	8.62	4.31	4.35	4.26
TIME	2	17.56	8.78	8.85	4.26
ACID*TIME	4	9.54	2.38	2.40	3.63
ERROR	9	8.94	0.99		
TOTAL	17	44.66			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ.7. การวิเคราะห์ทางสถิติของ yield ภายหลังผ่านการเตรียมการก่อนการสกัดด้วยกรดฟอสฟอริก ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างๆกัน

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
ACID	2	547.04	273.52	118.96*	4.26
TIME	2	63.41	31.70	13.79*	4.26
ACID*TIME	4	134.07	33.52	14.58*	3.63
ERROR	9	20.69	2.29		
TOTAL	17	765.22			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ.8. การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความแข็งแรงของเจล ภายหลังผ่านการสกัด ที่อุณหภูมิ 55 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 5 และ 7 ชั่วโมง ตามลำดับ

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
TEMP	1	1.68	1.68	70.63*	5.99
TIME	2	0.59	0.29	12.48*	5.14
TEMP*TIME	2	2.81	1.41	59.09*	5.14
ERROR	6	0.14	0.02		
TOTAL	11	5.24			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ.9. การวิเคราะห์ทางสถิติของ yield ภายหลังผ่านการสกัด ที่อุณหภูมิ 55 และ 75 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 5 และ 7 ชั่วโมง ตามลำดับ

ANOVA

SOV	df	SS	MS	F-cal	$F_{0.05}$
TEMP	1	111.89	111.89	15.80*	5.99
TIME	2	91.94	45.97	6.49*	5.14
TEMP*TIME	2	21.54	10.77	1.52ns	5.14
ERROR	6	42.50	7.08		
TOTAL	11	257.88			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วิธีการ

1.ล้าง crusible แล้วเผาในเตาเผานาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน desicator ก่อนนำมาชั่ง

2.ชั่งตัวอย่างอาหารแห้ง 5 กรัม ใส่ใน crusible

3.หยดน้ำมันมะกอก 2-3 หยด

4.เผาตัวอย่างด้วย hot plate จนเผาไหม้หมด (completely carbonized) จึงนำ crusible ไปเผาต่อใน muffle furnace อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว ทิ้งให้เย็นใน desicator ก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก

5.คำนวณ

$$\text{เปอร์เซนต์เถ้า} = \frac{(\text{น.น.crusible} + \text{อาหาร หลังเผา}) - \text{น.น.crusible}}{\text{น.น.อาหารเริ่มต้น}} \times 100$$

ภาคผนวก ช

การวัดความแข็งแรงของเจล

การวัดความแข็งแรงของเจลโดยใช้เครื่อง KMITL Food Texture Measuring Instrument

วิธีการ

1. นำน้ำสกัดเจลาตินที่กรองได้ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแข็งตัว

2. ดันคันโยกให้ระบบไฮโดรลิกทำงาน หัวกดซึ่งต่อกับ load cell ของเครื่อง KMITL Food Texture Measuring Instrument จะถูกปล่อยให้เคลื่อนที่ลงมาด้วยความเร็ว 12 เซนติเมตรต่อวินาที กดผ่านเจลาตินจนถึงระยะห่างจากฐานนิมม์ประมาณ 1 มิลลิเมตร

3. ค่าความแข็งแรงของเจลจะปรากฏเป็นเส้นกราฟที่จอคอมพิวเตอร์

4. อ่านค่าความแข็งแรงของเจลจากจุดสูงสุดของกราฟ

ประวัติผู้เขียน

นางสาว อิษยา ภูธนกิจ เกิดวันที่ 15 มิถุนายน 2515 ณ จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมปลายจากโรงเรียน อัสสัมชัญคอนแวนต์ และเข้ารับการศึกษาต่อระดับปริญญาตรีที่ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นางสาว อุดมลักษณ์ ภักดีภิญโญ เกิดวันที่ 19 มกราคม 2516 ณ จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมปลายจากโรงเรียน ดรุณพิทยา และเข้ารับการศึกษาต่อระดับปริญญาตรีที่ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง