



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)
ปริญญา

ผลิตภัณฑ์ประมง

สาขา

ผลิตภัณฑ์ประมง

ภาควิชา

เรื่อง การผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

Production of Gelatin from Tuna Press Water

นามผู้วิจัย นางสาวนัฏฐา กเชนทร์ภักดี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วันชัย วรวัฒน์เมธิกุล, Ph.D.)

กรรมการ

(อาจารย์จันทา มุกดาสนิท, Ph.D.)

กรรมการ

(อาจารย์ยรรณิ จิรภักย์กุล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วันชัย วรวัฒน์เมธิกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 23 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2549

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

Production of Gelatin from Tuna Press Water

โดย

นางสาวนัฐฐา กเชนทร์ภักดี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง)

พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1247-8

นัฏฐา คเชนทร์ภักดี 2549: การผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า ปริญญาวิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต (ผลิตภัณฑ์ประมง) สาขาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง
ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วันชัย วรวัฒนเมธิกุล, Ph.D. 105 หน้า
ISBN 974-16-1247-8

การศึกษาเพื่อหาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมในแต่ละขั้นตอนของการผลิตเจลาตินจากน้ำ
บีบปลาทูน่า โดยทำการทดลอง 4 ขั้นตอนคือ (1) ขั้นตอนการตกตะกอนโปรตีนที่แขวนลอยอยู่ใน
น้ำบีบปลาทูน่า จากการศึกษาระดับของพีเอชและระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีน
พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การปรับพีเอชของน้ำบีบปลาทูน่าให้อยู่ในระดับพีเอชเท่ากับ 1.0 เป็น
ระยะเวลา 30 นาที สามารถตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำบีบปลาทูน่าได้มากที่สุด (2) ขั้นตอน
การตกตะกอนเจลาตินด้วยแคลป์คาราจีแนน โดยศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเจลาติน
และแคลป์คาราจีแนน อุณหภูมิ ระดับพีเอช และค่า Ionic strength ที่เหมาะสมในการตกตะกอน
เจลาติน จากการทดลองพบว่า อัตราส่วนในการตกตะกอนเจลาตินที่เหมาะสมระหว่างเจลาติน
และแคลป์คาราจีแนน คือ 3:1 อุณหภูมิเท่ากับ 0 องศาเซลเซียส ระดับพีเอชเท่ากับ 1.0 และ ค่า
Ionic strength เท่ากับ 0 (3) ขั้นตอนการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตกตะกอนเจลาติน
ระหว่างแคลป์คาราจีแนน (Lab grade) และแคลป์คาราจีแนน (Food grade) จากการทดลอง
พบว่า แคลป์คาราจีแนนทั้ง 2 ประเภทให้ผลในการตกตะกอนเจลาตินไม่แตกต่างกัน (4) ขั้นตอน
การทำเจลาตินให้แห้งและทดสอบคุณสมบัติของเจลาติน โดยการศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาที่
เหมาะสมในการทำแห้ง พบว่า การอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา
2 ชั่วโมง ให้คุณสมบัติของเจลาตินดีที่สุด โดยมีค่าความแข็งแรงของเจล 987.40 g.cm^{-2} ความหนืด
13.27 cP. ความชื้นร้อยละ 11.44 เถ้าร้อยละ 0.45 ให้ค่าพีเอช 5.87 จากการทดสอบทางด้าน
ประสาทสัมผัสโดยนำเจลาตินที่ผลิตได้จากน้ำบีบปลาทูน่ามาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่ พบว่า ผู้
ทดสอบให้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี และลักษณะเนื้อสัมผัส
อยู่ในระดับชอบปานกลาง ส่วนคุณลักษณะด้านกลิ่น รสชาติและความชอบรวมอยู่ในระดับชอบ
เล็กน้อย

Natta Kachenpukdee 2006: Production of Gelatin from Tuna Press Water. Master of Science (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Assistant Professor Wanchai Worawattanamateekul, Ph.D. 105 pages.
ISBN 974-16-1247-8

The objectives of this study were to find out optimal conditions of gelatin production from Tuna Press Water. There were 4 steps in the experiment. The first step was protein precipitation from Tuna Press Water. Study on the optimum of pH and the time for protein precipitation. It was found that, the maximal yield of precipitated protein could be achieved by pH 2.0 for 30 minutes. The second step is precipitation of gelatin from Tuna Press Water using Kappa carrageenan. Study on the optimal weight ratio between gelatin and Kappa carrageenan, temperature, pH and Ionic strength for precipitation of gelatin. It was found that, the maximal yield of precipitated gelatin could be achieved by a weight ratio collagen:Kappa carrageenan of 3:1 at 0°C, pH 1.0 and Ionic strength 0. The third step is compared affect of Kappa carrageenan (Lab grade) and Kappa carrageenan (Food grade). It was found that comparision of 2 types Kappa carrageenan on precipitated of the gelatin showed no differences precipitated. The final step is drying and quality testing. It was found that, the optimum condition for drying of gelatin were at 50°C for 2 hours in hot air oven. The properties of gelatin from Tuna Press Water were 987.40 g.cm⁻² of gel strength, 13.27 cP. viscosity, 11.44% moisture content, 0.45% ash and pH 5.87. Sensory evaluation of jelly production from the Tuna Press Water indicated that the jelly was moderate like in appearance, color and texture but less like in odor, taste and overall.

Natta Kachenpukdee.

Student's signature

Wanchai Worawattanamateekul

Thesis Advisor's signature

20 / 3 / 06

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. วันชัย วรวัฒน์เมธิกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษา เสนอแนะแนวทางในการทำวิจัย และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ ดร. จุฬา มุกดาสนิท กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ดร. วรณิ จิรภาคย์กุล กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง และ อาจารย์ เสาวณีย์ เลิศวรสิริกุล ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณโรงงาน ที.ซี. ยูเนี่ยน อโกรเทค จำกัด ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์วัสดุดิบ ขอขอบคุณ ภาควิชาคหกรรม คณะเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องวัดความแข็งแรงของเจล เครื่องวัดความหนืด และเครื่องวิเคราะห์ไขมัน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงทุกท่านที่กรุณาอำนวยความสะดวกด้านสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย ขอขอบคุณนิสิตปริญญาโท ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมงทุกท่านโดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณแคทริยา สะเดย์ คุณจรรยา ไฟทอง คุณเปรมวดี เทพวงศ์ คุณศศิธร ปุรินทรทิบาล คุณธนวัฒน์ ชนะวรร โณ คุณศิริพร สงด้วงและคุณสวรรยา สิทธิโอสถ ที่ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติงานและเป็นกำลังใจจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณแม่สุพรรณิ โพธิ์ทอง คุณพ่อเสรี กชนทร์ภักดี และญาติพี่น้องของข้าพเจ้าทุกคนที่เป็นกำลังใจและคอยให้การสนับสนุนข้าพเจ้าด้วยดีมาโดยตลอด

นัฏฐา กชนทร์ภักดี

ธันวาคม 2548

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	22
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
สรุป	68
ข้อเสนอแนะ	69
เอกสารและสื่ออ้างอิง	70
ภาคผนวก	75
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมี	76
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไฮดรอกซีโปรตีน	82
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	88
ภาคผนวก ง วิธีวิเคราะห์คุณภาพเจลลาติน	92
ภาคผนวก จ แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส	95
ภาคผนวก ฉ ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ	97
ภาคผนวก ช ภาพเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า	104

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 มูลค่าการส่งออกปลาป่นและน้ำมันปลาของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2544-2548	4
2 สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำบีบปลาทูน่า	32
3 สมบัติทางจุลชีววิทยาของน้ำบีบปลาทูน่า	33
4 คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน่าที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีน ที่ pH 1-5	35
5 คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน่าที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีน ที่ pH 0.2-2.0	39
6 คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน่าที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีน ที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน	43
7 อัตราส่วนของเจลาตินและแคลป์คาราจีแนนที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน	47
8 ผลของ pH ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน	50
9 ผลของค่า ionic strength ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน	52
10 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน	55
11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตกตะกอนเจลาตินระหว่างแคลป์คาราจีแนน (Lab grade) และแคลป์คาราจีแนน (Food grade)	57
12 คุณสมบัติของเจลาตินหลังการอบแห้ง	59
13 การเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า กระดุกปลากะพงแดง และเจลาตินทางการค้า	60
14 สมบัติทางเคมีกายภาพของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า	62
15 สมบัติทางจุลชีววิทยาของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า	63
16 ค่าเฉลี่ยคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เซลล์ สำเร็จรูป เยลลี่จากเจลาตินทางการค้า และเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า	65

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ฉ1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติของน้ำบึงปลาทุ่นาที่ผ่าน การตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1-5	98
ฉ2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติของน้ำบึงปลาทุ่นาที่ผ่าน การตกตะกอนโปรตีนที่ pH 0.2-2.0	99
ฉ3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติของน้ำบึงที่ผ่านการ ตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน	100
ฉ4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของอัตราส่วนของเจลาตินและ แคลปคาร์จีแนน ที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน	100
ฉ5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติผลของ pH ต่อปริมาณการ ตกตะกอนของเจลาติน	101
ฉ6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติผลของค่า ionic strength ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน	101
ฉ7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติผลของอุณหภูมิต่อปริมาณ การตกตะกอนของเจลาติน	101
ฉ8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติคุณสมบัติของเจลาตินหลังการอบแห้ง	102
ฉ9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการทดสอบทางประสาทสัมผัสของ ผลิตภัณฑ์เยลลี่สำเร็จรูป เยลลี่ที่ทำจากเจลาตินทางการค้าและเจลาตินจาก น้ำบึงปลาทุ่นา	103

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กระบวนการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลา	5
2	การเปลี่ยนคอเลสเตอรอลไปเป็นเจลาติน	8
3	ลักษณะ โครงสร้างของแคปซูลการาจีนแน	12
4	ลักษณะ โครงสร้างของไอ โอตาการาจีนแน	12
5	ลักษณะ โครงสร้างของแลมดาคาราจีนแน	13
6	การสานตัวกันเพื่อให้เกิดเจล	15
7	ขั้นตอนกลไกการเกิดเจล	17
8	กระบวนการผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน้า	25
9	ปริมาณ โปรตีนของน้ำบีบปลาทูน้าหลังการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1-5	38
10	ค่าความแข็งแรงของเจลของน้ำบีบปลาทูน้าหลังการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1-5	38
11	ค่าสี ($L^* a^* b^*$) ของน้ำบีบปลาทูน้าหลังการตกตะกอนที่ pH 1-5	38
12	ปริมาณ โปรตีนของน้ำบีบปลาทูน้าหลังการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 0.2-2.0	42
13	ค่าความแข็งแรงของเจลของน้ำบีบปลาทูน้าหลังการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 0.2-2.0	42
14	ค่าสี ($L^* a^* b^*$) ของน้ำบีบปลาทูน้าหลังการตกตะกอนที่ pH 0.2-2.0	42
15	ปริมาณ โปรตีนของน้ำบีบปลาทูน้าที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน	45
16	ค่าความแข็งแรงของเจลของน้ำบีบปลาทูน้าที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน	45
17	ค่าสี ($L^* a^* b^*$) ของน้ำบีบปลาทูน้าที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน	45
18	อัตราส่วนของเจลาตินและแคปซูลการาจีนแนที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน	49
19	ผลของ pH ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน	51
20	ผลของค่า ionic strength ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน	54
21	ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน	56

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตกตะกอนเจลาตินระหว่าง แคปซูลการจีแนน (Lab grade) และแคปซูลการจีแนน (Food grade)	58
ภาพผนวกที่		
ช 1	ภาพเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า	105

การผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

Production of Gelatin from Tuna Press Water

คำนำ

การผลิตปลาป่นและน้ำมันปลาเป็นอุตสาหกรรมที่สำคัญของประเทศไทย มีแนวโน้มการส่งออกเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยในปี พ.ศ. 2547 มีการส่งออกปลาป่นคิดเป็นมูลค่า 501 ล้านบาทและมีการส่งออกน้ำมันปลาคิดเป็นมูลค่า 53 ล้านบาท เมื่อเปรียบเทียบกับการส่งออกในปี พ.ศ. 2548 มีการส่งออกปลาป่นคิดเป็นมูลค่า 740 ล้านบาทและมีการส่งออกน้ำมันปลาคิดเป็นมูลค่า 86 ล้านบาท ดังนั้นจากสถิติดังกล่าวจะเห็นได้ว่าประเทศไทยมีแนวโน้มการส่งออกปลาป่นและน้ำมันปลามากขึ้น (กรมศุลกากร, 2549) ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลาส่วนใหญ่จะเป็นวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปอาหารทะเล ซึ่งได้แก่ หัวปลา เครื่องใน กระดุก และเศษเนื้อปลา ซึ่งในกระบวนการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลานั้นจะต้องมีการให้ความร้อนแก่วัตถุดิบเพื่อให้ไขมันบริเวณกึ่งกลางตัวปลาสูงกว่า 85 องศาเซลเซียส เพื่อให้สามารถแยกส่วนของเหลวออกจากวัตถุดิบได้ง่าย หลังจากนั้นจะบีบด้วย screw press เพื่อบีบของเหลวออกจากเนื้อปลา โดยส่วนของกากที่เป็นเนื้อปลาก็จะนำไปผ่านกระบวนการผลิตเพื่อทำปลาป่นต่อไป และในส่วนหนึ่งของเหลวจะมีทั้งส่วนที่เป็นน้ำและน้ำมัน ซึ่งในส่วนของน้ำ นับว่าเป็นส่วนที่มีปริมาณของโปรตีนและเจลาตินอยู่ เนื่องจากในขั้นตอนของการให้ความร้อนแก่ปลานั้น ความร้อนดังกล่าวจะทำให้คอลลาเจนในเนื้อเยื่อและกระดูกปลาเปลี่ยนเป็นเจลาตินละลายได้ในน้ำ

ปัจจุบันของเหลวที่เป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลา ยังไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์เท่าที่ควร โดยวิธีการเดิมในการกำจัดวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปดังกล่าวมักจะนำไปทิ้ง มีจำนวนน้อยมากที่นำมาใช้ประโยชน์ต่อ ซึ่งเป็นการสูญเสียสิ่งที่ดีควรนำมาใช้ประโยชน์ได้ ทั้งยังเป็นการเพิ่มต้นทุนในแง่แรงงานและพลังงาน เนื่องจากต้องเสียค่าใช้จ่ายในการขนส่งเพื่อนำเศษเหลื่อดังกล่าวไปทิ้ง นอกจากนี้ยังเป็นการสร้างปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ดังนั้นในปัจจุบันด้วยปัญหาทางเศรษฐกิจและปัญหาด้านมลภาวะ รวมทั้งมีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับการนำวัสดุเศษเหลื่อดังกล่าวมาใช้ประโยชน์มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงเป็นการกระตุ้นให้มีการค้นคว้าเพิ่มเติมถึงแนวทางในการนำวัสดุเศษเหลื่อดังกล่าวมาใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

ดังนั้นจากสาเหตุดังกล่าวจึงเป็นเหตุจูงใจให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาการผลิตเจลตินจากน้ำบีบปลาทูน่า ซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลาทูน่า เพื่อเป็นแนวทางหรือทางเลือกหนึ่งในการนำวัสดุเศษเหลือมาใช้ประโยชน์เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดแก่ผู้ผลิตรวมทั้งยังสามารถลดปัญหามลภาวะได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเจลตินจากน้ำบีบปลาทูน่า
2. เพื่อศึกษาคูณสมบัติทางเคมีกายภาพ จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของเจลตินที่ได้

การตรวจเอกสาร

เจลาติน

เจลาติน (gelatin) มาจากภาษาลาตินว่า *gelata* หมายถึง ลักษณะที่แข็งตัว เย็นแล้วแข็ง หรือ ลักษณะที่เหนียวเหนียว (ณรงค์, 2538)

เจลาตินมีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้เกิดเจลหรือความเหนียว ส่วนใหญ่ผลิตจากผลพลอยได้ของสัตว์ที่มีราคาถูกวัตถุดิบที่นิยมนำมาผลิตมากที่สุดคือ เอ็น หนังหรือกระดูกของโค กระบือ และสุกรเพราะให้เจลาตินที่มีคุณสมบัติที่ดีเนื่องจากเป็นแหล่งของคอลลาเจน (collagen) ส่วนวัตถุดิบจากปลาพบว่าจะนำมาผลิตเจลาตินน้อยเนื่องจากเจลาตินที่ได้มีคุณภาพต่ำ (Ward, 1977) แต่ถึงแม้ว่าเจลาตินที่ผลิตจาก โค กระบือและสุกรจะมีคุณสมบัติที่ดี แต่ก็มีข้อจำกัดในการบริโภคต่อผู้บริโภคบางกลุ่มเช่น ชาวมุสลิมที่ไม่สามารถบริโภคได้เพราะขัดกับหลักศาสนาดังนั้นการผลิตเจลาตินจากปลาจึงเป็นทางเลือกที่ดีในการแก้ปัญหาดังกล่าว ในแต่ละปีการใช้เจลาตินมีแนวโน้มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยทั่วโลกมีการใช้เจลาตินสูงถึง 200,000 ตันต่อปี โดยเฉพาะด้านอุตสาหกรรมอาหารเป็นตลาดใหญ่ที่สุดของเจลาติน โดยมีประมาณ 30,000 ตันต่อปี ซึ่งใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารชนิดต่างๆ เช่น ขนมหวาน ไอศกรีม โยเกิร์ต เป็นต้น รองลงมาคืออุตสาหกรรมด้านการผลิตยา ประมาณ 10,000 ตันต่อปี โดยนำไปผลิตแคปซูลหรืออาจนำไปใช้ในอุตสาหกรรมถ่ายภาพโดยใช้เคลือบแผ่นฟิล์มถ่ายรูป และใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ และยังแพร่หลายไปยังกลุ่มที่นิยมบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ (Yoshimaru *et al.*, 2000)

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรอุตสาหกรรมที่มีผลผลิตทางการเกษตรเป็นเป็นวัตถุดิบหลักในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของสัตว์น้ำ ในส่วนของอุตสาหกรรมการส่งออกปลาน้ำจืดและน้ำมันปลาน้ำจืดพบว่าในปี พ.ศ. 2547 มีการส่งออกปลาน้ำจืดเป็นมูลค่า 501 ล้านบาทและมีการส่งออกน้ำมันปลาน้ำจืดเป็นมูลค่า 53 ล้านบาท ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับส่งออกในปี พ.ศ. 2548 มีการส่งออกปลาน้ำจืดเป็นมูลค่ากว่า 740 ล้านบาทและมีการส่งออกน้ำมันปลาน้ำจืดเป็นมูลค่า 86 ล้านบาท ดังนั้นจากสถิติดังกล่าวจะเห็นได้ว่าประเทศไทยมีแนวโน้มการส่งออกปลาน้ำจืดและน้ำมันปลามากขึ้น (กรมศุลกากร, 2549)

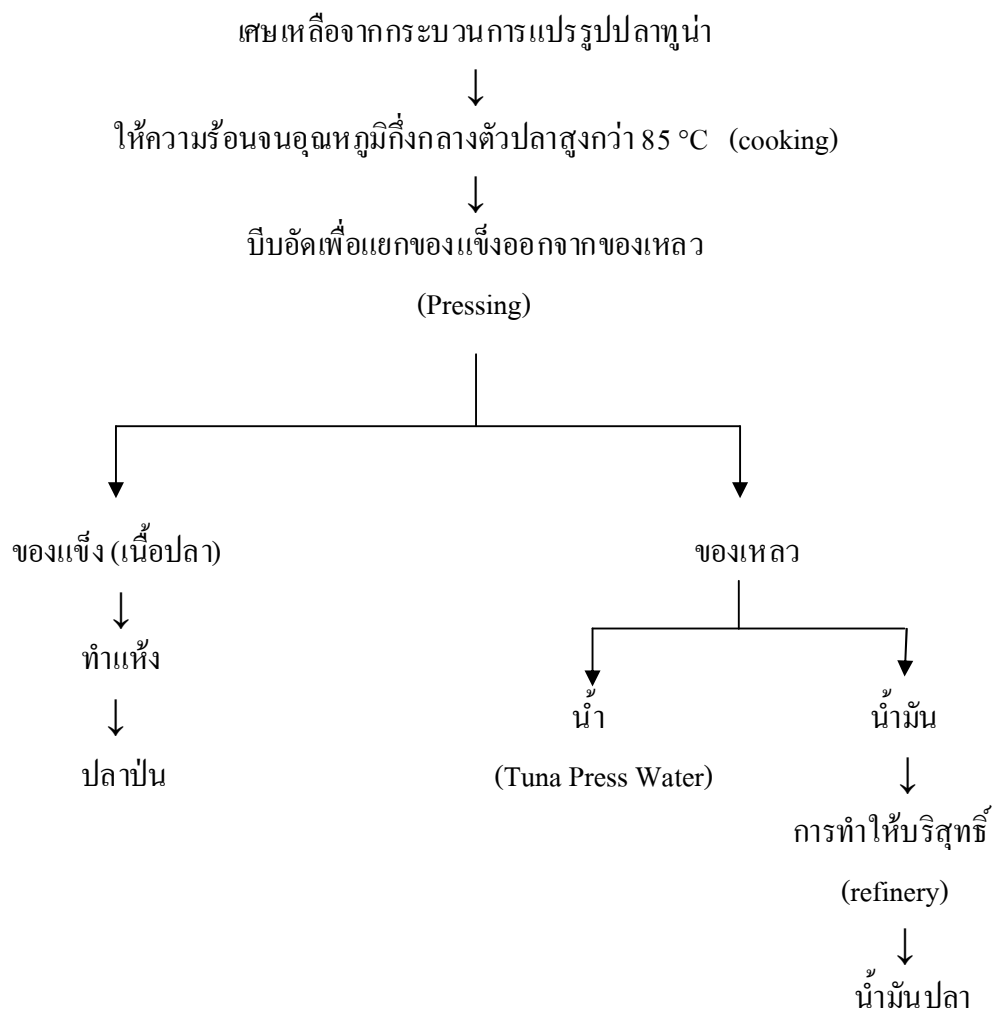
ตารางที่ 1 มูลค่าการส่งออกปลาป่นและน้ำมันปลาของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2544-2548

พ.ศ.	ปลาป่น (ล้านบาท)	น้ำมันปลา (ล้านบาท)
2544	178,419,034	22,417,125
2545	477,157,093	38,230,234
2546	252,980,245	64,198,688
2547	501,843,118	53,768,934
2548	740,312,071	86,317,191

ที่มา : กรมศุลกากร (2549)

โดยน้ำบีบปลาทუნ่าซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปปลาป่นและน้ำมันปลาทუნ่านั้น นับว่าเป็นส่วนที่มีปริมาณของ โปรตีนและเจลาตินอยู่ เนื่องจากในกระบวนการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลาทუნ่านั้น ขั้นตอนแรกจะเป็นการให้ความร้อนแก่วัตถุดิบ หลังจากนั้นก็จะทำการบีบอัดเพื่อแยกของแข็งออก ส่วนเหลือที่เกิดขึ้นคือ น้ำบีบปลาทუნ่า (Tuna Press Water) ซึ่งเป็นส่วนที่มีปริมาณของโปรตีนและเจลาตินอยู่ เนื่องจากในขั้นตอนการให้ความร้อนแก่ปลานั้นจะนำปลาเข้าไปในหม้อหนึ่งไอน้ำและผ่านไอน้ำเข้าไปเพื่อให้อุณหภูมิถึงกลางตัวปลาสูงกว่า 85 องศาเซลเซียส โดยความร้อนดังกล่าวมีผลทำให้คอลลาเจนในเนื้อเยื่อและกระดูกของปลาเปลี่ยนเป็นเจลาตินซึ่งละลายในน้ำได้ (Ward, 1977)

ดังนั้นการนำเอาเศษเหลือจากการแปรรูปปลาป่นและน้ำมันปลาทუნ่ามาผลิตเป็นเจลาตินนั้น จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่ง ในการเพิ่มมูลค่าของเศษเหลือเหล่านั้นเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด



ภาพที่ 1 กระบวนการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลา

คอลลาเจน

เจลาตินผลิตได้จากแหล่งสารประกอบที่สำคัญคือ คอลลาเจน มาจากภาษากรีก หมายถึง สิ่งที่ทำให้ผลผลิตเป็นเจลาติน หรือกาว คอลลาเจนจัดเป็น โปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble protein) โดยจะไม่ละลายในน้ำเย็น กรดอ่อน ด่างอ่อน แต่สามารถละลายได้ในน้ำร้อน (Moulton, 1984) จัดเป็นโปรตีนประเภทโครงสร้าง (structure protein) ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เช่น หนัง กระดูก เอ็น เขาสัตว์ เป็นต้น โดยจะทำหน้าที่สร้างความแข็งแรง และยึดเหนี่ยวส่วนต่างๆ ไว้ (Devenyi, 1974) คอลลาเจนจะมีอยู่ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ของส่วนที่เป็นอินทรีย์ทั้งหมดในสัตว์ หรือประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมด คอลลาเจนเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีมากที่สุด

ร่างกาย มีลักษณะเป็นเส้นเล็กๆยาวและหยิกหยอง เป็นเส้นเดี่ยวหรือรวมกันหลายเส้นก็ได้ มีสีขาว มีความยืดหยุ่นต่ำ ส่วนประกอบสำคัญของคอลลาเจนคือ ไกลโคโปรตีน และมีปริมาณของน้ำตาลกาแลกโตสและกลูโคสปนอยู่เล็กน้อย และจะมีสีขาวเนื่องจากมีกรดอะมิโนไฮดรอกซีโพรลีนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย (เขาวลัทธิ, 2536) กรดอะมิโนไกลซีนพบว่ามีอยู่ในคอลลาเจนมากที่สุดคือมีประมาณหนึ่งในสามของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (ชัยณรงค์, 2529) คอลลาเจนสามารถพองตัวได้ดีในน้ำที่เป็นกรดหรือด่าง เมื่อได้รับความร้อนคอลลาเจนจะหดตัวเหลือประมาณหนึ่งในสาม และถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นคอลลาเจนจะถูกไฮโดรไลส์ (hydrolyze) ให้เป็นเจลาตินที่สามารถละลายในน้ำได้ (เขาวลัทธิ, 2536) ซึ่งจะเกิดเจลเมื่ออุณหภูมิลดลง ปริมาณการเปลี่ยนเป็นเจลาตินขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (ณรงค์, 2538)

ขั้นตอนการผลิตเจลาติน

กระบวนการผลิตเจลาตินมีอยู่ 4 ขั้นตอนใหญ่ๆคือ

1. เตรียมวัตถุดิบ
2. การสกัด
3. การทำเจลาตินให้แห้ง
4. การทำให้บริสุทธิ์

1. การเตรียมวัตถุดิบ

จุดประสงค์คือ เพื่อเปลี่ยนคอลลาเจนให้อยู่ในรูปที่เหมาะสมต่อการสกัด โดยจะทำให้คอลลาเจนที่มีอยู่ในวัตถุดิบเกิดการพองตัวซึ่งมีอยู่ 2 รูปแบบคือ osmotic และ lyotropic การพองตัวจากกรดหรือด่างเป็นการพองตัวแบบ osmotic ส่วนการพองตัวเนื่องจากน้ำจะเป็นแบบ lyotropic การพองตัวทำให้เส้นใยของคอลลาเจนแยกออกจากกันบางส่วน โดยไปทำลายแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals force) มีผลทำให้คอลลาเจนสามารถเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินได้ง่ายขึ้น การแช่ด่างจะทำให้คอลลาเจนเกิดการไฮโดรไลซิส โดยที่ไม่ทำให้คอลลาเจนเกิดการละลาย แต่ด่างจะทำให้พวกที่ไม่ใช่คอลลาเจน (non-collagen) เช่น keratin globulin mucopolysaccharide elastin และ mucins สามารถละลายและตกตะกอนระหว่างการผลิตได้ นอกจากนี้ด่างจะทำให้ไขมันบางส่วนเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีขี้ซึ่งสามารถกำจัดออกได้โดยการล้างน้ำ (Ockerman, 1988)

การเตรียมวัตถุดิบมีอยู่ 3 วิธีด้วยกันคือ

1.1 Acid process เป็นการเตรียมวัตถุดิบโดยการแช่วัตถุดิบในกรดประมาณ 4 ชั่วโมง กรดที่ใช้มีทั้งกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) กรดซัลฟูริก (H₂SO₄) กรดฟอสฟอริก (H₃PO₄) และกรดอะซิติก (CH₃COOH) ตัวอย่างที่มักเตรียมด้วยวิธีนี้ได้แก่ หนังและกระดูกสุกร เจลาตินที่ได้เรียกว่า เจลาตินชนิดเอ (gelatin type-A)

1.2 Alkaline process เป็นการเตรียมวัตถุดิบโดยการแช่ในด่างประมาณ 4 ชั่วโมง ด่างที่นิยมใช้คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ตัวอย่างที่มักเตรียมโดยวิธีนี้คือ หนังและกระดูกของโคและกระบือ เจลาตินที่ได้เรียกว่า เจลาตินชนิดบี (gelatin type-B)

1.3 Enzymatic process เป็นการใช้อเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนคือ โปรตีเอส (Proteinase) แต่เอนไซม์พวก Collagenase enzyme จะย่อยคอลลาเจนส่วนมากในกระบวนการผลิตจะใช้พวก Proteolytic enzyme เช่น เปปซิน (Pepsin) และ โปรเนส (Pronase) โดยใช้ร่วมกับวิธีการที่ใช้สารเคมีเพื่อลดระยะเวลาในวิธี Acid process

2. การสกัด

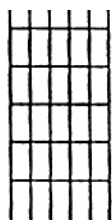
เป็นการเปลี่ยนคอลลาเจนที่ไม่ละลายน้ำให้สามารถละลายน้ำได้เรียกว่าเจลาติน ดังนั้นจะต้องใช้ความร้อนเพื่อให้คอลลาเจนเปลี่ยนสภาพของคอลลาเจนเพื่อเปลี่ยนไปเป็นเจลาตินซึ่งจะเกิด 2 ขั้นตอนดังนี้

2.1 การใช้ความร้อนในระดับต่ำๆจะทำลายพันธะไฮโดรเจนและพันธะไฮโดรโฟบิก ซึ่งพันธะเหล่านี้เป็นพันธะที่ทำให้โครงสร้างที่เป็นเกลียว 3 เส้นของคอลลาเจนเกิดความจัดเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบ โดยเกลียวทั้ง 3 เส้นแยกออกจากกัน ทำให้เกิดการละลายได้เป็น random gelatin

2.2 การใช้ความร้อนที่สูงกว่าขั้นแรก ทำให้เกิดการแตกหักของพันธะโควาเลนต์ (พันธะเปปไทด์ที่ทำหน้าที่เชื่อมกรดอะมิโนในโปรตีน) อย่างน้อย 1 พันธะ ทำให้เกิดการละลายได้เป็นสารเจลาติน (Ward, 1977)

การเปลี่ยนคอลลาเจนไปเป็นเจลาตินแสดงดังสมการ (Moulton, 1984)





เส้นใยคอลลาเจน

เส้นใยคอลลาเจนที่แยกออกจากกัน

สารละลายเจลาติน

ภาพที่ 2 การเปลี่ยนคอลลาเจนไปเป็นเจลาติน

3. การทำเจลาตินให้แห้ง

หลังจากการสกัดเจลาตินได้ในลักษณะที่เป็นเจลาตินแล้วจะนำสารละลายที่ได้มากรอง ส่วนการระเหยน้ำออกใช้เครื่องระเหยน้ำ (evaporator) ทำการระเหยน้ำออกประมาณร้อยละ 50-75 โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส เนื่องจากสารละลายเจลาตินมีความไวต่ออุณหภูมิ (thermosensitive fluid) (Ward, 1977) ดังนั้น อุณหภูมิที่ใช้ต้องต่ำ เนื่องจากจะทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลาตินเพราะความร้อนที่สูงจะไปทำให้พันธะเปปไทด์เกิดการย่อยสลายขึ้นจึงมีผลทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลาตินต่ำ หลังจากการระเหยน้ำออกแล้วก็จะนำเจลาตินที่ได้ไปทำแห้ง ซึ่งเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดได้แก่ freeze dryer เจลาตินที่ได้จะมีคุณภาพที่ดีเนื่องจากไม่มีการทำลายโครงสร้างเนื่องจากความร้อน แต่มีข้อเสียเนื่องจากราคาแพงจึงมีการใช้เครื่องมือชนิดอื่นแทนได้แก่ การทำแห้งแบบอุโมงค์ (drying tunnels) การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying) การอบแห้งแบบสูญญากาศ (vacuum oven) และตู้อบไฟฟ้าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ (hot air oven) ซึ่งการที่จะเลือกใช้เครื่องมือชนิดใดจะต้องมีการควบคุมอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ให้เหมาะสม (Mann, 1962)

4. การทำเจลาตินให้บริสุทธิ์

บางครั้งอาจมีการเติม diatomaceous earth และ activate carbon ลงไปด้วย ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารฟอกสี ทำให้สารละลายที่ได้มีความใสขึ้น โดยใช้ 5 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายเจลาตินที่มีอุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปกรอง การกรองมีส่วนช่วยกำจัดสิ่งแขวนลอยที่ไม่สามารถละลายได้เช่น ไขมัน หรือพวกเส้นใยคอลลาเจนที่ไม่สามารถละลายได้จึงช่วยทำให้เจลาตินใสได้ (Ockerman, 1988)

การตกตะกอนโปรตีน

โปรตีนสามารถละลายอยู่ในน้ำได้เนื่องจาก โมเลกุลของโปรตีนมีส่วนที่ชอบน้ำสามารถเกิดแรงกริยากับน้ำได้ เรียกส่วนนี้ว่า hydrophobic patches สามารถเกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้าเอา โมเลกุลของน้ำมาล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนได้ อีกสาเหตุหนึ่ง คือบน โมเลกุลของโปรตีนมี ประจุไฟฟ้าสุทธิ (electrostatic repulsion) สูงกว่าแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตทำให้โมเลกุลของโปรตีนห่างกันไม่สามารถรวมตัวเข้ามาอยู่ใกล้กันแล้วตกตะกอนลงมาได้ ดังนั้นปัจจัยใดก็ตามที่สามารถเพิ่ม ปฏิกริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยตัวเอง (protein-protein interaction) หรือการลดปฏิกริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนและน้ำ (protein-water interaction) ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนลดลงทำให้โปรตีนตกตะกอนในที่สุด โดยวิธีที่ไม่ทำให้เกิดการเสียสภาพ ได้แก่

1. การตกตะกอนที่จุด ไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric pH)

โปรตีนแต่ละชนิดมีค่า pI ที่ทำให้สมดุลของประจุสุทธิบน โมเลกุลเป็นศูนย์เรียกว่าค่านี้ว่าจุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric Point ; pI) เป็นค่าเฉพาะของโปรตีนแต่ละชนิดเมื่อใดก็ตามที่ปรับค่าพีเอชของสารละลายโปรตีนผสมจนกระทั่งมีค่าเท่ากับค่า pI ของโปรตีนที่ต้องการแยก โปรตีนชนิดนั้นจะรวมตัวกันแล้วตกตะกอนลงมา เนื่องจากบน โมเลกุลของ โปรตีนนั้นมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ จึงไม่มีแรงผลักดันไฟฟ้าสถิตย์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเอง โปรตีนจึงเข้าใกล้กันมากพอที่จะเกิดการรวมตัวกัน (Aggregate) และตกตะกอนลงมา ณ จุดนั้นนี้อาจกล่าวได้ว่าเป็นจุดที่มีค่าการละลายต่ำสุด ในกรณีที่มีการปรับค่าพีเอชมากกว่าค่า pI ประจุสุทธิบนโมเลกุลของเอนไซม์แต่ละ โมเลกุลมีค่าเป็นประจุลบเกิดแรงผลักระหว่างประจุลบทำให้แต่ละ โมเลกุลอยู่ห่างกันมากขึ้นค่าการละลายจึงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ

2. การตกตะกอนโดยใช้เกลือ (Ionic strength หรือ Salt fractionation precipitation)

การตกตะกอนโปรตีนโดยใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูง เรียกวิธีการนี้ว่า Salting Out เป็นการเติมเกลือลงไปในสารละลายโปรตีนผสมเพื่อเพิ่มความแรงของไอออน (ionic strength) ของสารละลายให้สูงขึ้นจนกระทั่งไอออนของเกลือไปแย่งโมเลกุลของน้ำที่ล้อมรอบ โมเลกุลของโปรตีนออกมาแล้วล้อมรอบ โมเลกุลของเกลือเอง เมื่อใดก็ตามที่แรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับน้ำมีค่าเหลือน้อยกว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับ โปรตีนด้วยกัน โปรตีนดังกล่าว

ก็จะจับตัวกันและตกตะกอนลงมาในที่สุด เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า "Salting Out Effect" เกลือที่นิยมใช้มากที่สุด คือ แอมโมเนียมซัลเฟต $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ เนื่องจากเกลือชนิดนี้มีค่าการละลายน้ำสูงมาก และมีค่าสัมประสิทธิ์อุณหภูมิของการละลายค่อนข้างต่ำ (temperature coefficient of solubility) ในช่วงอุณหภูมิ 0-30 องศาเซลเซียส ทำให้ใช้ในการตกตะกอน โปรตีนที่อุณหภูมิต่ำได้โดยไม่เกิดการสลายตัวของโครงสร้างโปรตีนที่สลายตัวได้ง่ายที่อุณหภูมิสูงได้ ส่วนเกลือชนิดอื่นที่นิยมใช้ในการตกตะกอนโปรตีน เช่น โซเดียมคลอไรด์ แมกนีเซียมซัลเฟต โพแทสเซียมซัลเฟต โซเดียมซัลเฟต เป็นต้นโดยเกลือที่มีประจุแบบไดวาเลนต์ (divalent ion) เช่น SO_4^{2-} และไตรวาเลนต์ (trivalent ion) เช่น PO_4^{3-} จะให้ผลในการตกตะกอนได้ดีกว่าพวกที่มีอียอนเดี่ยว (univalent ion)

3. การตกตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลาย (Organic solvent precipitation)

การตกตะกอนด้วยวิธีนี้เกิดจากการที่ตัวทำละลายอินทรีย์จะไปลดค่ากิจกรรมของน้ำ โดยมีผลต่อค่าคงที่ไดอิเล็กตริก (dielectric constant) ของสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายลดลง ทำให้ความสามารถในการเป็นตัวทำละลายของน้ำลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอินทรีย์มากขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดที่แรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนในส่วนของพลังงานไฟฟ้าสถิตยบน โมเลกุลโปรตีนมีแรงกระทำที่สูงกว่าแรงกระทำระหว่างโปรตีนกับน้ำเกิดการเข้ามารวมตัวกันของโมเลกุลโปรตีนตกตะกอนลงมาได้ ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมาก คือ เอทานอล และ อะซิโตน นอกจากนี้ยังมี เมทานอล ไอโซโพรพานอล และ 2-เมธิลออกซีเมทานอล เป็นต้น (Scope, 1994)

การจีแนน (carrageenan)

การจีแนน (carrageenan) เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีแดง เช่น *Chondrus crispus* หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า "Irish moss" โดยโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของการจีแนน เป็นโพลีแซคคาไรด์สายตรงที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วย D- galactose unit และ 3,6- anhydrogalactose (3,6 -AG) ทั้งที่มีและไม่มีหมู่ซัลเฟต เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -(1,3) และ β -(1,4) ไกลโคซิดิก ชนิดของการจีแนนแบ่งตามจำนวนและตำแหน่งของหมู่ซัลเฟตและการเกิด 3,6- anhydro bridge บน galactose unit ลักษณะโครงสร้างของการจีแนนแต่ละชนิดสามารถตรวจหาได้โดยการเปรียบเทียบกับลักษณะอินฟราเรดสเปกตรัม (infrared spectrum) (Carr, 1993)

การจีแนมนี้อยู่ 3 ชนิดใหญ่ๆ ด้วยกัน คือ แคปทาการจีแนมนซึ่งจะให้เจลลักษณะแข็งคงตัว ไอโอตาการจีแนมนให้เจลที่ยืดหยุ่นและแลมดาคการจีแนมนไม่สามารถเกิดเจลได้แต่ใช้เป็นสารให้เนื้อสัมผัส (Giese, 1994)

การจีแนมนทั้ง 3 ชนิด มีโครงสร้างแตกต่างกันไป แคปทาการจีแนมนประกอบด้วย 1,3 linked galactose-4-sulfate unit และ 1,4-linked 3,6-anhydro-D-galactose unit และมี ester sulfate ประมาณร้อยละ 25 การให้ความร้อนแก่แคปทาการจีแนมนในสถานะที่เป็นผง จะเกิดการกำจัดหมู่ซัลเฟตและเกิด 3,6 anhydro unit เพิ่มขึ้นเป็นผลให้ได้เจลที่แข็งแรงขึ้น

ไอโอตาการจีแนมนประกอบด้วย 1,3 linked galactose-4-sulfate unit และ 1,4-linked 3,6-anhydro-D-galactose 2sulfate มี ester sulfate ประมาณร้อยละ 32 และ 3,6 anhydro group ประมาณร้อยละ 30 ปริมาณซัลเฟตสามารถถูกกำจัดออกได้โดยการ ใช้ด่างซึ่งจะทำให้ได้ 3,6-anhydro group เพิ่มขึ้น จึงสามารถเกิดเจลได้

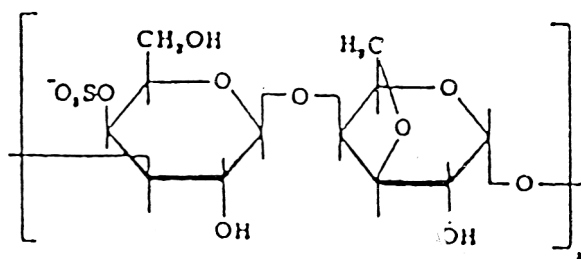
แลมดาคการจีแนมนประกอบด้วย 1,4-linked galactose 2,6-disulfate และ 1,3-linked galactose หรือ 1,3-linked galactose 2-sulfate แต่ส่วนใหญ่จะเป็น 1,4-linked galactose 2,6-disulfate และ 1,3-linked galactose 2-sulfate ดังแสดงในภาพที่ 3 โดยมี ester sulfate ร้อยละ 35 และไม่มี 3,6 anhydro group การใช้ด่างจะสามารถกำจัดหมู่ซัลเฟตได้และเกิดเป็น 3,6 anhydro group แลมดาคการจีแนมนไม่สามารถเกิดเจลได้ ทั้งนี้เป็นผลจากหมู่ซัลเฟตตรงตำแหน่ง C-2 ของ 1,3-linked galactose unit ซึ่งทำให้ไม่เกิดเจลในระบบสารละลาย

แคปทาการจีแนมนละลายได้ในน้ำร้อน ได้เป็นอย่างดี แต่ละลายได้เพียงเล็กน้อยในน้ำเย็น โดยทั่วไปแล้วใช้อุณหภูมิประมาณ 120 องศาฟาเรนไฮต์ การจีแนมนมีเสถียรภาพที่ความเป็นกรดต่างมากกว่า 7 การจีแนมนทุกชนิดละลายได้ที่อุณหภูมิสูง แคปทาและไอโอตาการจีแนมนเกิดเจลที่แตกต่างกันไปในช่วงอุณหภูมิสูง 40-70 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ขึ้นกับแคทไอออนที่ใช้

การทำปฏิกิริยากับโปรตีนและสารไฮโดรคอลลอยล์ชนิดอื่นๆ การที่การจีแนมนทำปฏิกิริยากับโปรตีนได้ ขึ้นกับจำนวนและตำแหน่งของหมู่ซัลเฟต และปริมาณ 3,6-anhydro-D-galactose รวมทั้งค่า pI ถ้าสารละลายนั้นมีค่าต่ำกว่าค่า pI มีผลทำให้โปรตีนมีประจุบวก ส่วนการจีแนมนไม่มีค่า pI และมีประจุลบ ดังนั้นเมื่อผสมสารละลายโปรตีนกับสารละลายการจีแนมน จะเกิดปฏิกิริยาดังนี้

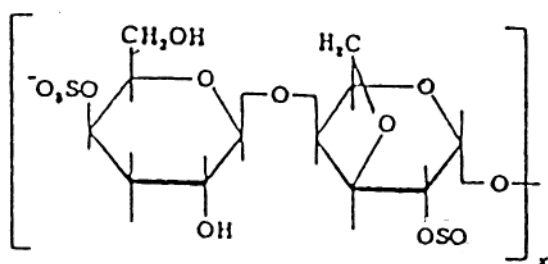


ถ้าผสมโปรตีนและคาราจีแนนที่ความเป็นกรดต่างสูงกว่าค่า pI ของโปรตีน ทั้งโปรตีนและคาราจีแนนจะมีประจุเป็นลบเหมือนกัน จึงเกิดแรงผลักระหว่างไฟฟ้าสถิตทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ การใช้คาราจีแนนในน้ำนม จึงใช้ร่วมกับโลคัสปีนัม ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสคล้ายเจลาติน มีความยืดหยุ่นและสามารถลดการเกิด syneresis ส่วนการใช้แคปซาลคาราจีแนนร่วมกับแป้งบุกจะได้เจลที่มีความยืดหยุ่นสูง และมีความแข็งแรงมากกว่าเดิม 4 เท่า



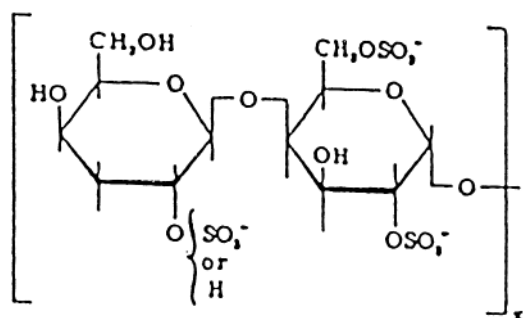
ภาพที่ 3 ลักษณะ โครงสร้างของแคปซาลคาราจีแนน

ที่มา : Trius และ Sebranek (1996)



ภาพที่ 4 ลักษณะ โครงสร้างของไอโอตาคาราจีแนน

ที่มา : Trius และ Sebranek (1996)



ภาพที่ 5 ลักษณะโครงสร้างของแลมดาคาราจีแนน

ที่มา : Trius และ Sebranek (1996)

สมบัติของเจลาติน

เป็นของแข็งโปร่งใส ไม่มีกลิ่น ไม่มีรสชาติ มีความหนาแน่น 1.3-1.4 กิโลกรัมต่อลิตร ไม่ละลายในน้ำเย็นแต่จะคูดน้ำแล้วเกิดการพองตัว เมื่อทำให้ร้อนจะเกิดการละลาย นอกจากนี้ยังสามารถละลายได้ในพวก polyhydric alcohol เช่น กรีเซอรอล (glycerol) หรือโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) แต่ไม่ละลายในสารอินทรีย์ เช่น เบนซีน (benzene) อีเทอร์ (ether) อะซีโตน (acetone) คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbontetrachloride) เจลาตินมีสมบัติเป็น amphoteric คือเป็นทั้งกรดและด่าง ขึ้นอยู่กับพีเอชของน้ำที่ใช้ละลาย องค์ประกอบของเจลาตินคือ คาร์บอนร้อยละ 50.5 ไฮโดรเจนร้อยละ 6.8 ไนโตรเจนร้อยละ 17 ออกซิเจนร้อยละ 25.2 (Ockerman, 1988)

นอกจากนี้เจลาตินมีคุณสมบัติอื่นอีกดังนี้ การ hydration โดยการเปลี่ยนเจลาตินที่อยู่ในสภาพที่เป็นของแข็งที่มีความกรอบ ให้มีลักษณะอ่อนนุ่ม ยืดหยุ่น เกิดขึ้นเนื่องจากการที่โมเลกุลของเจลาตินสามารถจับกับพันธะของน้ำได้ด้วยพันธะไฮโดรเจน รวมทั้งยังมีสมบัติอีกอย่างหนึ่งคือ Enzymatic hydrolysis โดยเอนไซม์เหล่านั้นจะตัดสายโมเลกุลของเจลาติน ทำให้กลายเป็นสายโมเลกุลสายสั้นๆ ก่อให้เกิดการสูญเสียเจลาติน (Margaret, 1997)

มาตรฐานในการตรวจสอบคุณสมบัติของเจลาติน

1. ความแข็งแรงของเจล (gel strength) เป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่สุดของเจลาติน การวัดจะทำการวัดการต้านทานต่อแรงกด โดยใช้เครื่องมือ Bloom Gelometer (Marh and Stewart, 1957)

2. ความหนืด (viscosity) เป็นคุณสมบัติที่รองลงมาจากความแข็งแรงของเจล สิ่งที่ต้องควบคุมในระหว่างการวัดคือ อุณหภูมิ เนื่องจากถ้าอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงจะทำให้ค่าความหนืดเปลี่ยนแปลงไปด้วย (Ward, 1977)

3. สี เจลาตินเกรดสูงๆควรจะไม่มีสีจนถึงสีสว่างอำพันหรือสีเหลืองจางๆเจลาตินเกรดต่ำๆจะให้ลักษณะไม่โปร่งใสจนถึงขุ่น หรือมีสีเหลืองส้ม มักเกิดจากกระบวนการผลิตที่ไม่ดี นอกจากนี้เจลาตินจะต้องไม่มีกลิ่นแปลกปลอม (odourless) และไม่ให้รสชาติ (tasteless) (Brody, 1965)

4. ปริมาณแบคทีเรียในการผลิตจะต้องระวังมากเนื่องจากในบางครั้งไม่มีการอนุญาตให้ใช้สารกันเสีย (preservative) ตามมาตรฐานอนุญาตให้มีแบคทีเรียได้ไม่เกิน 1×10^3 กรัม และจะต้องไม่พบ *salmonella sp.* และ *Escherichia coli* ถ้าพบว่าเจลาตินมีฟิโชน้อยกว่า 4 แบคทีเรียจะถูกระงับการเจริญเติบโตได้ ถ้าเจลาตินมีฟิโชนมากกว่า 5 อาจทำให้พบ proteolytic bacteria ได้

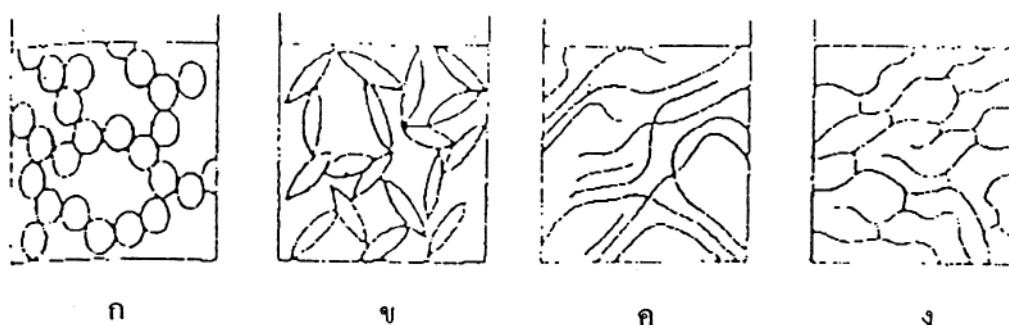
5. การทดสอบทางด้านเคมี เช่น ความชื้น เถ้า ฟิโชน โดยทั่วไปเจลาตินมีความชื้นประมาณร้อยละ 10-12 ปริมาณความชื้นนี้สามารถเปลี่ยนแปลงได้ในช่วงร้อยละ 7-15 ได้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการอบแห้งระยะเวลาการเก็บรักษา (The Committee on Textbooks of The American Meat Institute, 1985) ปริมาณเถ้ากำหนดไม่เกิน 2 เปอร์เซนต์ ถ้าเป็นเจลาตินคุณภาพสูงจะมีปริมาณเถ้า น้อยกว่า 0.5 เปอร์เซนต์ ซึ่งปริมาณเถ้านี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่นำมาสกัด ถ้าจะทำให้มีระดับเถ้าต่ำๆจะต้องนำมากรองผ่าน ion exchange เพื่อกำจัดพวกแร่ธาตุต่างๆ (demineralizing) ออก ฟิโชนจะอยู่ในช่วง 4-7 ถ้าเป็นเจลาตินคุณภาพสูงๆจะมีฟิโชนอยู่ในช่วง 5-5.8 (Harris, 1990)

การเกิดเจล

สารละลายหรือโซลหลายชนิดสามารถเปลี่ยนเป็นเจลได้ถ้ามีอุณหภูมิ ความเข้มข้น และสภาพแวดล้อมอื่นๆเหมาะสม สารละลายหรือโซลเป็นของเหลวโดยมีโมเลกุลหรืออนุภาคเล็กๆกระจายตัวอยู่ในตัวทำละลาย สามารถเปลี่ยนรูปได้ตามภาชนะบรรจุ ส่วนเจลโดยปกติจะไม่เปลี่ยนรูปได้ง่ายเนื่องจากมีลักษณะกึ่งแข็ง การเกิดเจลมีองค์ประกอบสองประการคือ ประการแรกเจลจะต้องมีส่วนผสมอย่างน้อยสองส่วน ส่วนหนึ่งเป็นของเหลว อีกส่วนเป็นของแข็ง ประการที่สอง เจลจะต้องมีคุณสมบัติเป็นของแข็ง เจลาตินแห้งมีคุณสมบัติในการดูดตัวทำละลายได้ดี แล้วจะเกิดการพองตัว และเปลี่ยนเป็นเจลได้ ซึ่งลักษณะนี้จะเรียกว่า “ซีโรเจล” (zerogel) (Kruyt, 1969)

ชนิดของเจล

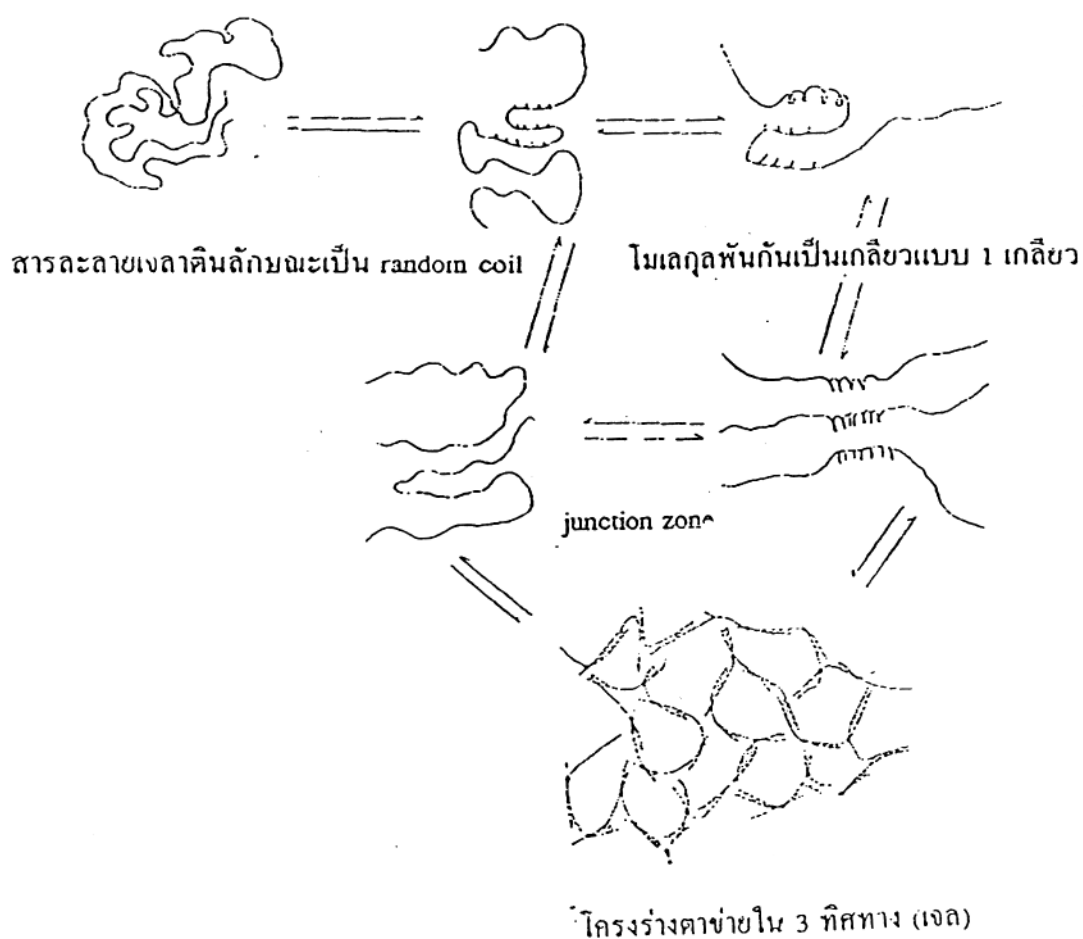
เจลมี 2 ชนิดคือ ชนิดที่เป็นตะกอนเบา (gelatinous precipitates) และชนิดที่เป็นเจลลี่ (jelly) เจลแบบตะกอนเบาเกิดจากสารอินทรีย์ เมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้นจะเกิดเจลแบบเร็วขึ้น และทำให้น้ำแยกออกมา ทำให้เกิดเจลลี่ได้ถ้าความเข้มข้นยิ่งสูงมากพอและมีการควบคุมการเกิดตะกอนให้ช้าลง ตัวอย่างสารที่เกิดเจลแบบนี้ได้แก่ โครมิกออกไซด์ ซิลิกา และแมงกานีสอาซิเตด เป็นต้น เจลลี่ที่ได้จะไม่ยุบตัวเมื่อนำไปทำแห้ง ส่วนแบบที่สอง เตรียมได้จากสารอินทรีย์เป็นเจลที่มีตัวทำละลายและตัวทำละลายอยู่ทั่วไปทั้งระบบ โดยแต่ละองค์ประกอบมีการเชื่อมต่อกันในสามทิศทางอย่างไม่ขาดตอน เมื่อนำไปทำแห้งความยุบตัวยังคงมีอยู่ เจลาตินจะจัดอยู่ในประเภทที่สองนี้ ลักษณะการสานตัวกันของเจลอาจเกิดขึ้นได้ 4 รูปแบบ (ภาพที่ 6) เมื่ออนุภาคมีลักษณะกลม การสานตัวกันเกิดจากการเคลื่อนที่เข้าหากันและเกาะกันเป็นเส้นยาว (ภาพที่ 6 ก) เมื่ออนุภาคมีรูปร่างยาววิธีการสานตัวกันจะเกิดจากปลายแหลม โดยจะเข้าไปเกาะกับส่วนหนึ่งส่วนใดของอนุภาคอื่นๆ (ภาพที่ 6 ข) เมื่ออนุภาคมีลักษณะเป็นเส้นยาวแบบ macromolecules การสานตัวจะเกิดจากการเรียงตัวกันของส่วนหนึ่งส่วนใดของเส้น ทำให้ส่วนนั้นเกิดเป็นผลึกขึ้น (ภาพที่ 6 ค) หรือเกิดจากปฏิกิริยาแบบคลอสลิงค์ โมเลกุลจะเชื่อมตัวกันเป็นตาข่ายทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นซึ่งถ้าสูงมากพอจะทำให้เกิดเจลขึ้นได้ (ภาพที่ 6 ง)



ภาพที่ 6 การสานตัวกันเพื่อให้เกิดเจล

กลไกการเกิดเจล

การเกิดเจลของเจลาตินจะไม่ขึ้นกับค่า pH และไม่จำเป็นต้องมีสารอื่นๆมาเกี่ยวข้องในการเกิดเจล เช่น น้ำตาล เกลือ divalent ions เป็นต้น การเกิดเจลในขั้นตอนแรกต้องมีความร้อนมาเกี่ยวข้อง ความร้อนจะทำให้โมเลกุลโปรตีนเปลี่ยนแปลงที่เรียกว่า” การเสียสภาพ” (denature) การเสียสภาพของโปรตีนแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือในระยะแรกโมเลกุลโปรตีนยืดตัวออกโดยพันธะที่เคยมีอยู่ในธรรมชาติได้แตกตัวออกบางส่วนต่อมาโมเลกุลเหล่านั้นจะเข้ามามีพันธะกัน โดยจับตัวกันใน 3 ทิศทางเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ขั้นแรกจะใช้เวลาเพียงสั้นๆ การใช้อุณหภูมิสูงจะทำให้โมเลกุลยืดออก (random coil) จะให้เจลแข็งและเนื้อละเอียด เมื่ออุณหภูมิลดลงโมเลกุลที่ยืดตัวออกแล้วจะจับกันอย่างซ้ำๆโดยใช้พันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก หรือพันธะไฮโดรโฟบิก และจะมีการจัดรูปร่างในลักษณะเป็น โครงร่างตาข่าย 3 ทิศทาง บริเวณที่โมเลกุลขนาดใหญ่เหล่านั้นเกิดการรวมตัวกัน เป็น โครงร่างตาข่ายใน 3 ทิศทาง จะเรียกว่า “junction zone” และพันธะที่เป็นอิสระแต่ละพันธะในบริเวณ junction zone จะมีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติในด้านความแข็งแรงของเจล ซึ่งความแข็งแรงของเจลจะขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของส่วนที่จับกัน ถ้าส่วนที่จับตัวกันมีลักษณะสั้นมากการจับกันจะไม่แข็งแรงมากนัก เจลจะถูกทำลายได้เพียงกวนเบาๆ หรือใช้ความร้อนเพียงเล็กน้อยในทางตรงกันข้าม ถ้าส่วนที่จับกันมีระยะยาวมาก การจับตัวกันจะแข็งแรงมาก เจลจะทนความร้อนได้ดี (Whistler and Daniel, 1990)



ภาพที่ 7 ขั้นตอนกลไกการเกิดเจล

การนำเจลาตินไปใช้ประโยชน์

1. การใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

การใช้เจลาตินในอุตสาหกรรมอาหารมีวัตถุประสงค์ต่าง ๆ กันดังนี้ คือ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เป็นเจลตามที่ต้องการ ใช้เพิ่มความหนาของผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อให้เกิดการจับตัวเป็นก้อนของอาหาร หรือเป็นตัวประสานให้ส่วนผสมของอาหารเข้ากันได้ดี ใช้เพื่อทำให้อาหารขึ้นฟู และใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัว (Rother, 1994) เช่น อุตสาหกรรมขนมหวาน ท็อปปิ้ง เจลลี่ marshmallow ผลิตภัณฑ์นม จำพวกไอศกรีม ครีมข้น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว ผลิตภัณฑ์ที่ให้พลังงานต่ำ (dietetic) ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ (health product) ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มทำให้ใสขึ้น เช่น ไวน์ และน้ำผลไม้

ผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อประสาณชั้นเนื้อให้เกาะเป็นก้อน และมีการใช้ในการปรับปรุงผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ (bakery product) และผลิตภัณฑ์ธัญพืช (cereal product) (Annon, 1996; Giese, 1994)

2. การใช้ในอุตสาหกรรมยา

ใช้ในการผลิตแคปซูล ซึ่งมี 2 ชนิดคือ แคปซูลชนิดแข็ง และแคปซูลชนิดนิ่ม แคปซูลชนิดแข็งหรือแบบ 2 ชั้น จะใช้ในการบรรจุยาที่เป็นผง แคปซูลชนิดนิ่ม จะมีการเติม plasticizer ซึ่งอาจเป็น glycerol หรือ propylene glycol โดยใช้บรรจุพวกน้ำมันตับปลา และพวกวิตามินในการผลิตยาเม็ด และใช้ในการเคลือบยาเม็ดเพื่อช่วยป้องกันการแตกหัก ทำให้เกิดความรู้สึกที่ลื่นเวลารับประทาน และช่วยในการดูดความชื้น ทำให้ตัวยาเกิดการพองตัวและแตกออกได้ เจลาตินจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน (oxidation) และเป็นสารให้ความคงตัว (stabilizer) สำหรับ emulsion และนอกจากนี้ยังเป็นตัวกลางสำหรับพวกสารประกอบภายนอกของยา เช่น สาร zinc-oxide (ZnO), sulphonamides และ penicillin

3. ใช้ในอุตสาหกรรมถ่ายภาพ

ในอุตสาหกรรมถ่ายภาพจะใช้เจลาตินในการทำ baryta-coated paper และใช้ในการเคลือบฟิล์ม เนื่องจากฟิล์มจะมีสารพวกที่ไวต่อแสงคือ silver reagent รวมอยู่ด้วย เจลาตินจะใช้เป็นตัวควบคุมขนาดของ silver halide ที่ได้รับ นอกจากนี้ยังมีการทำแผ่นกรอง (filter) สำหรับ ไฟสาด (spot light) และกล้อง (Satas, 1991)

4. ใช้ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

ในห้องปฏิบัติการจะมีการใช้เจลาตินทำเป็นอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ และใช้วัดค่าความสามารถของเอนไซม์

5. ใช้ในผลิตภัณฑ์อื่นๆ

เช่น ใช้ในการทำดินปืนเพื่อทำให้มีควันน้อยๆ ใช้ในยาฆ่าแมลงแบบที่ใช้พ่นเพื่อให้มั่นคงความเป็นพิษ ใช้ผสมในอาหารสัตว์ ใช้เป็นตัว adhesive สำหรับแอสมป์และกระดาด เป็นต้น (Bronson, 1950)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Jin Soo Kim *et al.* (1993a) ได้ทำการศึกษารวบรวมองค์ประกอบทางเคมีของหนังปลา Yellowfin sole (*Limanda aspera*) Dover sole (*Microstomus pacificus*) พบว่า Crude protein ของหนังปลา Yellowfin sole และ Dover sole เท่ากับร้อยละ 22.3 และ 11.3 ตามลำดับ และมีปริมาณ yield เท่ากับร้อยละ 17.2 และ 8.9 ตามลำดับ ในส่วนของ soluble และ insoluble collagen ในหนังปลา Yellowfin sole และ Dover sole เท่ากับร้อยละ 66.1 และ 33.9, 78.8 และ 21.2 ตามลำดับ สำหรับกรดอะมิโนในหนังปลาทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกัน แต่ proline และ hydroxyproline ในหนังปลาจะต่ำกว่าในกระดูกหมู

Jin Soo Kim *et al.* (1993b) ได้ทำการศึกษาการผลิตเจลาตินจากหนังของปลา Dover sole (*Microstomus pacificus*) โดยนำหนังปลามาแชในสารละลายด่างแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำไหล 2 วัน แล้วนำมาสกัดด้วยน้ำร้อน โดยใช้อัตราส่วนน้ำต่อหนังปลา เท่ากับ 1:5 ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง อาจเติม activated carbon ร้อยละ 3 ลงไป เพื่อทำการฟอกสีเจลาตินให้จางลงด้วย แต่ลักษณะทางเคมีกายภาพของเจลาตินจากหนังปลา จะมีจุด melting point และ gelling point ต่ำกว่าเจลาตินจากหนังหมู

Jin Soo Kim *et al.* (1995) ได้ทำการศึกษาการผลิตเจลาตินจากหนังปลา Yellowfin sole (*Limanda aspera*) โดยชะด้วย ethanol ซึ่งจากการทดลองพบว่า การชะด้วย ethanol จะมีผลต่อการเกิดเจลและลักษณะทางกายภาพคือ จะมีค่าความแข็งแรงของเจล melting point และ gelling point และความหนืดจะสูงขึ้น โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 และเจลาตินที่ได้จะมีความขาวขึ้นด้วย

วรรณวิมล (2540) ได้ทำการศึกษาการผลิตเจลลาตินจากหนังปลากระพงแดง โดยทำการแช่หนังปลาในสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.4 นาน 4 ชั่วโมง และแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.4 นาน 4 ชั่วโมง ทำการสกัดในช่วงพีเอชที่เป็นกลาง สกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 1.5 ชั่วโมง อบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า เจลาตินที่ได้จากหนังปลามีค่าความแข็งแรงและความหนืดสูงกว่าเจลาตินทางการค้า แต่ในด้านประสาทสัมผัสพบว่า คุณสมบัติด้านความใส กลิ่นรส ยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่ในด้านกลิ่นและเนื้อสัมผัสผู้บริโภคให้การยอมรับอยู่ในเกณฑ์ดี

นิติพงศ์ (2543) ได้ทำการศึกษาการผลิตแคลเซียมและเจลาตินจากเศษเหลือปลาทรายแดงจากโรงงานผลิตซูริมิ โดยสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตคือ แช่เศษเหลือปลาทรายแดงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.8 นาน 1.5 ชั่วโมง หลังจากนั้นสกัดแคลเซียมและเจลาติน ในสภาวะที่ตัวอย่างมีความเป็นกรดต่ำเป็นกลาง อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 70 องศาเซลเซียส นาน 2.5 ชั่วโมง อบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง วิธีการอบแห้ง แคลเซียมที่เหมาะสมคือ ตากแดด 2 วัน แล้วอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิอบแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 ชั่วโมง จะให้แคลเซียมที่มีลักษณะที่ดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

Ekowati (2000) ได้ทำการศึกษากระบวนการสกัดเจลาตินจากหนังปลาฉลามแห้งโดยการใช้กรด citric และ acetic แช่หนังปลาทิ้งไว้ 24 และ 36 ชั่วโมง โดยใช้อุณหภูมิในการสกัด 60 และ 80 องศาเซลเซียส ผลของเจลาตินที่ได้ต้องคำนึงถึง yield ลักษณะทางเคมีและกายภาพ พร้อมทั้งลักษณะทางประสาทสัมผัส ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด มี yield ร้อยละ 14.1 และเจลาตินที่ได้มีลักษณะขาวใส มีกลิ่นเล็กน้อยมี pH 5.88 เกลือร้อยละ 0.1 ความชื้นร้อยละ 7.23 เถ้าร้อยละ 1.74 ความหนืด 8 centipoise ค่าความแข็งแรงของเจล 455.06 g/cm^{-2} และมี setting point ที่ 11 องศาเซลเซียส

Yoshimaru *et al.* (2000) ได้ศึกษาสมบัติของเจลาตินที่ได้จากปลาฉลามเปรียบเทียบกับเจลาตินจากสุกร พบว่าลักษณะทางกายภาพของเจลาตินที่ได้จากปลาฉลามเมื่อหลังเกิดเจลและนำไปเปรียบเทียบกับเจลาตินจากสุกรพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติของ ความเข้มข้น และ pH ซึ่งจะส่งผลต่อค่าความแข็งแรงของเจล ความหนืดและความใสของเจลาติน จากการเปลี่ยนจากโซลเป็นเจล หรือการเปลี่ยนจากเจลเป็นโซล ความคงตัวของเจลาตินมีความแตกต่างกัน จึงสามารถสรุป

ได้ว่าเจลาตินที่ผลิตได้จากปลาฉลามมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากเจลาตินจากสุกร ไม่เพียงแต่สำหรับการเกิดเจลแต่ยังรวมถึงคุณสมบัติขณะที่เป็นสารละลายอีกด้วย

Sadowska and Kolodziejska (2004) ได้ทำการศึกษาการใช้แคปซูลการจีแนในการตกตะกอนคอลลาเจนจากหนังปลา Baltic cod (*Gadus morhua*) ซึ่งมีความเข้มข้นของคอลลาเจนอยู่ประมาณ 0.025-3% โดยพบว่าความเข้มข้นของคอลลาเจนที่มีอยู่ในวัตถุดิบมีผลต่อปริมาณของแคปซูลการจีแนที่ใช้ คือ อัตราส่วนของคอลลาเจนต่อการจีแนเป็น 1:0.4 สามารถตกตะกอนคอลลาเจนได้ 100% ซึ่งหากความเข้มข้นของการจีแนมากกว่านั้นจะตกตะกอนคอลลาเจนได้น้อยลง และยังพบว่าระดับของพีเอชที่เหมาะสมในการตกตะกอนอยู่ในช่วงพีเอช 2.2-3 และการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ให้ผลในการตกตะกอนดีกว่าที่ 20 องศาเซลเซียส

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

น้ำมันปลาซึ่งเป็นพิเศษเหลือจากกระบวนการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลา

2. สารเคมีที่ใช้ในการผลิตเจลาตินจากน้ำมันปลา

- 2.1 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (10% w/w)
- 2.2 แคลปการาจีเนน (Lab grade) และ แคลปการาจีเนน (Food grade)
- 2.3 พาราไดเมทิลลามิโนเบนซอลดีไฮด์ (p- dimethylaminobenzaldehyde)
- 2.4 กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid)
- 2.5 ซิตริกแอซิดโมโนไฮเดรต (citric acid monohydrate)
- 2.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
- 2.7 แอนไฮดรัสโซเดียมอะซิเตต (anhydrous sodium acetate)
- 2.8 1-โพรพานอล (mono-propyl alcohol)
- 2.9 โซเดียมเอ็นคลอโรพาราโทลูอินซัลโฟนาไมด์ไตรไฮเดรต (Sodium-N-chloro-p-toluene- sulphonamide trihydrate)
- 2.10 กรดเพอร์คลอริก (perchloric acid)
- 2.11 เอทานอล (ethanol)
- 2.12 2-โพรพานอล (iso-propyl alcohol)
- 2.13 ฟอสฟอรัสเพนทอกไซด์ (phosphorus pentoxide)
- 2.14 ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline)

3. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ได้แก่ Selenium mixture กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 98 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 0.1 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ กรดบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และ Mixed indicator

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ได้แก่ คลอโรฟอร์ม (CHCl_3) เมทานอล (MeOH)

4. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบทางจุลินทรีย์ (อาหารเลี้ยงเชื้อ)

4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ได้แก่ Plate count agar (PCA)

4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Salmonella sp.* ได้แก่ Lactose broth (LB), Selenite cystine broth (SC), Xylose lysine deoxycholate agar (XLD), Triple sugar iron agar (TSI) และ Lysine indole motility (LIM)

4.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์โคลิฟอร์มแบคทีเรีย, ฟีคัล โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Escherichia coli* ได้แก่ Lauryl tryptose broth (LST broth), Brilliant green lactose bile broth (BGLB), EC broth และ Eosin methylene blue agar (EMB)

4.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus* ได้แก่ Trypticase soy broth (TSB) +10% NaCl และ mannitol salt egg yolk agar (MS-EY)

5. ส่วนผสมในการทำเยลลี่

5.1 เจลาตินที่ผลิตจากน้ำบีบปลาทูน่า

5.2 เจลาตินทางการค้า

5.3 เจลาตินสำเร็จรูปยี่ห้อเบสท์ฟู้ดส์

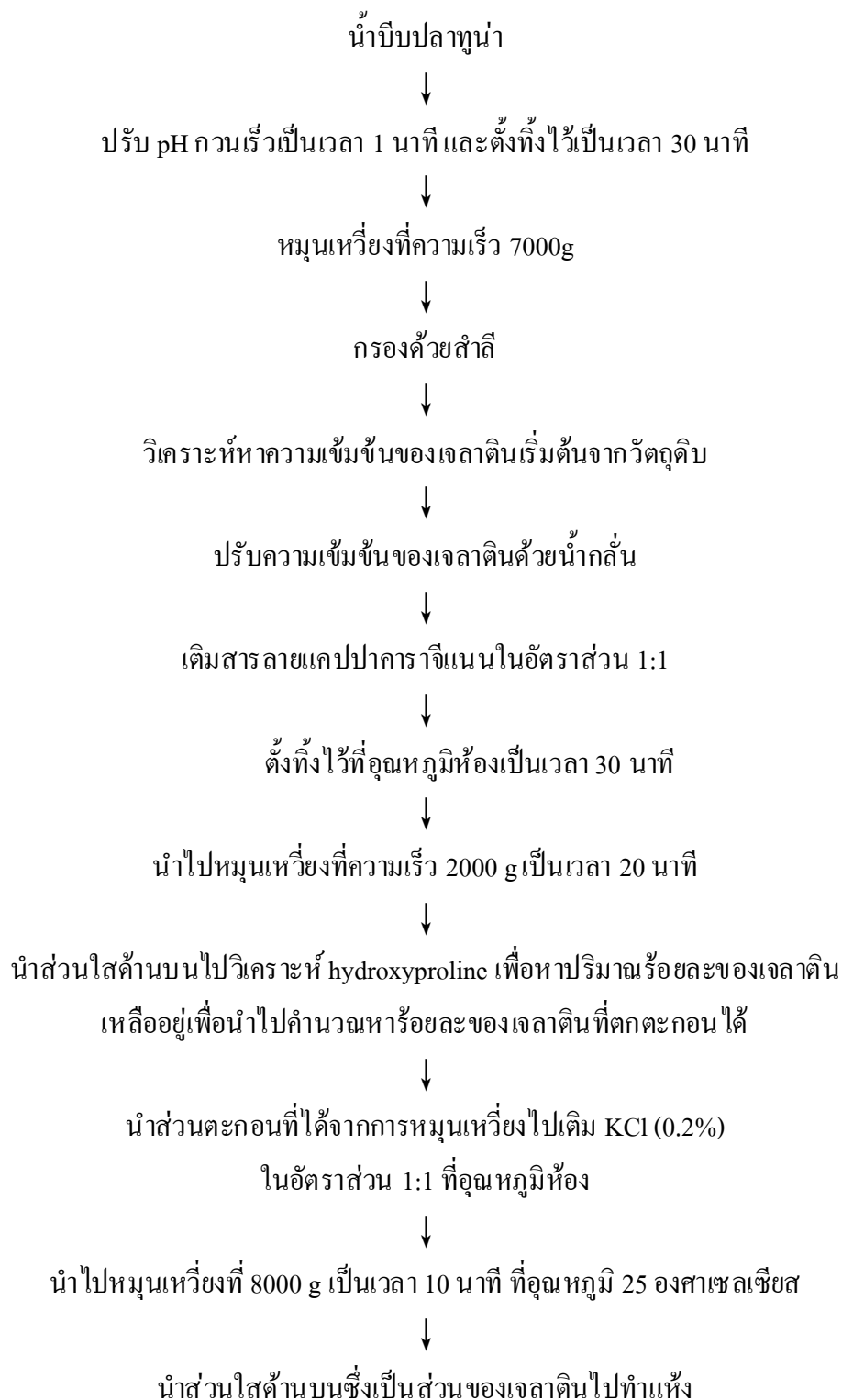
5.4 น้ำตาล

5.5 สีสผสมอาหารสีส้ม

5.6 กลิ่นส้ม

6. เครื่องมือ

- 6.1 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius 2462, Germany)
- 6.2 เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง (Yamato unicell model UC-100, Japan)
- 6.3 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Metrohm model 744, Switzerland)
- 6.4 ตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (WT-binder F240)
- 6.5 เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Hettich zentrifugen model Universal 32R, Germany)
- 6.6 เครื่องมือวัดเนื้อสัมผัส (Stable micro system TA-HD)
- 6.7 เครื่องมือวัดความหนืด (Brook field DV-III)
- 6.8 ตู้อบเพาะเชื้อ (Memmert Model 600)
- 6.9 เครื่องตีปั่น (Seward BA 7021)
- 6.10 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (KoKusan H88LLD)
- 6.11 เครื่องกรอง
- 6.12 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หาปริมาณ โปรตีน (Buchi 3213)
- 6.13 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (Soxtex system Ht 1043)
- 6.14 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (Infared Moisture Determination Balance AD-4721)
- 6.15 เตาเผาอุณหภูมิสูง (Phoenix furnaces BETA 5)
- 6.16 เครื่องวัดสี (Minolta CM-3500)
- 6.17 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memert WB 14)
- 6.18 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV/VIS spectrophotometer model Jasco 7800, Japan)
- 6.19 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 6.20 เครื่องแก้วที่จำเป็นในการทดลอง



ภาพที่ 8 กระบวนการผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

วิธีการ

น้ำมันปลาจากวัสดุเศษเหลือจากการปลาปนและน้ำมันปลาทูน่าโดยเก็บในถังพลาสติกที่สะอาดมีฝาปิดมิดชิด แล้วเก็บรักษาในตู้แช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วแบ่งมาทดลองตามปริมาณที่จะทำการทดลอง

1. ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพและจุลชีววิทยาของน้ำมันปลาทูน่า

1.1 ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพโดยนำน้ำมันปลาทูน่ามาวิเคราะห์หาปริมาณ โปรตีน ไขมัน ความชื้น และ คาร์โบไฮเดรต ตามวิธี AOAC (1995) และไขมัน ตามวิธี Bligh and Dyer (1959)

1.2 ศึกษาสมบัติทางจุลชีววิทยาโดยนำน้ำมันปลาทูน่ามาวิเคราะห์หาปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมด *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Clostridium perfringens* และ *Staphylococcus aureus* ตามวิธี AOAC (1995)

2. ศึกษาช่วงของ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีน

2.1 นำน้ำมันปลาทูน่าที่ผ่านการทำละลายแล้วมาปรับ pH เป็น 5 ระดับคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w)

2.2 กวนเร็วเป็นเวลา 1 นาที และตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 30 นาที

2.3 หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 7000g เป็นเวลา 15 นาที

2.4 เทเอาเฉพาะส่วนใสกรองด้วยสำลี

2.5 ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับค่า pH ตั้งต้นของวัตถุดิบ โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w)

2.6 นำไปแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 16-18 ชั่วโมง

2.7 นำไปวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำมันปลาทูน่าที่ได้หลังการตกตะกอนโปรตีน

3. ศึกษาระดับ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีน

หลังจากได้ช่วงของ pH ที่เหมาะสมแล้ว หลังจากนั้นทำการปรับค่า pH ให้มีช่วงความถี่มากขึ้นหลังจากปรับ pH ตามที่ต้องการ ทำตามขั้นตอนเดิมแล้วจึงนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน้าที่ได้หลังการตกตะกอน โปรตีน

4. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีน

4.1 นำน้ำบีบปลาทูน้าที่ผ่านการทำละลายแล้วมาปรับ pH ด้วยกรดตามระดับที่ได้จากการทดลองข้างต้น

4.2 กวนเร็วเป็นเวลา 1 นาที และตั้งทิ้งไว้ในเวลาที่ต่างกันคือ 0, 15, 30, 45 และ 60 นาที หลังจากครบตามเวลาที่กำหนดแล้วก็จะนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน้าที่ได้หลังการตกตะกอนโปรตีน

การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน้าหลังการตกตะกอนโปรตีน โดยการวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจลด้วยเครื่อง Texture analysis วัดค่าสีด้วยเครื่อง Minolta รายงานผลเป็นค่า L* (ความสว่าง) a* (สีแดง) b* (สีเหลือง) และ วิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน ตามวิธี AOAC (1995)

5. ศึกษาอัตราส่วนของเจลาตินต่อแคลปาคาราจีแนนที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน

หลังจากทำการตกตะกอน โปรตีนออกจากตัวอย่างแล้ว ก็จะทำการตกตะกอนเจลาตินโดยใช้แคลปาคาราจีแนน โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้คือ

5.1 นำน้ำบีบปลาทูน้าที่ตกตะกอนโปรตีนออกแล้วมาวิเคราะห์ปริมาณ hydroxyproline (ภาคผนวก ข) เพื่อหาปริมาณของเจลาตินเริ่มต้นที่มีอยู่ในวัตถุดิบ

5.2 ปรับความเข้มข้นของเจลาตินให้ได้ 5 ระดับคือประมาณ 0.03, 0.06, 0.12, 0.47 และ 0.78 เปอร์เซ็นต์ด้วยน้ำกลั่น

5.3 เติมสารละลายแคลปาคาราจีแนน (แคลปาคาราจีแนนละลายในกรดซิตริก 0.5M) ที่มีความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ลงไปในสารละลายเจลาตินแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

5.4 นำไปหมนเหวี่ยงที่ความเร็ว 2000 g เป็นเวลา 20 นาที

5.5 นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอน (ภาคผนวก ข)

6. ศึกษาระดับของ pH ที่มีผลต่อการตกตะกอนเจลาติน

หลังจากที่ได้ปริมาณร้อยละของแคปซาคารจีแนนที่เหมาะสมแล้ว ก็จะนำตัวอย่างดังกล่าว มาศึกษาผลของ pH ที่มีต่อการตกตะกอนเจลาติน โดยมีขั้นตอนดังนี้คือ

ปรับ pH ของตัวอย่างเป็น 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 และ 8.0 ด้วยสารละลายของกรด ไฮโดรคลอริก (HCl) และสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w) หลังจากนั้นนำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้

7. ศึกษาค่าของ Ionic strength ที่มีผลต่อการตกตะกอนเจลาติน

เลือกตัวอย่างที่เหมาะสมจากการทดลองข้างต้นนำมาเติมโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 หลังจากนั้นนำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้

8. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน

คัดเลือกตัวอย่างที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองข้างต้น นำมาตกตะกอนในสภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิ คือ 0, 5, 10, 15 และ 20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้

9. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตกตะกอนเจลาตินระหว่างแคปซาคารจีแนน (Lab grade) กับ แคปซาคารจีแนน (Food grade)

ตกตะกอนเจลาตินด้วยแคปซาคารจีแนน (Lab grade) และแคปซาคารจีแนน (Food grade) ตามสภาวะที่เหมาะสมตามที่ได้จากการทดลองข้างต้น หลังจากนั้นนำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้

การวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละของเจลาคินที่ตกตะกอนได้ สามารถคำนวณได้จากการนำ ส่วนโสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณของ Hydroxyproline เพื่อคำนวณหาปริมาณร้อยละของเจลาคิน ที่ตกตะกอนได้ (ภาคผนวก ข)

10. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการทำแห้งเจลาคิน

ผลิตเจลาคินตามกระบวนการผลิตที่ได้จากการทดลองข้างต้น นำส่วนตะกอนที่ได้จากการ หมุนเหวี่ยงไปเติม KCl (0.2%) ในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้อง นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 8000 g เป็น เวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำส่วนโสด้านบนซึ่งเป็นส่วนของเจลาคินไปทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการอบแห้ง 3 ระดับ คือ 2, 3, และ 4 ชั่วโมง แล้วนำไปตรวจสอบคุณสมบัติต่อไปนี้คือค่าความแข็งแรงของเจล ค่าความหนืด และ ความชื้น ตามวิธีของ British standard 757-1975

ทุกการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete randomize design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธีผลต่างน้อยที่สุด (Duncan's New Multiple Range Test) (อนันต์ชัย, 2534) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

11. วิเคราะห์คุณภาพของเจลาคินจากน้ำบีบปลาทูน่า

11.1 ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพโดยนำเจลาคินที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของ เจล ความหนืด ปริมาณความชื้น และปริมาณเถ้าตามวิธีของ British Standard 757-1975 วัดค่าสีด้วย เครื่อง Minolta รายงานผลเป็นค่า L^* (ความสว่าง) a^* (สีแดง) และ b^* (สีเหลือง)

11.2 ศึกษาสมบัติทางจุลชีววิทยาโดยนำเจลาคินจากน้ำบีบปลาทูน่ามาวิเคราะห์หาปริมาณ ของแบคทีเรียทั้งหมด เชื้อรา *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Clostridium perfringens* และ *Staphylococcus aureus* ตามวิธี AOAC (1995)

12. การทดสอบการยอมรับด้านประสาทสัมผัส

นำเจลาคินที่ผลิตได้จากน้ำบีบปลาในสถานะที่เหมาะสม มาทดสอบการยอมรับทาง ประสาทสัมผัสของผู้บริโภคในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัสและ

ความชอบรวม โดยนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ขนมหวานในลักษณะเยลลี่ ทำการเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่ทำจากเจลาตินที่จำหน่ายในท้องตลาดและเยลลี่สำเร็จรูปยี่ห้อเบสท์ฟู้ด

การเตรียมเยลลี่

12.1 ผสมส่วนผสมดังต่อไปนี้ให้เข้ากันคือ น้ำตาลร้อยละ 89 เจลาตินร้อยละ 8 กลิ่นส้มร้อยละ 0.21 สีส้มร้อยละ 0.17

12.2 เติมน้ำเดือด 1 ถ้วยตวง (235 ซม.) ลงในส่วนผสม คนให้ละลายดีแล้วเติมน้ำเย็นอีก 1 ถ้วยตวง คนให้เข้ากันเทใส่แม่พิมพ์

12.3 นำไปแช่เย็นในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-6 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 1 คืน ให้เจลาตินแข็งตัว

12.4 นำไปทดสอบผู้บริโภคร

เจลาตินทั้ง 3 แบบ จะทำการเตรียมตัวอย่างเยลลี่ โดยใช้สูตรเดียวกันเว้นแต่ส่วนผสมเจลาตินสำเร็จรูปนั้นจะมีการผสมส่วนผสมต่างมาแล้ว ในการเตรียมจึงทำตั้งแต่ข้อที่ 2 ลงมา

นำผลิตภัณฑ์เยลลี่ทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยให้คะแนนความชอบ (9-point Hedonic Scale) ช่วงคะแนน 1 (ไม่ชอบมากที่สุด) 9 (ชอบมากที่สุด) ในปัจจัยคุณภาพด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติและความชอบรวม โดยผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 20-30 คน

วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ วิเคราะห์ผล โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ Randomized Completely Block Design วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีผลต่างน้อยที่สุด โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (อนันต์ชัย, 2534) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

13. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการแปรรูปสัตว์น้ำ ห้องปฏิบัติการเคมี ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

14. ระยะเวลาในการทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2547 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2548

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพและจุลชีววิทยาของน้ำบีบปลาทูน่า

1.1 ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำบีบปลาทูน่า

ตารางที่ 2 สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำบีบปลาทูน่า

สมบัติทางเคมีกายภาพ	ปริมาณ (ร้อยละ)
โปรตีน	8.96±1.89
ไขมัน	0.80±0.50
เถ้า	2.43±0.56
ความชื้น	87.5±2.09
คาร์โบไฮเดรต	0.31±0.00
เเลาติน	2.77±0.34

จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำบีบปลาทูน่า (ตารางที่ 2) ก่อนนำไปผลิตเป็นเเลาตินพบว่าองค์ประกอบที่มีมากที่สุดคือความชื้น รองลงมาเป็น โปรตีน เถ้า ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต ตามลำดับ ซึ่งองค์ประกอบสำคัญที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตเเลาติน คือ โปรตีน เนื่องจากคอลลาเจนที่สลายได้เป็นเเลาตินนั้นจัดเป็น โปรตีนชนิดหนึ่งที่ไม่สามารถละลายได้ในน้ำเย็นแต่สามารถละลายได้ในน้ำร้อน (Moulton, 1984) พบได้ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ต่างๆ เช่น กระดูก เอ็น หนังเขาสัตว์ เป็นต้น (Nagai and Suzuki, 2000) เมื่อคอลลาเจนได้รับความร้อนจะหดตัวและ โมเลกุลของคอลลาเจนจะแยกออกจากกัน กลายเป็นเเลาตินที่ละลายได้ในน้ำร้อน (ณรงค์, 2538) จึงทำให้ในน้ำบีบปลาทูน่ามีเเลาตินอยู่เนื่องจากในขั้นตอนการให้ความร้อนแก่ปลาจนปลาเริ่มอุณหภูมิถึงกลางตัวปลาสูงกว่า 85 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นขั้นตอนหนึ่งในการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลาทูน่า ความร้อนดังกล่าวจะทำให้คอลลาเจนเปลี่ยนเป็นเเลาตินที่สามารถละลายได้ในน้ำ (Ward, 1977) โดยทั่วไปคอลลาเจนอยู่ประมาณร้อยละ 60 ของส่วนที่เป็น โปรตีนทั้งหมด แต่จากการทดลองพบว่าในน้ำบีบปลาทูน่ามีปริมาณของเเลาตินร้อยละ 2.77 คิดเป็นร้อยละ 30.91 ของปริมาณโปรตีนในน้ำบีบปลาทูน่า สาเหตุที่ปริมาณเเลาตินในน้ำบีบปลาทูน่าน้อยกว่าปกติอาจ

เนื่องจาก วัตถุดิบที่ใช้วิเคราะห์เป็นน้ำบิบปลาทูน่าซึ่งเป็นของเหลวไม่ใช่ปลาทั้งตัว ดังนั้น ปริมาณ โปรตีนหรือปริมาณเจลาตินที่ได้จึงมีอยู่น้อยกว่าในปลาทั้งตัว

เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นเจลาตินชนิดอื่นๆ ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจาก กระบวนการแปรรูปสัตว์น้ำ เช่น หนังและกระดูกปลากระพงแดง โดยในหนังของปลากระพงแดงมี ปริมาณ โปรตีน ไซมัน แก้ว ความชื้น คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 29.23, 2.34, 2.57, และ 65.84 ตามลำดับ (วรรณวิมล, 2540) ส่วนในกระดูกปลากระพงแดงมีปริมาณ โปรตีน ไซมัน แก้ว ความชื้น คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 20.5, 5.78, 44.8, และ 28.60 ตามลำดับ (วิศรุต, 2545) ซึ่งเมื่อพิจารณา องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบดังกล่าวพบว่ามีความแตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของ ชนิดของวัตถุดิบ เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญสำหรับการผลิตเจลาติน พบว่าหนังและกระดูกของปลากระพงแดงมีปริมาณ โปรตีนมากกว่าน้ำบิบปลาทูน่า ซึ่งการที่น้ำบิบ ปลาทูน่ามีปริมาณของโปรตีนน้อยกว่าหนังและกระดูกปลากระพงแดง เนื่องจากน้ำบิบปลาทูน่า เป็นของเหลวที่ได้จากการให้ความร้อนแก่ปลาแล้วบีบอัดเพื่อแยกของแข็งคือเนื้อปลาออกไปจึงทำให้มีปริมาณ โปรตีนทั้งหมดน้อยลง

1.2 ศึกษาสมบัติทางจุลชีววิทยาของน้ำบิบปลาทูน่า

ตารางที่ 3 สมบัติทางจุลชีววิทยาของน้ำบิบปลาทูน่า

จุลินทรีย์	ปริมาณจุลินทรีย์ของน้ำบิบปลาทูน่า
ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด	1.45×10^4 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	ไม่พบ
<i>Salmonella sp.</i>	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i>	ไม่พบ
<i>Clostridium perfringens</i>	ไม่พบ

จากการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียเบื้องต้นในน้ำบิบปลาทูน่า (ตารางที่ 3) พบว่า มีปริมาณ แบคทีเรียทั้งหมด 1.45×10^4 CFU/ml ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่ค่อนข้างสูง เป็นการแสดงให้เห็นว่าน้ำ บิบปลาทูน่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้ผลิตปลาป่นและ

น้ำมันปลาทูน่าได้มาจากเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปปลาทูน่า ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาที่นานในการรวบรวมเศษเหลือดังกล่าวเพื่อที่จะนำมาผลิตปลาป่นและน้ำมันปลาทูน่า รวมทั้งในระหว่างการรวบรวมและการเคลื่อนย้ายมาสู่แหล่งของการผลิตขาดการปฏิบัติที่ดีในด้านของสุขลักษณะ ทำให้การปนเปื้อนและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็นไปได้ดี ส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพปรากฏว่าไม่พบ และเมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบชนิดอื่นที่มีการนำมาผลิตเป็นเจลาตินที่เป็นเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปสัตว์น้ำ เช่นหนังและกระดูกของปลากะพงแดง พบว่าน้ำมันปลาทูน่ามีปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่าหนังปลากะพงแดง แต่น้อยกว่าในกระดูกปลากะพงแดง ส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพนั้นไม่พบเช่นเดียวกัน โดยในหนังปลากะพงแดงมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 6×10^3 CFU/g (วรรณวิมล, 2540) และกระดูกปลากะพงแดงมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 1.3×10^6 CFU/g (วริศรา, 2545) ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะเห็นได้ว่าวัตถุดิบแต่ละชนิดมีปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันออกไป เนื่องจากความแตกต่างของปัจจัยหลายๆด้าน เช่น ชนิดของวัตถุดิบ การขนส่ง การปฏิบัติทางด้านสุขลักษณะ และการเก็บรักษา ก่อนที่จะนำมาผลิตเจลาติน จากผลการวิเคราะห์ที่ได้ทำให้ต้องมีการควบคุมคุณภาพในด้านความสะอาดในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาให้มากขึ้น เพื่อลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้

2. ศึกษาช่วงของ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอน

เป็นการศึกษาเพื่อหาช่วงของ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอน โปรตีนที่แขวนลอยอยู่ในวัตถุดิบโดยการปรับ pH ให้มีค่าใกล้เคียงกับจุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนที่แขวนลอยอยู่เพื่อให้โปรตีนชนิดอื่นที่ไม่ใช่เจลาตินตกตะกอนลงมาโดยทั่วไปเจลาตินจะมีค่า pI ตั้งแต่ 4-9 (Ward, 1977) ดังนั้นจึงปรับ pH เป็น 5 ระดับตั้งแต่ pH 1-5 เพื่อป้องกันไม่ให้เจลาตินตกตะกอน และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยง นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำมันปลาทูน่าหลังการตกตะกอน ได้แก่ ค่าความแข็งแรงของเจล ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่และค่าสี ซึ่งผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 คุณสมบัติของน้ำบีบปลาพุน้ำที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1-5

ตัวอย่าง (pH)	ปริมาณ โปรตีน (%)	ค่าความ แข็งแรงของ เจล (g.cm^{-2})	ค่าสี		
			L*	a*	b*
control 1	9.20±0.68 ^a	67.70±1.78 ^b	22.59±0.09 ^f	14.74±0.04 ^a	35.40±0.15 ^g
control 2	8.05±0.08 ^b	66.14±1.81 ^b	73.18±0.86 ^c	7.83±0.27 ^b	63.17±0.72 ^a
pH 1	5.82±0.09 ^c	73.98±3.77 ^a	83.78±0.24 ^a	2.05±0.10 ^c	51.88±0.24 ^f
pH 2	6.39±0.08 ^d	73.52±0.88 ^a	82.40±0.57 ^b	2.78±0.12 ^d	54.00±0.07 ^e
pH 3	6.62±0.01 ^c	68.61±1.68 ^b	80.29±1.19 ^c	3.73±0.11 ^e	56.31±0.17 ^d
pH 4	7.02±0.22 ^c	68.02±2.44 ^b	80.27±1.16 ^c	4.50±0.34 ^f	58.62±0.29 ^c
pH 5	7.63±0.21 ^b	67.76±0.67 ^b	76.73±0.42 ^d	6.38±0.05 ^g	61.67±0.28 ^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

control 1 : ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับ pH และการหมุนเหวี่ยง

control 2 : ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับ pH แต่ผ่านการหมุนเหวี่ยง

จากตารางที่ 4 พบว่า ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ลดลงเมื่อปรับระดับ pH ลดลง โดยที่ pH1 สามารถตกตะกอนได้มากที่สุดรองลงมา คือ pH2, pH3, pH4, pH5, control 2 และ control 1 ตามลำดับ โดยที่ pH3 และ pH4 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และที่ control 2 และ pH5 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p\leq 0.01$) การที่โปรตีนสามารถละลายอยู่ในน้ำได้มีเหตุผลหลัก 2 ประการคือ โมเลกุลของโปรตีนมีส่วนที่ชอบน้ำ สามารถเกิดแรงปฏิกริยากับน้ำได้เรียกส่วนนี้ว่า “hydrophobic patches” สามารถเกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้าเอาโมเลกุลของน้ำมาล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนได้ อีกสาเหตุหนึ่งคือบนโมเลกุลของโปรตีนมีประจุไฟฟ้าสุทธิ (electrostatic repulsion) สูงกว่าแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตย์ ทำให้โมเลกุลของโปรตีนอยู่ห่างกัน จึงไม่สามารถรวมตัวเข้ามาอยู่ใกล้กันแล้วตกตะกอนลงมาได้ ดังนั้นปัจจัยใดก็ตามที่สามารถเพิ่มปฏิกริยาระหว่าง โมเลกุลของโปรตีนด้วยกันเอง (protein-protein interaction) หรือลดปฏิกริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับน้ำ (protein-water interaction) ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนลดลง ทำให้โปรตีน

ตกตะกอนในที่สุด โดยวิธีการที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีนสำหรับงานวิจัยชิ้นนี้คือ การตกตะกอนโปรตีนที่จุดไอโซอิเล็กทริก เรียกวิธีการนี้ว่า “Isoelectric Precipitation” ซึ่งวิธีนี้อาศัยหลักการที่ว่าโปรตีนแต่ละชนิดมีค่า pH ที่ทำให้สมดุลของประจุสุทธิบน โมเลกุล โปรตีนเป็นศูนย์ เรียกค่านี้ว่าจุดไอโซอิเล็กทริก เป็นค่าเฉพาะตัวของโปรตีนแต่ละชนิด เมื่อใดก็ตามที่ทำการปรับค่า pH ของสารละลายโปรตีนจนกระทั่งมีค่าเท่ากับค่า pI ของโปรตีนที่ต้องการแยกโปรตีนชนิดนั้นจะรวมตัวกันและตกตะกอนลงมาในที่สุด เนื่องจากบน โมเลกุลของโปรตีนนั้นมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ จึงไม่มีแรงผลักดันไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเอง โปรตีนจึงเข้าใกล้กันมากพอที่จะรวมตัวกัน (Aggregate) และตกตะกอนลงมาได้ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า การปรับค่า pH ให้มีค่าต่ำ โดยเฉพาะที่ระดับพีเอช 1-2 จะสามารถตกตะกอน โปรตีน ได้มากกว่าที่ระดับ pH สูง จึงอาจกล่าวได้ว่าโปรตีนชนิดอื่นที่ไม่ใช่เจลาตินมีค่า pI ที่ต่ำ ดังนั้นการปรับ pH ให้ต่ำลงจะทำให้โมเลกุลของโปรตีนนั้นมีประจุสุทธิเป็นศูนย์จึงไม่มีแรงผลักดันไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเอง โปรตีนจึงเข้าใกล้กันมากพอที่จะเกิดการรวมตัวกันตกตะกอนลงมาในที่สุด (Scope, 1994)

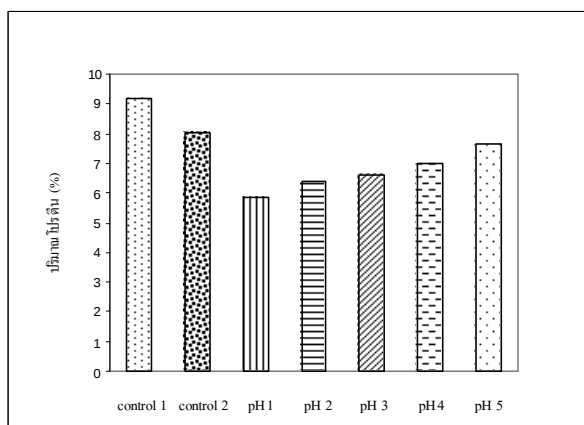
ส่วนค่าความแข็งแรงของเจล พบว่า ค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อปรับระดับ pH ลดลง โดยที่ pH1 มีค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุดรองลงมาก็คือ pH2, pH5, pH3, pH4, control 1 และ control 2 ตามลำดับ โดยที่ pH1 และ pH2 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และที่ pH3, pH4, pH5, control 1 และ control 2 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ซึ่งค่าความแข็งแรงของเจลที่ได้มีความสอดคล้องกับปริมาณโปรตีน กล่าวคือ ค่าความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้นเมื่อสามารถแยกตะกอนโปรตีนที่ไม่ใช่เจลาตินได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเกิดเจลของเจลาตินนั้นเกิดจากการให้ความร้อนในช่วงแรกเพื่อให้โมเลกุลของเจลาตินยืดออก ต่อมาเมื่ออุณหภูมิลดลงโมเลกุลเหล่านั้นจะเข้ามามีพันธะกันโดยจับตัวกันใน 3 ทิศทางลักษณะเป็นโครงร่างตาข่ายโดยใช้พันธะต่างๆได้แก่ พันธะไคซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน และ พันธะไอออนิก หรือพันธะไฮโดรโฟบิก (Whistler and Daniel, 1990) ดังนั้นในตัวอย่างที่มีตะกอนโปรตีนอยู่มากจึงมีค่าความแข็งแรงของเจลต่ำเนื่องจาก โปรตีนที่แขวนลอยอยู่จะไปขัดขวางการเกิดเจลของเจลาติน นอกจากนี้ตะกอนโปรตีนยังมีผลต่อการกระจายตัวของเจลาตินทำให้เจลไม่สม่ำเสมอซึ่งมีผลต่อการพัฒนาโครงสร้างของเจลด้วยเช่นกัน (Lanier *et al.*, 1988)

ส่วนค่าสีพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) โดยตัวอย่างที่ตกตะกอนที่ pH ต่ำ มีความใสและสีอ่อนกว่าการตกตะกอนที่ pH สูง โดยที่ pH 1 มีความใสและสีอ่อนมากที่สุด

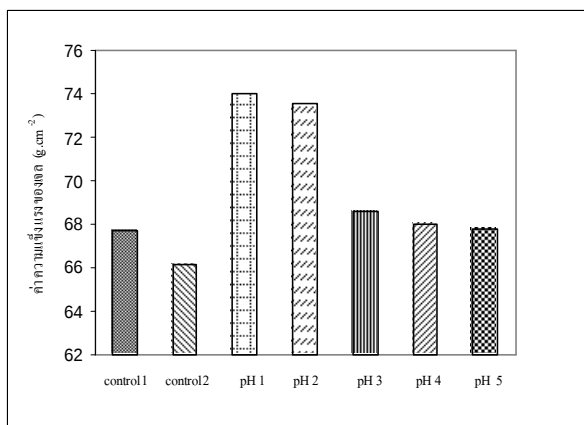
รองลงมาคือ pH2, pH3, pH4 และ pH5 ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับปริมาณ โปรตีนที่ตกตะกอนได้กล่าวคือ ตัวอย่างที่ตกตะกอน โปรตีน ได้มากจะทำให้ น้ำบีบปลาทูนามีความใสและสีที่อ่อนขึ้น เนื่องจากว่าตะกอน โปรตีน ดังกล่าวมีสีเข้มจึงส่งผลให้น้ำบีบปลาทูนามีสีที่เข้มตามไปด้วย ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการตกตะกอน โปรตีน ไม่เพียงแต่เพิ่มความบริสุทธิ์ของเจลแต่ยังเป็นการปรับปรุงคุณลักษณะของวัตถุดิบเบื้องต้น ได้อีกด้วย

จากผลการทดลองข้างต้นเมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงของเจล ปริมาณ โปรตีนและค่าสีของตัวอย่างหลังจากตกตะกอน โปรตีนที่แขวนลอยอยู่สามารถสรุปได้ว่าปัจจัยทั้ง 3 มีความสัมพันธ์กัน กล่าวคือน้ำบีบปลาทูนามีปริมาณ โปรตีนที่เหลือยู่น้อยจะมีค่าความแข็งแรงของเจลสูง ซึ่งก็แสดงว่าการตกตะกอน โปรตีนที่แขวนลอยอยู่ออกไปจะสามารถทำให้ตัวอย่างมีสิ่งปนเปื้อนน้อยลงทำให้เจลดินมีความบริสุทธิ์มากขึ้นจึงมีผลทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่อพิจารณาค่าสี พบว่ามีความสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันคือ ตัวอย่างที่มีปริมาณ โปรตีนน้อยจะมีความใสมากกว่าตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนมาก ซึ่งก็แสดงว่าการตกตะกอน โปรตีนที่แขวนลอยอยู่มีผลต่อความใส สี และค่าความแข็งแรงของเจล

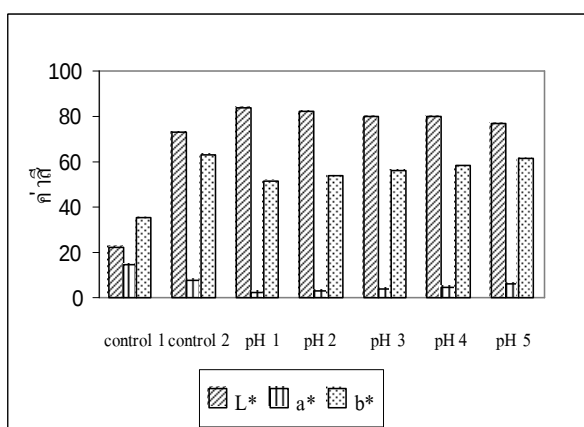
ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกช่วงของ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอน โปรตีนคือช่วง pH 0-2 ซึ่งจะได้นำไปศึกษาเพื่อหาระดับ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอน โปรตีนต่อไป



ภาพที่ 9 ปริมาณโปรตีนของน้ำบีบปลาทูน่าหลังการตกตะกอน โปรตีนที่ pH 1-5



ภาพที่ 10 ค่าความแข็งแรงของเจลของน้ำบีบปลาทูน่าหลังการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1-5



ภาพที่ 11 ค่าสี (L* a* b*) ของน้ำบีบปลาทูน่าหลังการตกตะกอนที่ pH 1-5

3. ศึกษาระดับ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีน

ทำการปรับระดับ pH ของน้ำบีบปลาทูน่าเป็น 10 ระดับ ตั้งแต่ 0.2-2.0 เพื่อหากระดับ pH ที่แน่นอนในการตกตะกอนโปรตีน หลังจากปรับ pH ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยง นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน่าหลังการตกตะกอน ได้แก่ ค่าความแข็งแรงของเจล ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่และค่าสี ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน่าที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 0.2-2.0

ตัวอย่าง (pH)	ปริมาณ โปรตีน (%)	ค่าความแข็งแรง ของเจล (g.cm ⁻²)	ค่าสี		
			L*	a*	b*
control 1	9.19±0.68 ^a	65.14±0.90 ^b	22.58±0.09 ^g	14.73±0.04 ^a	35.39±0.15 ^f
control 2	8.04±0.07 ^b	66.90±2.52 ^b	73.17±0.86 ^f	7.83±0.27 ^b	63.17±0.72 ^a
pH 0.2	5.33±0.04 ^g	20.11±1.01 ^f	85.15±0.85 ^a	1.35±0.41 ^f	46.63±2.25 ^e
pH 0.4	6.40±0.20 ^f	25.54±1.18 ^e	83.67±0.60 ^b	2.09±0.36 ^e	50.79±1.42 ^d
pH 0.6	6.54±0.11 ^{ef}	31.64±0.84 ^d	83.53±0.07 ^b	3.27±0.15 ^d	54.75±0.33 ^c
pH 0.8	6.75±0.11 ^{ef}	34.86±0.30 ^c	81.93±0.05 ^c	3.76±0.10 ^c	56.22±0.21 ^{bc}
pH 1.0	6.80±0.03 ^{ef}	71.44±1.58 ^a	81.52±0.18 ^{cd}	3.72±0.02 ^c	56.23±0.03 ^{bc}
pH 1.2	7.01±0.45 ^{de}	71.41±0.01 ^a	81.17±0.05 ^{de}	3.83±0.03 ^c	56.35±0.06 ^b
pH 1.4	7.36±0.08 ^{cd}	71.34±0.02 ^a	81.10±0.01 ^{de}	3.88±0.01 ^c	56.46±0.01 ^b
pH 1.6	7.51±0.13 ^c	71.20±0.01 ^a	80.88±0.10 ^{de}	3.90±0.01 ^c	56.58±0.02 ^b
pH 1.8	7.59±0.01 ^c	70.91±0.05 ^a	80.46±0.09 ^e	3.92±0.02 ^c	56.68±0.02 ^b
pH 2.0	7.60±0.08 ^c	72.32±0.81 ^a	81.30±0.67 ^{de}	3.82±0.09 ^c	58.11±0.05 ^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

control 1 : ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับ pH และการหมุนเหวี่ยง

control 2 : ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับ pH แต่ผ่านการหมุนเหวี่ยง

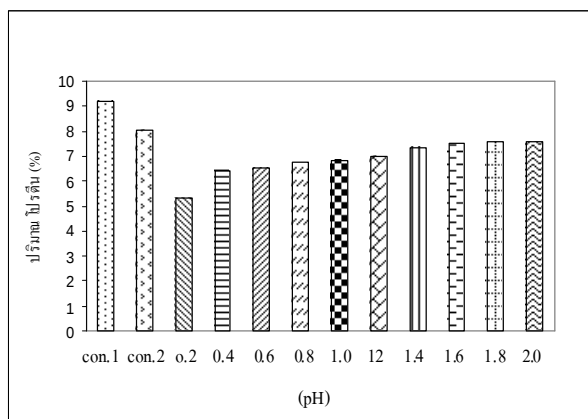
จากตารางที่ 5 พบว่าปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ลดลงเมื่อปรับระดับ pH ลดลง โดยที่ระดับ pH 0.2 สามารถตกตะกอนโปรตีนออกไปได้มากที่สุด รองลงมาคือที่ระดับ pH 0.4, pH 0.6, pH 0.8, pH 1.0, pH 1.2, pH 1.4, pH 1.6, pH 1.8, pH 2.0, control 2 และ control 1 ตามลำดับ โดยที่ pH 0.6, pH 0.8 และ pH 1 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และ pH 1.6, pH 1.8 และ pH 2.0 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่ามีความสอดคล้องกับผลการทดลองแรกคือการตกตะกอนโปรตีนที่ระดับ pH 1-5 กล่าวคือการปรับระดับของ pH ให้ต่ำลงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการตกตะกอนมากขึ้นทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนชนิดอื่นที่ไม่ใช่เจลาคีนมีค่า pI ที่ต่ำมาก ดังนั้นเมื่อปรับ pH ให้ต่ำลงจึงสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ดีกว่าที่ pH สูง เพราะการปรับ pH ให้มีค่าเข้าใกล้ค่า pI ของโปรตีนชนิดนั้นทำให้โมเลกุลของโปรตีนนั้นมีประจุสุทธิเป็นศูนย์จึงไม่มีแรงผลักดันไฟฟ้าสถิตย์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยกันเอง จึงทำให้โปรตีนสามารถเข้าใกล้กันมากพอที่จะเกิดการรวมตัวกันและตกตะกอนลงมาได้ในที่สุด (Scope, 1994) ซึ่งโดยทั่วไปพบว่า การปรับ pH ลดลงจะสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ดีขึ้น (องค์กรความร่วมมือไทย-เยอรมัน (GTZ) กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2537)

เมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงของเจล พบว่า ค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นเมื่อปรับระดับ pH ลดลง โดยที่ pH 2.0 ให้ค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุด รองลงมาคือ pH 1.0, pH 1.2, pH 1.4, pH 1.6, pH 1.8, control 2, control 1, pH 0.8, pH 0.6, pH 0.4 และ pH 0.2 ตามลำดับ โดยที่ pH 2.0, pH 1.8, pH 1.6, pH 1.4, pH 1.2 และ pH 1.0 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และ control 1 และ control 2 ไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ซึ่งผลการทดลองที่ได้แตกต่างกับผลการทดลองแรก คือ การตกตะกอนที่ pH 1-5 โดยพบว่าค่าความแข็งแรงของเจลไม่สอดคล้องกับปริมาณของโปรตีนที่ตกตะกอนเหมือนกับผลการทดลองขั้นแรก (pH 1-5) กล่าวคือแม้ว่าจะปรับค่า pH ให้มีระดับต่ำเพื่อที่จะทำให้ตกตะกอนโปรตีนออกไปได้มาก แต่กลับทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากว่า การเกิดเจลเกิดจากโมเลกุลจะเชื่อมกันแบบคลอสลิงค์เป็นโครงสร้างตาข่าย ซึ่งอนุภาคที่จับกันนั้นมีทั้งแรงแบบแวนเดอร์วาลส์ (Vander Walls Force) และแรงประจุ ดังนั้นการใช้กรดหรือด่างจะมีส่วนไปรบกวนพันธะที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลทั้งหมดหรือบางส่วนของพันธะ ทำให้เจลาคีนเกิดการเสื่อมสภาพ (denature) ทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลง (สุทรวัดน์, 2536) ไม่เพียงแต่กรดหรือด่างจะมีผลต่อการเกิดเจลของคอลลาเจนหรือเจลาคีนเท่านั้นแต่ยังพบว่าระดับของกรดหรือด่างที่แตกต่างกันก็จะให้ผลที่แตกต่างกันด้วย โดยพบว่าสภาวะความเป็นกรดหรือด่างของ

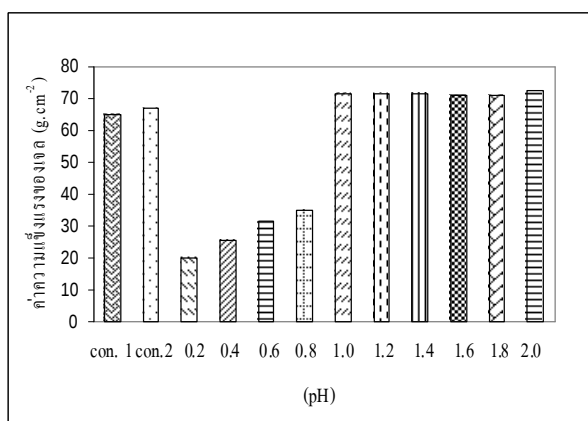
สารละลายมีผลต่อการฟองตัวของคอลลาเจนหรือเจลาติน โดยจะสามารถเกิดการฟองตัวสูงสุดที่พีเอช 2 หรือ 12 ถ้า pH ต่ำกว่า 2 หรือสูงกว่า 12 ซึ่งเป็นสถานะที่เป็นกรดหรือเป็นด่างมากเกินไปนั้น คือมีความเข้มข้นของไอออนสูงขึ้นจะมีผลทำให้โครงสร้างของคอลลาเจนหรือเจลาตินถูกทำลายมากขึ้น โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพได้มาก ยิ่งถ้าใช้ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายกรดหรือด่างสูงมากขึ้นก็จะส่งผลให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนได้มากขึ้นทำให้โปรตีนจับกับน้ำได้น้อยลงหรือจับกับน้ำไม่ได้ (Ward, 1977) จากค่ากล่าวข้างต้นพบว่ามีความสอดคล้องกับผลการทดลอง โดยจะเห็นว่าที่ระดับ pH ที่ต่ำมากๆ คือตั้งแต่ระดับ pH 0.2-0.8 จะให้ค่าความแข็งแรงของเจลต่ำกว่าที่ระดับ pH ที่สูง คือที่ pH 1.0-2.0 ซึ่งมีค่าใกล้เคียง 2 ซึ่งเป็นระดับ pH ที่ทำให้คอลลาเจนหรือเจลาตินเกิดการฟองตัวสูงสุด

ส่วนค่าสีพบว่าตัวอย่างที่ตกตะกอนที่ pH ต่ำ มีความใสและสีอ่อนกว่าการตกตะกอนที่ pH สูงกว่า โดยพบว่าที่ pH 0.2 จะมีความใสและสีอ่อนมากที่สุดรองลงมาคือ pH 0.4, pH 0.6, pH 0.8, pH 1, pH 1.2, pH 1.4, pH 1.6, pH 1.8 และ pH 2.0 ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่ตกตะกอนได้กล่าวคือ ตัวอย่างที่ตกตะกอนโปรตีนได้มากจะทำให้ น้ำบีบปลาทูนามีความใสและสีที่อ่อนขึ้น เนื่องจากว่าตะกอนโปรตีนดังกล่าวมีสีเข้มจึงส่งผลให้น้ำบีบปลาทูนามีสีที่เข้มตามไปด้วย

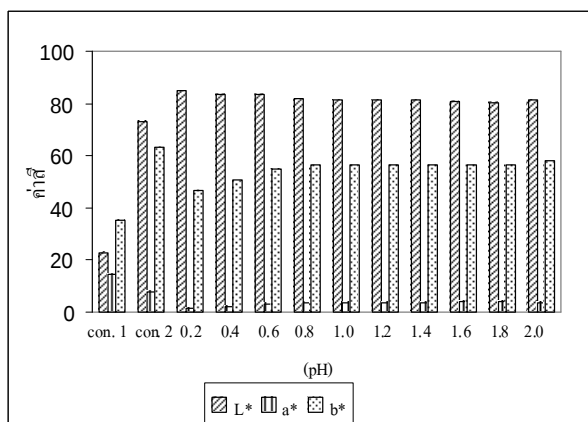
จากผลการทดลองข้างต้นเมื่อพิจารณารวมทั้ง 3 ปัจจัยคือ ค่าความแข็งแรงของเจล ปริมาณโปรตีนและค่าสี พบว่าปริมาณโปรตีนกับค่าสีมีความสอดคล้องกัน คือตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนน้อยจะมีความใสมากกว่าตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนมาก แต่เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนกับค่าความแข็งแรงของเจลพบว่าไม่มีความสอดคล้องกันคือ ที่ระดับ pH ต่ำสามารถตกตะกอนโปรตีนออกไปได้มากแต่กลับทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลง ดังนั้นในการพิจารณาเลือกระดับ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอน โปรตีน จะทำการเลือกที่ระดับ pH 1.0 เนื่องจากให้ค่าปริมาณของโปรตีนที่เหลืออยู่และให้ค่าความแข็งแรงของเจลเหมาะสมที่สุด



ภาพที่ 12 ปริมาณ โปรตีนของน้ำบีบปลาทูน่าหลังการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 0.2-2.0



ภาพที่ 13 ค่าความแข็งแรงของเจลของน้ำบีบปลาทูน่าหลังการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 0.2-2.0



ภาพที่ 14 ค่าสี (L* a* b*) ของน้ำบีบปลาทูน่าหลังการตกตะกอนที่ pH 0.2-2.0

4. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีน

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนโดยปรับ pH ของน้ำบีบปลาทูน้า ในระดับ pH 1.0 และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปหมนเหวี่ยง นำส่วนใสด้านบน ไปวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน้าหลังการตกตะกอน ได้แก่ ค่าความแข็งแรงของเจล ปริมาณ โปรตีนที่เหลืออยู่และค่าสี ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 คุณสมบัติของน้ำบีบปลาทูน้าที่ผ่านการตกตะกอน โปรตีนที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน

เวลา (นาที)	ปริมาณ โปรตีน (%)	ค่าความแข็งแรง ของเจล (g.cm ⁻²)	ค่าสี		
			L*	a*	b*
0	7.18±0.05 ^{ns}	68.86±0.11 ^c	80.98±0.01 ^d	3.71±0.01 ^b	56.20±0.01 ^c
15	7.12±0.12 ^{ns}	68.33±0.38 ^c	81.35±0.03 ^c	3.77±0.02 ^a	56.22±0.01 ^c
30	7.05±0.09 ^{ns}	71.61±0.68 ^a	81.52±0.04 ^a	3.69±0.01 ^b	56.24±0.01 ^{ab}
45	7.16±0.02 ^{ns}	70.61±0.54 ^b	81.45±0.02 ^b	3.75±0.01 ^a	56.25±0.02 ^a
60	7.15±0.02 ^{ns}	70.74±0.04 ^b	81.43±0.01 ^b	3.70±0.01 ^b	56.25±0.02 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)
ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

จากตารางที่ 6 เมื่อพิจารณาปริมาณ โปรตีนที่เหลืออยู่ของน้ำบีบปลาทูน้าที่ตกตะกอน โปรตีนในระยะเวลาที่ต่างกัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ (p>0.05) จึงสามารถสรุป ได้การตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1 ระยะเวลาไม่มีผลต่อปริมาณของโปรตีนที่ตกตะกอนได้ ทั้งนี้อาจ เนื่องมาจากการตกตะกอนโดยอาศัยหลักการการตกตะกอนที่จุด Isoelectric Point นั้นจะเป็นการ ปรับ pH ให้มีค่าเข้าใกล้ค่า pI ของโปรตีนชนิดนั้นๆ เพื่อให้โมเลกุลของโปรตีนนั้นมีประจุสุทธิเป็น ศูนย์โปรตีนจึงเข้าใกล้กันมากพอที่จะเกิดการรวมตัวกันตกตะกอนลงมาในที่สุด (Scope, 1994) ซึ่ง จุดสำคัญของหลักการนี้คือค่า pH จะต้องเท่ากับ ค่า pI โปรตีนจึงจะตกตะกอนลงมาได้ และ โปรตีนแต่ละชนิดก็จะมีค่า pI เฉพาะของโปรตีนชนิดนั้นๆ ดังนั้นแม้ว่าจะเพิ่มระยะเวลาในการ

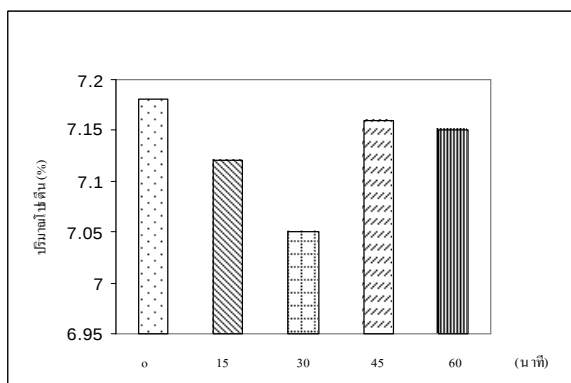
ตกตะกอนมากขึ้นก็ตามแต่ก็ไม่สามารถที่จะเพิ่มการรวมตัวกันและการตกตะกอนของโปรตีนได้ เนื่องจาก pH ของสารละลายคงที่

เมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงของเจล พบว่าการตกตะกอนโดยใช้เวลา 30 นาที ให้ค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุดรองลงมาคือ 45 นาที 60 นาที 0 นาที และ 15 นาทีตามลำดับโดยที่ 45 นาที กับ 60 นาที มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และ 0 นาที กับ 15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) โดยจะสังเกตเห็นว่าที่ระยะเวลาน้อยๆค่าความแข็งแรงยังต่ำอยู่แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลามากขึ้นจะให้ค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุด แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลามากเกินไปกลับทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลต่ำลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้ระยะเวลามากเกินไปจะมีผลทำให้เจลาตินหรือคอลลาเจนเกิดการพองตัวมากเกินไปนั่นคือโครงสร้างของเจลจะถูกทำลาย จึงมีผลทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลลดลง (Ockerman, 1988)

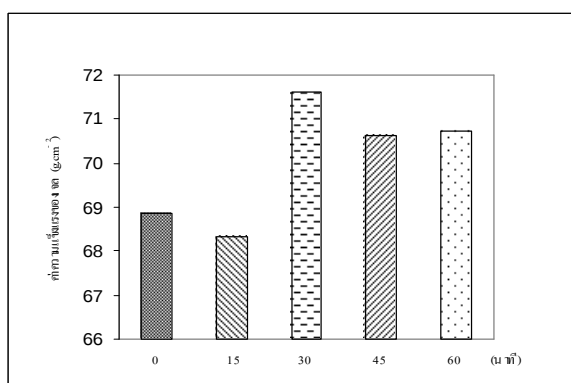
ค่าสีพบว่ามีผลสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่คือตัวอย่างที่สามารถตกตะกอนโปรตีนออกไปได้มากจะมีสีที่ใสและอ่อนกว่าตัวอย่างที่มีตะกอนโปรตีนออกไปได้น้อย ถึงแม้ว่าปริมาณโปรตีนที่ระยะเวลาต่างๆกันจะแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) แต่เมื่อพิจารณาตัวเลขนั้นพบว่ามีความแตกต่างกันเล็กน้อย ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าปริมาณโปรตีนที่แม้จะต่างกันเล็กน้อยนี้ก็สามารถส่งผลต่อสีของตัวอย่างได้

จากผลการทดลองข้างต้นเมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงของเจล ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ และค่าสีของตัวอย่างหลังจากตกตะกอนโปรตีนที่เขว่นล่อยอยู่ จึงสามารถสรุปได้ว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนคือ 30 นาที เนื่องจากให้ค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุดและให้ค่าสีดีที่สุด

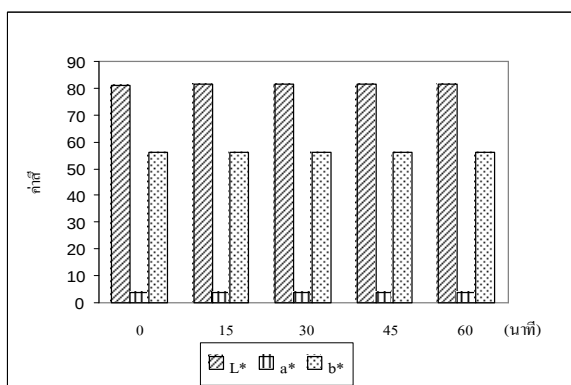
ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนคือ 30 นาที



ภาพที่ 15 ปริมาณโปรตีนของน้ำบิบบลาทูน่าที่ผ่านการดกตะกอน โปรตีนที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน



ภาพที่ 16 ค่าความเข้มของสีของน้ำบิบบลาทูน่าที่ผ่านการดกตะกอน โปรตีนที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน



ภาพที่ 17 ค่าสี (L* a* b*) ของน้ำบิบบลาทูน่าที่ผ่านการดกตะกอนที่ในระยะเวลาที่ต่างกัน

5. ศึกษาอัตราส่วนของเจลาตินต่อแคลปการาจีแนนที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน

หลังจากตกตะกอน โปรตีนที่แขวนลอยอยู่ออกจากน้ำบีบปลาทูน่าแล้วขั้นตอนต่อไปก็จะทำการตกตะกอนเจลาตินด้วยแคลปการาจีแนน โดยนำน้ำบีบปลาทูน่ามาปรับ pH1 และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปหมუნเหวี่ยง นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์ร้อยละของเจลาตินในวัตถุดิบก่อน แล้วจึงปรับความเข้มข้นของเจลาตินด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ ซึ่งระดับความเข้มข้นหลังปรับด้วยน้ำกลั่นนั้นอาจไม่ตรงกับระดับที่ต้องการมากนัก แต่ก็มีค่าใกล้เคียง ซึ่งหลังจากปรับความเข้มข้นแล้วก็จะได้ความเข้มข้นของเจลาตินในวัตถุดิบ 5 ระดับด้วยกันคือ ร้อยละ 0.03, 0.06, 0.12, 0.47 และ 0.78 จากนั้นก็จะนำสารละลายเจลาตินในแต่ละความเข้มข้นมาตกตะกอนด้วยสารละลายแคลปการาจีแนนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ ร้อยละ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปหมუნเหวี่ยงที่ความเร็ว 2000 g เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณ hydroxyproline เพื่อหาปริมาณร้อยละของเจลาตินเหลืออยู่เพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้ โดยปัจจัยที่ใช้ในการพิจารณา คือ ร้อยละของปริมาณเจลาตินที่ตกตะกอนได้ ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างความเข้มข้นของเจลาตินกับแคลปการาจีแนนที่เหมาะสมแสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 อัตราส่วนของเจลาตินและแคลปาคารจีแนนที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน

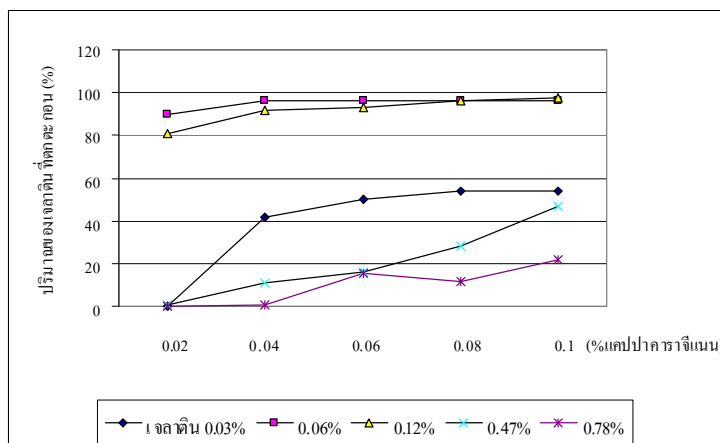
ความ เข้มข้นของ เจลาติน (%)	ความเข้มข้นของแคลปาคารจีแนนในระบบ (%)				
	ปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน (%)				
	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10
0.03	0.00±0.00 ⁱ	41.66±7.21 ^d	50.00±12.50 ^c	54.16±19.09 ^c	54.16±7.21 ^c
0.06	89.96±1.46 ^{ab}	96.36±0.18 ^a	96.16±0.95 ^a	96.16±0.97 ^a	96.48±0.55 ^a
0.12	80.74±0.10 ^b	91.66±2.08 ^a	93.26±0.28 ^a	96.32±1.83 ^a	97.51±0.50 ^a
0.47	0.48±0.83 ⁱ	11.14±9.85 ^{fg}	16.04±13.84 ^{fg}	28.24±6.05 ^c	46.78±9.36 ^d
0.78	0.00±0.00 ⁱ	0.47±0.82 ⁱ	15.36±3.92 ^{fg}	11.54±5.03 ^{fg}	21.58±7.57 ^{ef}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวนอนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 7 จะสังเกตเห็นว่าเมื่อพิจารณาที่แต่ละความเข้มข้นของเจลาตินพบว่าการใช้แคลปาคารจีแนนที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นสามารถตกตะกอนเจลาตินได้เพิ่มขึ้น แต่เมื่อพิจารณาทุกความเข้มข้นรวมกันพบว่าตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของเจลาตินต่ำ คือ ร้อยละ 0.03 แม้ว่าจะใช้สารละลายแคลปาคารจีแนนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1 แต่ก็ยังตกตะกอนเจลาตินได้น้อยอยู่ก็ยังสามารถตกตะกอนเจลาตินได้เพียงร้อยละ 54.16 ซึ่งแตกต่างกับตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของเจลาตินร้อยละ 0.06 และ 0.12 การใช้สารละลายแคลปาคารจีแนนเพียงร้อยละ 0.04 ก็สามารถตกตะกอนเจลาตินได้มากกว่าร้อยละ 96 ส่วนตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของเจลาตินสูง คือ ร้อยละ 0.47 และ ร้อยละ 0.78 พบว่า ให้ผลเช่นเดียวกันกับที่ความเข้มข้นของเจลาตินต่ำ คือ ถึงแม้ว่าจะใช้สารละลายแคลปาคารจีแนนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1 แต่ตกตะกอนเจลาตินได้เพียงร้อยละ 21 จากผลการทดลองพบว่าตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของเจลาตินร้อยละ 0.06 และ 0.12 ตกตะกอนด้วยสารละลายแคลปาคารจีแนนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.04-0.1 ให้ค่าการตกตะกอนเจลาตินมากที่สุดโดยมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และให้ค่ามากกว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.03, 0.47 และ 0.78 โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p\leq 0.01$)

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการตกตะกอนเจลาตินด้วยแคลปาคารจีแนนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเจลาตินและความเข้มข้นของสารละลายแคลปาคารจีแนน โดยพบว่าการตกตะกอนจะเกิดประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อระดับความเข้มข้นระหว่างเจลาตินและแคลปาคารจีแนนเหมาะสม เนื่องจากการตกตะกอนเจลาตินด้วยแคลปาคารจีแนนอาศัยหลักของการทำปฏิกิริยากับโปรตีนและสารไฮโดรคอลลอยด์ การที่การจีแนนทำปฏิกิริยากับโปรตีนได้ ขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่ซัลเฟต และปริมาณ 3,6 -anhydro-D-galactose รวมทั้งค่า pI ถ้าสารละลายนั้นมีค่าต่ำกว่าค่า pI มีผลทำให้โปรตีนมีประจุบวก ส่วนการจีแนนไม่มีค่า pI และมีประจุลบ ดังนั้นเมื่อผสมสารละลายโปรตีนกับการจีแนน จะเกิดปฏิกิริยาทำให้เจลาตินซึ่งมีประจุบวกจับกับแคลปาคารจีแนนที่มีประจุลบรวมตัวกัน ทำให้สามารถตกตะกอนลงมาได้ในที่สุด (Carr, 1993) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าการตกตะกอนจะให้ผลดีที่สุดนั้นจะต้องอาศัยปริมาณของของเจลาตินและแคลปาคารจีแนนที่เหมาะสม เพื่อที่จะให้การจับกันนั้นเกิดขึ้นได้มากที่สุดตามจำนวนของประจุบวกและประจุลบที่มีในระบบ (Sadowska and Kolodziejaska, 2004)

นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้สารละลายเจลาตินและแคลปาคารจีแนนที่สูงหรือน้อยเกินไปจะทำให้การตกตะกอนเกิดขึ้นได้น้อย แม้ว่าปริมาณประจุบวกและลบของเจลาตินและแคลปาคารจีแนนจะเหมาะสมกัน ทั้งนี้เนื่องจากว่าการใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นมากหรือน้อยเกินไปนั้นจะส่งผลต่อโอกาสในการจับกันของสารทั้งสองกล่าวคือ หากความเข้มข้นน้อยเกินไปจะส่งผลให้การจับกันของสารทั้งสองเกิดขึ้นได้น้อย ส่วนถ้าเพิ่มความเข้มข้นมากเกินไปนั้นแม้ว่าสารทั้งสองจะจับกัน แต่ก็ตกตะกอนลงมาได้ยากเนื่องจากสารละลายในระบบมีความเข้มข้นสูงเกินไป ดังนั้นการตกตะกอนเพื่อให้ได้ผลดีที่สุดนั้นจะต้องใช้อัตราส่วนของเจลาตินและแคลปาคารจีแนนที่เหมาะสม (Sadowska and Kolodziejaska, 2004) ซึ่งจากการทดลองพบว่าอัตราส่วนของเจลาตินและแคลปาคารจีแนนที่เหมาะสมคือ 3:1



ภาพที่ 18 อัตราส่วนของเจลาตินและแคปปาการจีแนนที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน

6. ศึกษาระดับของ pH ที่มีผลต่อการตกตะกอนเจลาติน

ศึกษาระดับของ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน โดยขั้นแรกจะต้องตกตะกอนโปรตีนที่แขวนลอยอยู่ออกจากวัตถุดิบก่อน โดยนำน้ำบีบปลาพามาปรับ pH1 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยง และนำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์ร้อยละของเจลาตินในวัตถุดิบ แล้วจึงปรับความเข้มข้นของเจลาตินด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการโดยปรับระดับความเข้มข้นของเจลาตินเป็น 0.12% และใช้แคปปาการจีแนน 0.04% (อัตราส่วน 3:1) ปรับ pH ของสารละลายในระบบเป็น 8 ระดับด้วยกันคือ ตั้งแต่ pH 1-8 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 2000 g เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณของ hydroxyproline เพื่อหาปริมาณร้อยละของเจลาตินเหลือที่อยู่ เพื่อคำนวณหาร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้ ปัจจัยที่ใช้ในการพิจารณาคือร้อยละของปริมาณเจลาตินที่ตกตะกอนได้ ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 8

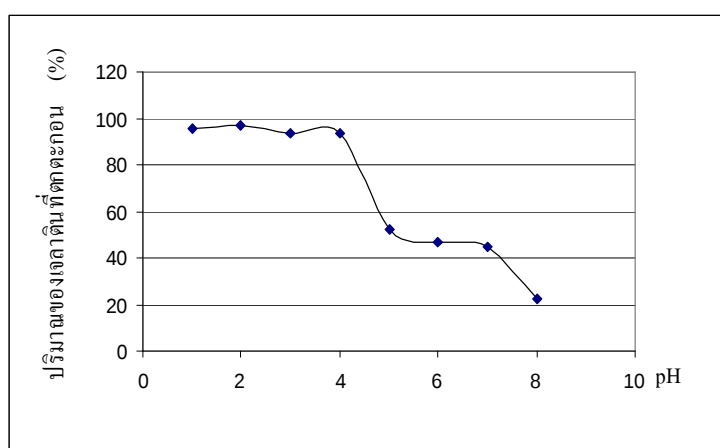
ตารางที่ 8 ผลของ pH ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน

ระดับ pH	ปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน (%)
1	95.33±4.04 ^a
2	97.00±5.19 ^a
3	93.80±0.00 ^a
4	93.76±5.64 ^a
5	52.03±5.88 ^b
6	46.67±0.80 ^b
7	45.01±0.75 ^b
8	22.39±11.72 ^c

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 8 พบว่า ปริมาณการตกตะกอนของเจลาตินจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับ pH ลดลง โดยที่ pH 2 สามารถตกตะกอนเจลาตินได้มากที่สุดรองลงมาคือที่ pH 1, pH 3, pH 4, pH 5, pH 6, pH 7 และ pH 8 ตามลำดับ โดยที่ pH 1, pH 2, pH 3 และ pH 4 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และที่ pH 5, pH 6 และ pH 7 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ด้วยเช่นกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p\leq 0.01$) ซึ่งจากผลการทดลองจะสังเกตเห็นว่าที่ระดับ pH ที่ต่ำ จะให้ผลการตกตะกอนเจลาตินได้ดีกว่าที่ระดับ pH ที่สูงกว่า เนื่องมาจากว่าค่า pH มีผลต่อประจุสุทธิบนโมเลกุลโปรตีนโดยโปรตีนแต่ละชนิดจะมีค่า pI เฉพาะของโปรตีนชนิดนั้นๆ ที่แตกต่างกัน ในกรณีที่มีการปรับค่า pH มากกว่าค่า pI ประจุสุทธิบนโมเลกุลโปรตีนแต่ละโมเลกุลมีค่าเป็นประจุลบและในทางกลับกันหากมีการปรับค่า pH น้อยกว่าค่า pI ประจุสุทธิบนโมเลกุลโปรตีนแต่ละโมเลกุลมีค่าเป็นประจุบวก (Scope, 1994) ซึ่งโดยปกติ ค่า pI ของเจลาตินอยู่ในช่วง 4-9 ดังนั้นเมื่อปรับ pH ให้น้อยกว่า pI จะทำให้ประจุสุทธิบนโมเลกุลของโปรตีนเป็นบวก จึงเป็นการเพิ่มปริมาณของประจุบวกของโปรตีน ทำให้การจับกันระหว่างประจุบวกของเจลาตินกับประจุลบของแคลเซียมคาร์บอเนตเกิดได้มากขึ้น จึงเป็นผลทำให้ปริมาณของเจลาตินที่ตกตะกอนได้เพิ่มมากขึ้นด้วย (Sadowska and Kolodziejaska, 2004)

ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองที่ได้ จึงเลือกระดับ pH ที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน คือ ที่ระดับ pH 2 เนื่องจากที่ pH 2 ให้ปริมาณการตกตะกอนเจลาตินสูงสุด (เพื่อความสะดวกและเพื่อประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิต จึงควรที่จะวัดระดับ pH ของตัวอย่างหลังจากปรับความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่นและเติมสารละลายแคลปาคารจีแนก่อน หากพบว่าระดับของ pH ที่ได้อยู่ในช่วง pH 1-4 แล้วก็ไม่จำเป็นต้องปรับ pH ใหม่ แต่หากพบว่าระดับ pH ไม่อยู่ในช่วงดังกล่าวก็ต้องทำการปรับระดับของ pH ก่อน โดยควรเลือกปรับ pH ให้ได้ใกล้เคียง 4 เนื่องจากสะดวกและประหยัดค่าใช้จ่ายเพราะใช้สารเคมีน้อย)



ภาพที่ 19 ผลของ pH ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน

7. ศึกษาค่าของ Ionic strength ที่มีผลต่อการตกตะกอนเจลาติน

ศึกษาค่าของ Ionic strength ที่มีผลต่อการตกตะกอนเจลาติน โดยขั้นแรกจะต้องตกตะกอนโปรตีนที่แขวนลอยอยู่ออกจากวัตถุดิบก่อน โดยนำน้ำบีบปลาช่อนมาปรับ pH 1 กวนเร็วเป็นเวลา 1 นาที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 7000g เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์ร้อยละของเจลาตินในวัตถุดิบ แล้วจึงปรับความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ โดยปรับระดับความเข้มข้นของเจลาตินเป็น 0.12% และใช้แคลปาคารจีแน 0.04% (อัตราส่วน 3:1) ปรับ pH ของสารละลายเท่ากับ pH 2 และใช้โซเดียมคลอไรด์ 5 ระดับคือ ร้อยละ 1-5 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 2000g เป็นระยะเวลา 20 นาที นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณของ

hydroxyproline เพื่อหาปริมาณร้อยละของเจลาตินเหลือที่อยู่เพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้ ปัจจัยที่ใช้ในการพิจารณาคือร้อยละของปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลของค่า Ionic strength ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน

ความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์(%)	Ionic strength	ปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน (%)
0	0	92.15±0.25 ^a
1	0.18	80.94±8.25 ^a
2	0.36	52.37±8.25 ^b
3	0.54	47.61±8.26 ^b
4	0.72	33.33±8.24 ^c
5	0.90	14.28±0.00 ^d

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์จะทำให้ปริมาณการตกตะกอนของเจลาตินน้อยลง โดยการใช้ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณของเจลาตินที่ตกตะกอนได้มากที่สุดรองลงมาคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0 และ 1 เปอร์เซ็นต์มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ด้วยเช่นกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p\leq 0.01$)

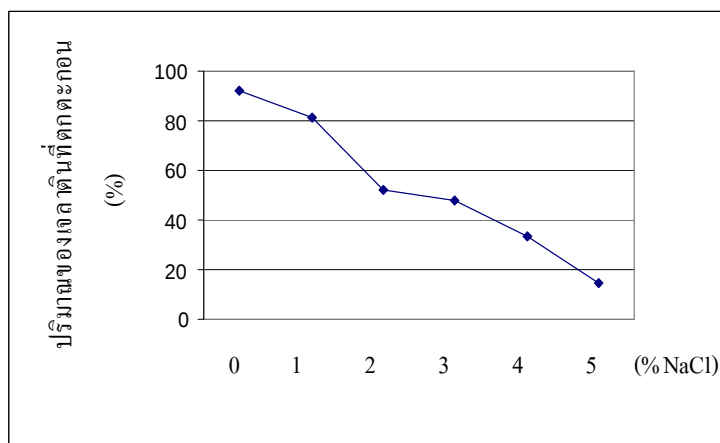
การเติมเกลือลงไปนับเป็นอีกวิธีหนึ่งในการตกตะกอน โปรตีน ซึ่งการตกตะกอน โดยวิธีนี้เป็นการตกตะกอน โปรตีน โดยการใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูง เรียกวิธีการนี้ว่า “Salting Out” เป็นการเติมเกลือลงไป เพื่อเพิ่มความแรงไอออน (ionic strength) ของสารละลายให้สูงขึ้น จนกระทั่ง

ไอออนของเกลือไปแย่งโมเลกุลของน้ำที่ล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนออกมาเพื่อล้อมรอบ โมเลกุลของเกลือเอง อาจกล่าวได้ว่าเป็นการแข่งขันกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนและ โมเลกุลของเกลือ ในการเกิดแรงปฏิกิริยาทางไฟฟ้ากับโมเลกุลของน้ำนั่นเอง เมื่อใดก็ตามที่แรงกระทำระหว่าง โมเลกุลของโปรตีนกับน้ำมีค่าน้อยกว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับโปรตีน โปรตีนก็จะจับตัวกันตกตะกอนลงมา การรวมตัวกันของโปรตีนเกิดจากส่วนที่ไม่ชอบน้ำบนโมเลกุลของโปรตีนแต่ละตัว เคลื่อนที่เข้ามาอยู่ใกล้กัน โดยแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำด้วยกันเอง เกิดเป็นกลุ่มก้อนโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อน้ำหนักสะสมมากขึ้น ก็จะเกิดการตกตะกอนลงมา (Scope, 1994) ดังนั้นจากคำกล่าวข้างต้นการเติมเกลือลงไปในสารละลายโปรตีนก็必将มีส่วนช่วย ในการตกตะกอนเจลาติน แต่จากผลการทดลองพบว่าการเติมเกลือลงไปในสารละลายเจลาตินกลับ ทำให้ตกตะกอนเจลาตินได้น้อยลง โดยจะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่ไม่เติมเกลือนั้นจะสามารถตกตะกอนเจลาตินได้มากถึง 92.15 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเติมเกลือลงไปกลับทำให้ปริมาณของเจลาตินที่ตกตะกอนได้น้อยลง เช่นที่ความเข้มข้นของเกลือสูงคือที่ 5 เปอร์เซ็นต์ การตกตะกอนของเจลาตินจะเกิดขึ้นได้น้อยมากโดยจะตกตะกอนได้เพียง 14.28 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกับตัวอย่างที่ไม่เติมเกลือพบ ว่ามีความแตกต่างกันมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่า การตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือตามปกติไม่ได้มีการปรับพีเอชของสารละลายโปรตีน ทำให้โปรตีนอยู่ในสภาวะที่ประจุสุทธิบนโมเลกุลโปรตีนมีทั้งประจุบวกและประจุลบ ดังนั้นเมื่อเติมเกลือลงไป เกลือจะแตกตัว เป็นโซเดียมซึ่งเป็นประจุบวก (Na^+) และคลอไรด์ซึ่งเป็นประจุลบ (Cl^-) โดยทั้งโซเดียมและคลอไรด์จะไปจับกับน้ำที่ล้อมรอบ โมเลกุลของโปรตีน โปรตีนจึงรวมตัวกันตกตะกอนลงมาได้ แต่สำหรับในการทดลองได้มีการปรับค่าพีเอชให้มีค่าน้อยกว่าค่า pI ของโปรตีน ทำให้โปรตีนมีประจุสุทธิบนโมเลกุลเป็นบวกจึงสามารถจับกับแคปซาคาราจีแนนได้ดีและตกตะกอนลงมาในที่สุด ซึ่งเมื่อเติมเกลือลงไปอาจเป็นไปได้ว่าเกลืออาจจะแตกตัวแล้วไปแย่งจับกับเจลาตินและแคปซาคาราจีแนน ทำให้เจลาตินไม่สามารถจับกับแคปซาคาราจีแนนได้ ทำให้ตกตะกอนของเจลาตินได้น้อยลง (Sadowska *et al.*, 2004)

Wood (1960) รายงานว่า การเพิ่มเกลือหรือการเพิ่มค่า Ionic strength ลงไปในระบบจะไม่สามารถเพิ่มปริมาณของคอลลาเจนที่ตกตะกอนได้แต่จะทำให้การตกตะกอนเกิดขึ้นได้น้อยและช้าลง

Sadowska and Kolodziejska (2004) รายงานว่า การใช้เกลือในการตกตะกอนคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลา Baltic cod (*Gadus morhua*) ไม่มีผลต่อการตกตะกอนคอลลาเจน

ซึ่งจากรายงานดังกล่าวให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกันคือเติมเกลือลงไปในระบบหรือการเพิ่มค่า Ionic strength ไม่มีผลต่อการตกตะกอนคอลลาเจนหรือทำให้การตกตะกอนเกิดขึ้นได้น้อยและช้าลง ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าการไม่เติมเกลือลงไปในระบบจะให้ผลการตกตะกอนเจลาตินดีที่สุด



ภาพที่ 20 ผลของค่า Ionic strength ต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน

8. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาติน

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาตินโดยขั้นแรกจะต้องตกตะกอนโปรตีนที่แขวนลอยอยู่ออกจากวัตถุดิบก่อน โดยนำน้ำบิบปลาพูนามาปรับ pH 1 และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปหมუნเหวี่ยง จะได้เป็นน้ำบิบปลาพูนาน้ำที่ตกตะกอนโปรตีนแล้ว หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ร้อยละของเจลาตินในวัตถุดิบ แล้วจึงปรับความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ โดยปรับระดับความเข้มข้นของเจลาตินเป็น 0.12% และใช้แคปซาคาราจีแนน 0.04% (อัตราส่วน 3:1) ปรับ pH ของสารละลายเท่ากับ pH 2 และใช้โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 5 ระดับตั้งแต่ 0-20 องศาเซลเซียส นำไปหมუნเหวี่ยงที่ความเร็ว 2000 g เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณของ hydroxyproline เพื่อหาปริมาณร้อยละของเจลาตินเหลือที่อยู่เพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้ ปัจจัยที่ใช้ในการพิจารณาคือร้อยละของปริมาณเจลาตินที่ตกตะกอนได้ ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน (%)
0	100.00±0.00 ^a
5	95.23±8.25 ^{ab}
10	85.71±0.00 ^b
15	66.66±8.24 ^c
20	47.61±8.25 ^d

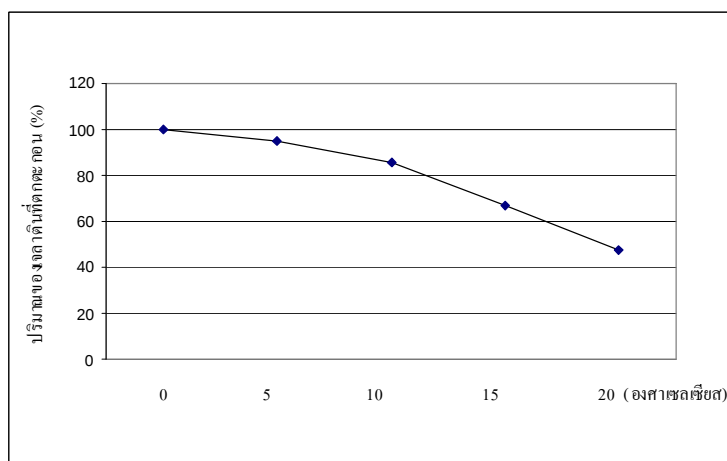
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 10 แสดงให้เห็นว่าการตกตะกอนเจลาตินที่อุณหภูมิต่ำจะสามารถตกตะกอนได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูงโดยพบว่าที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส จะสามารถตกตะกอนเจลาติน ได้มากที่สุดรองลงมาคือ 5, 10, 15 และ 20 องศาเซลเซียสตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p\leq 0.01$)

Sadowska and Kolodziejska (2004) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตกตะกอนคอลลาเจนคือที่ 0 องศาเซลเซียส และพบว่าอุณหภูมิที่สูงกว่า 15 องศาเซลเซียส จะทำให้คอลลาเจนเกิดการเสียสภาพ และตกตะกอน ได้น้อย

จากรายงานดังกล่าวให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกัน โดยจะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิต่ำสามารถตกตะกอนได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูงโดยที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสสามารถตกตะกอนเจลาตินได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการตกตะกอนให้สูงขึ้นจะมีผลทำให้การตกตะกอนเกิดขึ้นได้น้อยลง และจะลดลงมากเมื่ออุณหภูมิที่ใ้มากกว่า 15 องศาเซลเซียส เช่น ที่ระดับ 15 องศาเซลเซียส สามารถตกตะกอนเจลาติน ได้ 66.66 เปอร์เซ็นต์ และที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สามารถตกตะกอนเจลาตินได้เพียง 47.61 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุที่อุณหภูมิต่ำสามารถตกตะกอนเจลาตินได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูงเนื่องมาจากว่า ตามปกติการตกตะกอนของเจลาตินนั้นเกิดจากการรวมตัวกันของเจลาตินและแคลปาคาราจีแนนเกิดเป็นกลุ่มก้อนโปรตีนระหว่างโปรตีนกับแคลปาคาราจีแนนที่มี

ขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อน้ำหนักสะสมเพิ่มขึ้นก็จะเกิดการตกตะกอนลงมาในที่สุด ดังนั้น ณ อุณหภูมิที่สูงคือที่อุณหภูมิมากกว่า 15 องศาเซลเซียส จะมีผลทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ โดยความร้อนดังกล่าวจะไปทำลายพันธะไฮโดรเจน และพันธะไฮโดรโฟบิกภายในซึ่งเป็นพันธะที่เชื่อมระหว่างกรดอะมิโนแต่ละตัวภายในโมเลกุล ทำให้น้ำหนักโมเลกุลน้อยลง จึงส่งผลให้การตกตะกอนเกิดขึ้นได้น้อยลงตามไปด้วย (Sadowska and Kolodziejaska, 2004) รวมทั้ง ณ อุณหภูมิที่สูงคือที่อุณหภูมิมากกว่า 15 องศาเซลเซียส จะทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ กลายเป็นโมเลกุลย่อยหลายๆ โมเลกุล ซึ่งในการตกตะกอนจะต้องใช้แคลปการจีแนในการจับกับกับเจลาตินแต่ละโมเลกุล (Carr, 1993) ดังนั้นการที่เจลาตินถูกตัดพันธะด้วยความร้อนเป็น โมเลกุลย่อยหลายโมเลกุลนั้น การตกตะกอนก็จะต้องใช้แคลปการจีแนมากขึ้นเพื่อที่จะจับกับ โมเลกุลของเจลาตินที่ถูกตัดเป็นโมเลกุลย่อยๆ เหล่านั้น จึงทำให้ที่อุณหภูมิค่าสามารถตกตะกอนเจลาติน ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าการตกตะกอนที่ 0 องศาเซลเซียส จะให้ผลในการตกตะกอนเจลาตินดีที่สุด



ภาพที่ 21 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน

9. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตกตะกอนเจลาตินระหว่างแคลปการจีแน (Lab grade) และแคลปการจีแน (Food grade)

จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตกตะกอนเจลาตินระหว่างแคลปการจีแน และแคลปการจีแน (Food grade) โดยทำการทดลองที่สภาวะที่ควบคุมให้เหมือนกัน โดยขั้นแรกจะต้องตกตะกอน โปรตีนที่แขวนลอยอยู่ออกจากวัตถุดิบก่อน โดยนำน้ำบีบปลาทูนามาปรับ

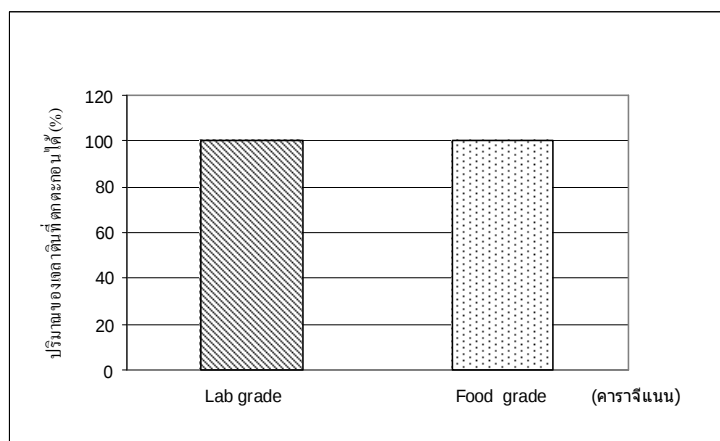
pH 1 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีแล้วจึงนำไปหมუნเหวี่ยง จะได้เป็นน้ำบีบปลาที่ตกตะกอนโปรตีนแล้ว หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ร้อยละของเจลาตินในวัตถุดิบ แล้วจึงปรับความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ โดยปรับระดับความเข้มข้นของเจลาตินเป็น 0.12% และใช้แคปซูลการจีแนน 0.04% ทั้ง 2 ชนิด (อัตราส่วน 3:1) ปรับ pH ของสารละลายเท่ากับ pH 2 และใช้โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส นำไปหมუნเหวี่ยงที่ความเร็ว 2000 g เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสด้านบน ไปวิเคราะห์หาปริมาณของ hydroxyproline เพื่อหาปริมาณร้อยละของเจลาตินที่เหลืออยู่เพื่อนำไปคำนวณหาร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้ โดยปัจจัยที่ใช้ในการพิจารณาคือร้อยละของปริมาณเจลาตินที่ตกตะกอนได้ ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตกตะกอนเจลาตินระหว่างแคปซูลการจีแนน (Lab grade) และแคปซูลการจีแนน (Food grade)

ชนิดของแคปซูลการจีแนน	ปริมาณการตกตะกอนของเจลาติน (%)
แคปซูลการจีแนน (Lab grade)	100.00±0.00 ^{ns}
แคปซูลการจีแนน (Food grade)	100.00±0.00 ^{ns}

หมายเหตุ ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 11 แสดงให้เห็นว่าการใช้แคปซูลการจีแนน (Lab grade) และแคปซูลการจีแนน (Food grade) มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าการใช้แคปซูลการจีแนนเพื่อตกตะกอนเจลาตินในระดับอุตสาหกรรมมีความเป็นไปได้ เนื่องจากการใช้แคปซูลการจีแนน (Food grade) ซึ่งมีราคาถูกกว่าให้ผลในการตกตะกอนเจลาตินไม่แตกต่างกับแคปซูลการจีแนน (Lab grade) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวจะเป็นสิ่งยืนยันและเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป



ภาพที่ 22 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดเจลาตินระหว่าง
แคปซูลคาราจีแนน (Lab grade) และแคปซูลคาราจีแนน (Food grade)

10. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งเจลาติน

นำสารละลายเจลาตินที่ได้จากการทดลองข้างต้นมาทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการอบแห้ง 3 ระดับ คือ 2, 3, และ 4 ชั่วโมง แล้วนำไปตรวจสอบคุณสมบัติต่อไปนี้คือค่าความแข็งแรงของเจล ค่าความหนืด และ ความชื้น ตามวิธีของ British standard 757-1975

ตารางที่ 12 คุณสมบัติของเจลาตินหลังการอบแห้ง

เวลาในการ อบแห้ง (ชั่วโมง)	ความชื้น (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงของเจล (g.cm ⁻²)	ค่าความหนืด (cP.)
2	11.44±0.66 ^a	987.40±30.62 ^a	13.27±0.37 ^a
3	8.38±0.36 ^b	952.06±33.39 ^{ab}	12.98±0.18 ^a
4	6.77±0.28 ^c	920.96±29.85 ^b	12.03±0.07 ^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดังมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

จากตารางที่ 12 พบว่า สำหรับการอบแห้งเจลาตินที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการอบแห้งมีผลต่อปริมาณความชื้นของเจลาตินกล่าวคือ ความชื้นของเจลาตินจะลดลงเมื่อใช้ระยะเวลาในการอบแห้งเพิ่มขึ้น โดยที่การอบแห้งเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะทำให้เจลาตินมีปริมาณความชื้นมากที่สุด รองลงมาคือ การอบแห้งเป็นเวลา 3 และ 4 ชั่วโมง โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) โดยทั่วไปแล้วเจลาตินจะมีปริมาณความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 10-12 ปริมาณความชื้นนี้สามารถเปลี่ยนแปลงได้อยู่ในช่วงร้อยละ 7-15 ได้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการอบแห้ง

ระยะเวลาการเก็บรักษา (The Committee on Textbooks of The American Meat Institute, 1985)

ดังนั้นจากผลการทดลองการอบแห้งเจลาตินที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2, 3 และ 4 ชั่วโมงนั้นให้ค่าความชื้นอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของเจลาตินหลังการอบแห้งพบว่า การอบแห้งเจลาตินที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เจลาตินที่ได้มีสีเหลืองเข้มน้อยที่สุด ส่วน เจลาตินที่อบแห้ง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เจลาตินที่ได้จะมีสีเหลืองเข้มมากกว่าการอบแห้งเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ส่วนการอบแห้ง 4 ชั่วโมงจะทำให้เจลาตินที่ได้มีสีเหลืองเข้มมากที่สุด

เมื่อพิจารณาความแข็งแรงของเจล และความหนืดของเจลาตินหลังการอบแห้งนั้นพบว่า ระยะเวลาในการอบแห้งมีผลต่อค่าความแข็งแรงของเจล และความหนืดของเจลาติน คือ เจลาตินจะมีค่าความแข็งแรงของเจล และความหนืดลดลงเมื่อใช้ระยะเวลาในการอบแห้งเพิ่มขึ้น โดยเจลาตินที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุด รองลงมาเป็นเจลาตินที่อบแห้ง เป็นเวลา 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่าความหนืดหลังการอบแห้งนั้น พบว่า เจลาตินที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีค่าความหนืดมากที่สุด รองลงมาเป็นเจลาตินที่อบแห้ง เป็นเวลา 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยที่การอบแห้งเป็นเวลา 2 และ 3 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับการอบแห้ง 4 ชั่วโมง

อุณหภูมิและระยะเวลามีผลต่อค่าความแข็งแรงของเจลและความหนืดของเจลาตินเนื่องจาก สารละลายเจลาตินมีความไวต่ออุณหภูมิ ดังนั้น อุณหภูมิที่ใช้ต้องต่ำ เนื่องจากการใช้อุณหภูมิที่สูงเกินไปจะไปมีผลทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลที่ได้ต่ำ เพราะอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะทำให้พันธะเปปไทด์ภายในโมเลกุลของเจลาตินเกิดการย่อยสลายขึ้น ทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลต่ำ เช่นเดียวกับค่าความหนืดซึ่งเป็นคุณสมบัติที่รองลงมาจากความแข็งแรงของเจลและมีความสัมพันธ์

กัน กล่าวคือเจลาตินที่มีค่าความแข็งแรงของเจลสูงก็จะมีค่าความหนืดสูงด้วย (Ward, 1977) ดังนั้นคุณสมบัติทั้งสองจึงเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของเจลาติน

ดังนั้นเมื่อพิจารณาปริมาณความชื้น ค่าความแข็งแรงของเจล และค่าความหนืดของเจลาตินที่ได้หลังจากการอบแห้งแล้ว พบว่า การอบแห้งเจลาตินที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะให้คุณลักษณะของเจลาตินดีที่สุด คือ ลักษณะทางกายภาพของเจลาตินที่ได้มีสีเหลืองเข้ม น้อยที่สุดและมีปริมาณความชื้นอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานก็จะต้องมีความชื้นได้ไม่เกิน ร้อยละ 16 (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2531) รวมทั้งการอบแห้งที่ระยะเวลาดังกล่าวให้ค่าความความแข็งแรงของเจล และค่าความหนืดดีที่สุด

11. วิเคราะห์คุณภาพของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

ตารางที่ 13 การเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า กระดุกปลากระพงแดง และเจลาตินทางการค้า

สมบัติ	เจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า	เจลาตินจากกระดุกปลากระพงแดง*	เจลาตินทางการค้า*
ค่าความแข็งแรงของเจล(g.cm ⁻²)	987.40	2265.10	631.40
ค่าความหนืด (cP.)	13.27	20.30	7.33
ความชื้น (ร้อยละ)	11.44	13.50	14.20
เถ้า (ร้อยละ)	0.45	1.93	0.35
ความเป็นกรด-เบส	5.87	6.63	5.20
สี L*(ความสว่าง)	72.43	48.52	87.83
a* (สีแดง)	0.63	0.53	0.30
b* (สีเหลือง)	13.36	9.94	22.12

* ที่มา : วริศรา (2545)

จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของเจลาคตินที่ผลิตจากน้ำบีบ
 ปลายุน่าพบว่าเจลาคตินที่ได้มีค่าความแข็งแรงของเจล 987.40 g.cm^{-2} มีความชื้นและเถ้าร้อยละ 11.44
 และ 0.45 ตามลำดับ ซึ่งคุณสมบัติของเจลาคตินที่ได้จากน้ำบีบปลายุน่าเป็นไปตามมาตรฐานของ
 เจลาติน คือ กำหนดให้เจลาคติน โดยทั่วไปมีปริมาณความชื้นและเถ้าได้ไม่เกินร้อยละ 16 และ 2.0
 ตามลำดับ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2531)

จากตารางที่ 13 ได้ทำการเปรียบเทียบสมบัติของเจลลาตินที่ผลิตได้จากน้ำบีบปลาทุ่นำ กระดุกปลากระพงแดงและเจลลาตินทางการค้า พบว่าคุณสมบัติในด้านของค่าความแข็งแรงของเจล เจลาตินจากกระดุกปลากระพงแดงให้ค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุด รองลงมาเป็นเจลลาตินจากน้ำ บีบปลาทุ่นำ และเจลลาตินทางการค้าตามลำดับ

สำหรับปริมาณความชื้นของเจลาตินทั้ง 3 ชนิด เจลาตินจากน้ำบีบปลาหมึกมีความชื้นน้อยที่สุด รองลงมาเป็นเจลาตินจากกระดูกปลากะพงแดง และเจลาตินทางการค้า ตามลำดับ ซึ่งความชื้นที่แตกต่างกันนั้นเนื่องมาจาก ขึ้นอยู่กับสาเหตุกับสาเหตุหลายประการคือ ระยะเวลาและอุณหภูมิในการอบแห้ง ภาชนะที่บรรจุเจลาติน ปริมาณความชื้นของห้องที่เก็บรักษา และระยะเวลาในการเก็บรักษา (Levenberger, 1991) ปริมาณเถ้า พบว่าเจลาตินจากกระดูกปลากะพงแดง มีปริมาณเถ้าสูงที่สุด รองลงมาเป็นเจลาตินจากน้ำบีบปลาหมึก และเจลาตินทางการค้า ตามลำดับ โดยเจลาตินทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณเถ้าอยู่ในเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ที่กำหนดให้เจลาตินมีเถ้าได้ไม่เกินร้อยละ 2 และเจลาตินที่มีคุณภาพสูงจะมีปริมาณเถ้าน้อยกว่าร้อยละ 0.5 (Harris, 1990) ค่า pH พบว่า เจลาตินทั้ง 3 ชนิด มีค่า pH อยู่ในเกณฑ์ที่ดีคือ อยู่ในช่วง 4.0-8.0 หากว่าค่า pH ต่ำกว่า 4.0 หรือมากกว่า 8.0 จะมีผลให้ค่าความแข็งแรงของเจลต่ำลง (Choi and Regenstein, 2000)

ในด้านสีของเจลาติน ตามมาตรฐานที่ดีต้องมีลักษณะสีเหลืองอ่อนใสเป็นประกาย มีตะกอนเล็กน้อย ส่วนเจลาตินที่มีคุณภาพต่ำจะมีสีน้ำตาลและมีตะกอนจำนวนมากและเมื่อละลายน้ำเจลาตินที่ได้จากน้ำบีบปลาทุ่นจะมีสีเหลือง มีความขุ่นเล็กน้อย มีค่าความสว่างเท่ากับ 72.43 ซึ่งมีความใสมากกว่าเจลาตินจากกระดูกปลากะพงแดง แต่น้อยกว่าเจลาตินทางการค้า

ตารางที่ 14 สมบัติทางเคมีกายภาพของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

สมบัติทางเคมีกายภาพ	ปริมาณ (ร้อยละ)
โปรตีน	84.14±2.10
ไขมัน	0.60±1.12
เถ้า	0.45±0.23
ความชื้น	11.44±0.66
คาร์โบไฮเดรต	3.41±0.00

จากตารางที่ 14 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าพบว่า องค์ประกอบที่มีมากที่สุดคือ โปรตีน รองลงมาคือ ความชื้น เถ้า คาร์โบไฮเดรต และ ไขมัน ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าองค์ประกอบที่มีมากที่สุดในเจลาตินคือโปรตีน เนื่องจากเจลาตินเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งได้จากการไฮโดรไลซิสคอลลาเจนในส่วนต่างๆของสัตว์ เช่น หนัง เอ็น และกระดูก เป็นต้น ดังนั้นจึงทำให้เจลาตินมีองค์ประกอบเป็น โปรตีนมากที่สุด

วรศรา (2545) รายงานว่า องค์ประกอบทางเคมีของเจลาตินที่สกัดจากหนังของปลากะพงแดงมีปริมาณ โปรตีน ความชื้น เถ้า คาร์โบไฮเดรต และ ไขมัน คือ 84.0, 13.50, 1.93, 0.35 และ 0.25 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบรายงานดังกล่าวกับผลการทดลองที่ได้พบว่ามีค่าแตกต่างกันเล็กน้อยคือ เจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าจะมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตมากกว่าเจลาตินจากหนังปลากะพงแดง อาจเนื่องมาจากการผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าจะต้องใช้แคลปาคาราจีแนนในการตกตะกอนเจลาติน ซึ่งในกระบวนการแยกเจลาตินและแคลปาคาราจีแนนอาจแยกไม่สมบูรณ์ จึงทำให้ยังคงมีส่วนของแคลปาคาราจีแนนหลงเหลืออยู่ โดยแคลปาคาราจีแนนเป็นโพลีแซคคาไรด์ซึ่งจัดเป็น คาร์โบไฮเดรตจำพวกหนึ่งดังนั้นจึงทำให้เจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่ามีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตมากกว่าเจลาตินจากหนังปลากะพงแดง

ตารางที่ 15 สมบัติทางจุลชีววิทยาของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

จุลินทรีย์	ปริมาณจุลินทรีย์ของ เจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า	ปริมาณจุลินทรีย์ของ เจลาตินทางการค้า*
ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g.)	1.27×10^3	900
<i>Escherichia coli</i>	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>Salmonella sp.</i>	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i>	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>Clostridium perfringens</i>	ไม่พบ	ไม่พบ

* ที่มา: วรรณวิมล (2540)

จากผลการทดลองพบว่าเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่ามีปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 1.27×10^3 CFU/g ส่วนเจลาตินทางการค้ามีปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 900 CFU/g ซึ่งตามมาตรฐานของเจลาตินที่กำหนดโดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2531) อนุญาตให้มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในเจลาตินชนิดแห้งได้ไม่เกิน 1×10^3 CFU/g ส่วนของ USP กำหนดให้มีปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดไม่เกิน 3×10^3 CFU/g (Harris, 1990) ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองจึงอาจกล่าวได้ว่า หากอ้างอิงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2531) แล้วเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่านั้นมีปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่ามาตรฐานอยู่เล็กน้อย แต่เมื่ออ้างอิงตาม USP พบว่าผ่านเกณฑ์ของมาตรฐานที่กำหนดไว้ และในส่วนของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคนั้น ไม่พบ ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ของมาตรฐานที่กำหนดไว้ คือ เชื้อ *Escherichia coli* ต้องน้อยกว่า 3 MPN/g และจะต้องไม่พบ *Salmonella sp.*, *Clostridium perfringens* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวจะทำให้ผู้บริโภคมั่นใจได้ว่า ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพที่ดีและมีความปลอดภัยในการบริโภค ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการกำหนดให้มีการตรวจแบคทีเรียชนิดที่ก่อโรคในคน อย่างเช่น *Escherichia coli* ซึ่งพบได้ในอาหารหรือน้ำที่มีโอกาสปนเปื้อนจากอุจจาระของมนุษย์ โดยอาจเกิดจากการควบคุมระบบสุขลักษณะที่ไม่ดีหรือกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกต้อง โดยการบ่งชี้ดังกล่าวนอกจากจะเป็นการบอกถึงความสะอาดแล้วยังบอกถึงอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากแบคทีเรียชนิดอื่นที่พบในทางเดินอาหาร เช่น *Salmonella sp.* หากพบในอาหารแล้วบริโภคเข้าไปจะทำให้เกิดอาการ ท้องเสีย ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย มีไข้เล็กน้อย นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการติดเชื้อในกระแสเลือดด้วย จึงนับว่าเป็นแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ และเชื้อ

Clostridium perfringens ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดที่สร้างสปอร์ ก่อให้เกิดอาการทางประสาทโดยจะมีอาการชา, อัมพาต ส่วน *Staphylococcus aureus* จะทำให้เกิดอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน เป็นตะคริวที่ท้อง การปนเปื้อนในสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์มีสาเหตุมาจาก คนผู้สัมผัสและการจัดการด้านสุขลักษณะที่ไม่ดี เช่น คนงานมีบาดแผลที่ผิวหนัง ไม่มีการใช้ผ้าปิดจมูกในขณะที่ทำงาน (พงษ์เทพ, 2540)

จากตารางที่ 15 พบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าและเจลาตินทางการค้าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน แต่เจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าจะมีปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดค่อนข้างสูงกว่าเจลาตินทางการค้า ซึ่งอาจเนื่องมาจากว่าวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตเจลาตินนั้นได้มาจากกระบวนการผลิตน้ำมันปลาและปลาป่นซึ่งวัตถุดิบที่นำมาใช้นั้นได้มาจากเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปปลาทูน่า ในปัจจุบันนี้เศษเหลือจากอุตสาหกรรมปลาทูน่าที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตปลาป่นและน้ำมันปลาทูน่า จะรับครั้งละมากๆ ประมาณ 8-10 ตันต่อครั้ง การขนส่งเศษเหลือจากอุตสาหกรรมปลาทูน่ามิได้รับการดูแลเพื่อให้คงคุณภาพจนถึงกระบวนการผลิตสุดท้าย การเสื่อมเสียคุณภาพของวัตถุดิบจึงอาจเกิดขึ้นตั้งแต่การขนถ่ายวัตถุดิบขึ้นรถบรรทุก ซึ่งต้องใช้เวลานานถึง 3-4 ชั่วโมง เพื่อรอให้ได้ปริมาณมากพอ จึงทำให้มีการเสื่อมเสียทั้งทางเคมีและจุลินทรีย์เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสาเหตุของการเสื่อมเสียเกิดขึ้นหลายสาเหตุด้วยกัน ตั้งแต่การรวบรวมวัตถุดิบซึ่งต้องใช้ระยะเวลาที่นานในการรวบรวมเศษเหลือดังกล่าวเพื่อที่จะนำมาผลิตน้ำมันปลาและปลาป่นรวมทั้งในระหว่างการรวบรวมวัตถุดิบและการเคลื่อนย้ายมาสู่แหล่งผลิตขาดการปฏิบัติที่ดีในด้านของสุขลักษณะ ทำให้การปนเปื้อนและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็นไปได้ดี ทำให้วัตถุดิบมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูง ซึ่งจะส่งผลต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์สุดท้ายให้มีปริมาณสูงด้วย นอกจากการปนเปื้อนของวัตถุดิบเริ่มต้นแล้วการมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่สูงอาจเกิดจากเกิดการปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิต เนื่องจากไม่ได้ควบคุมอุณหภูมิตลอดกระบวนการผลิตทำให้เชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่แล้วสามารถเจริญเติบโตได้ดี ดังนั้นการใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษาวัตถุดิบจึงน่าจะเป็นวิธีที่ช่วยรักษาคุณภาพของวัตถุดิบให้มีความสดอยู่ได้นานขึ้นเพื่อให้เหมาะสมที่จะนำเศษเหลือดังกล่าวไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นต่อไป (พรทิพย์, 2537) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อแบคทีเรียของวัตถุดิบกับผลิตภัณฑ์สุดท้าย พบว่าปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีปริมาณน้อยกว่าในวัตถุดิบ โดยในวัตถุดิบมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 1.45×10^4 CFU/g ส่วนในผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 1.27×10^3 CFU/g จากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่ากระบวนการผลิตสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลงได้ เช่นในขั้นตอนของการปรับค่าพีเอชของน้ำบีบปลาทูน่า

เพื่อตกตะกอน โปรตีนที่แขวนลอยอยู่ออกไปโดยใช้กรด ซึ่งกรดมีผลในการช่วยลดปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด เนื่องจากแบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถทนต่อกรดและด่างได้ แต่อย่างไรก็ตามหากมีการควบคุมการผลิตที่ดี เช่น ควบคุมระยะเวลา และมีระบบป้องกันการปนเปื้อนที่ดีในระหว่างการผลิต รวมทั้งการเก็บรักษาเจลาตินที่ผลิตได้ให้อยู่ในสภาพดี ก็จะช่วยรักษาคุณภาพของเจลาตินได้อีกทางหนึ่ง

12. การทดสอบการยอมรับด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบการยอมรับด้านประสาทสัมผัสโดยนำเจลาตินที่ผลิตได้จากน้ำบีบปลาทูน่า มาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค โดยนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ขนมหวานในลักษณะเยลลี่ ทำการเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เยลลี่ที่ทำจากเจลาตินที่จำหน่ายในท้องตลาดและเยลลี่สำเร็จรูปยี่ห้อเบสท์ฟู้ด นำผลิตภัณฑ์เยลลี่ทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยให้คะแนนความชอบ (9-point Hedonic Scale) ช่วงคะแนน 1 (ไม่ชอบมากที่สุด) 9 (ชอบมากที่สุด) ในปัจจัยคุณภาพด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติและความชอบรวม โดยผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 20-30 คน ซึ่งผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ยคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เยลลี่สำเร็จรูป เยลลี่จากเจลาตินทางการค้า และเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

ผลิตภัณฑ์	ค่าเฉลี่ยคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส					
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
เยลลี่สำเร็จรูปยี่ห้อเบสท์ฟู้ด	7.70±0.80 ^a	7.43±1.04 ^{ns}	7.32±1.07 ^a	7.78±0.83 ^a	7.80±0.69 ^a	7.88±0.64 ^a
เยลลี่จากเจลาตินทางการค้า	7.65±0.87 ^a	7.45±0.82 ^{ns}	6.75±0.61 ^b	6.75±0.60 ^b	7.25±1.02 ^b	6.75±1.29 ^b
เยลลี่จากเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า	7.40±0.88 ^b	7.25±0.85 ^{ns}	6.45±0.60 ^b	6.45±0.60 ^b	7.00±0.65 ^c	6.55±0.60 ^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)
^{ns} มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

จากตารางที่ 16 พบว่าเซลล์สำเร็จรูปให้คะแนนด้านลักษณะปรากฏมากที่สุด รองลงมาเป็นเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินทางการค้าและเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า ตามลำดับ โดยที่เซลล์สำเร็จรูปและเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ทั้งสองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) กับเซลล์สำเร็จรูป ระดับคะแนนที่ได้ในด้านลักษณะปรากฏของเซลล์สำเร็จรูปเซลล์จากเจลลาตินทางการค้า และเซลล์จากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าจะอยู่ในระดับ 7.70, 7.65 และ 7.40 ตามลำดับ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านสีมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยพบว่า เซลล์สำเร็จรูปให้คะแนนด้านสีมากที่สุด รองลงมาเป็นเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินทางการค้า และเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า ตามลำดับ ระดับคะแนนที่ได้ในด้านสีของเซลล์สำเร็จรูปเซลล์จากเจลลาตินทางการค้า และเซลล์จากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าจะอยู่ในระดับ 7.43, 7.45 และ 7.25 ตามลำดับ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นพบว่า เซลล์สำเร็จรูปให้คะแนนด้านกลิ่นมากที่สุด รองลงมาเป็นเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินทางการค้าและเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า ตามลำดับ โดยที่เซลล์ที่ทำจากเจลลาตินทางการค้าและเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ทั้งสองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) กับเซลล์สำเร็จรูป ระดับคะแนนที่ได้ในด้านกลิ่นของเซลล์สำเร็จรูปเซลล์จากเจลลาตินทางการค้า และเซลล์จากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าจะอยู่ในระดับ 7.32, 6.75 และ 6.45 ตามลำดับ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติ พบว่า เซลล์สำเร็จรูปให้คะแนนด้านรสชาติมากที่สุด รองลงมาเป็นเซลล์จากเจลลาตินทางการค้าและเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า ตามลำดับ โดยที่เซลล์ที่ทำจากเจลลาตินทางการค้าและเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ทั้งสองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) กับเซลล์สำเร็จรูป ระดับคะแนนที่ได้ในด้านรสชาติของเซลล์สำเร็จรูปเซลล์จากเจลลาตินทางการค้า และเซลล์จากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่าจะอยู่ในระดับ 7.78, 6.75 และ 6.45 ตามลำดับ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะเนื้อสัมผัสมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยพบว่า เซลล์สำเร็จรูปให้คะแนนด้านลักษณะเนื้อสัมผัสมากที่สุด รองลงมาเป็นเซลล์จากเจลลาตินทางการค้าและเซลล์ที่ทำจากเจลลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า ตามลำดับ ระดับ

คะแนนที่ได้ในด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของเยลลี่สำเร็จรูป เยลลี่จากเจลาตินทางการค้า และเยลลี่จากเจลาตินจากน้ำบีบปลาห่านจะอยู่ในระดับ 7.80, 7.25 และ 7.00 ตามลำดับ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบรวม พบว่า เยลลี่สำเร็จรูปให้คะแนนด้านความชอบรวมมากที่สุด รองลงมาเป็นเยลลี่จากเจลาตินทางการค้าและเยลลี่ที่ทำจากเจลาตินจากน้ำบีบปลาห่าน ตามลำดับ โดยที่เยลลี่ที่ทำจากเจลาตินทางการค้าและเยลลี่ที่ทำจากเจลาตินจากน้ำบีบปลาห่าน มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ทั้งสองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) กับเยลลี่สำเร็จรูป ระดับคะแนนที่ได้ในด้านความชอบรวมของเยลลี่สำเร็จรูปเยลลี่จากเจลาตินทางการค้า และเยลลี่จากเจลาตินจากน้ำบีบปลาห่านจะอยู่ในระดับ 7.88, 6.75 และ 6.55 ตามลำดับ

สรุป

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูนพบว่า

1. สภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอน โปรตีนที่แขวนลอยอยู่ในน้ำบีบปลาทูน คือ ที่ระดับ pH เท่ากับ 1.0 เป็นเวลา 30 นาที และสภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาตินคือ การใช้อัตราส่วนระหว่างเจลาตินต่อแคลปคาร์ราจีแนในอัตราส่วน 3:1 ที่ pH เท่ากับ 2 ค่า Ionic strength เท่ากับ 0 ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส และพบว่า การใช้แคลปคาร์ราจีแน (Lab grade) และแคลปคาร์ราจีแน (Food grade) ให้ผลในการตกตะกอนเจลาตินไม่แตกต่างกัน

2. เจลาตินจากน้ำบีบปลาทูนมีค่าความแข็งแรงของเจล 987.4 g.cm^{-2} ความหนืด 13.27 cP. ความชื้นและแฉะร้อยละ 11.44 และ 0.45 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-เบส 5.87 ค่าสี L^* (ความสว่าง) เท่ากับ 72.43 a^* (สีแดง) เท่ากับ 0.63 และ b^* (สีเหลือง) เท่ากับ 13.36 เจลาตินจากน้ำบีบปลาทูนมีสมบัติทางเคมีกายภาพ ดังนี้ คือ โปรตีน ไขมัน เถ้า ความชื้น และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 8.14, 0.60, 0.45, 11.44 และ 3.41 ตามลำดับ มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด $1.27 \times 10^3 \text{ CFU/g}$ และไม่พบ *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium perfringens* ส่วนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเยลลี่ที่ทำจากเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน ด้านลักษณะปรากฏ สี และลักษณะเนื้อสัมผัส อยู่ในเกณฑ์ชอบปานกลาง ส่วนคุณลักษณะด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบรวมอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการปรับปรุงสีและกลิ่นของเจลลาตินที่ได้ เนื่องจากเจลลาตินที่ได้จะมีสีและกลิ่นที่ยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเท่าที่ควร
2. ควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของการปรับปรุงเจลของเจลลาตินที่ได้

เอกสารและสื่ออ้างอิง

- กรมศุลกากร. 2549. สถิติการส่งออกปลาป่นและน้ำมันปลาของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.2544-2548. แหล่งที่มา: <http://www.customs.go.th>, 15 กุมภาพันธ์ 2549.
- ชัยณรงค์ คันทพนิต. 2529. วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์. สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ. 276น.
- ณรงค์ นิยมวิทย์. 2538. องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร. คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 237น.
- นิติพงศ์ จิตร์โกชน. 2543. การผลิตแคลเซียมและเจลาตินจากเศษเหลือของโรงงานซูริมิ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พงษ์เทพ วิไลพันธ์. 2540. เอกสารประกอบการเรียนวิชาจุลชีววิทยาประมง. ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 152 น.
- พรทิพย์ แซ่เตีย. 2537. การศึกษาเบื้องต้นในการใช้เศษเหลือของอุตสาหกรรมปลาทูน่ากระป๋องเพื่อผลิตน้ำมันปลา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2531. มาตรฐานผลิตภัณฑ์เจลาติน. มอก. 802-2531
- เขวลักษณ์ สุรพันธ์พิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 135น.
- วรวิศา สุวรรณ. 2545. การผลิตเจลาตินจากกระดูกปลากะพงแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์. 2540. การผลิตเจลาตินจากหนังปลากะพงแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุทธีวัฒน์ เบญจกุล. 2536. **ซูรีมิและผลิตภัณฑ์จากซูรีมิ**. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัย
สงขลานครินทร์, สงขลา. 146 น.

อนันต์ชัย เขื่อนธรรม. 2534. **หลักการวางแผนการตลาด**. ภาควิชาสถิติ, คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 277 น.

องค์กรความร่วมมือไทย-เยอรมัน(GTZ) กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2537.
การแยกโปรตีนน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมปลากระป๋อง. สถาบันพัฒนาและฝึกอบรม
โรงงานต้นแบบ, ศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

Annon. 1996. A natural material with many applications. **Food Ingredient and Analysis
International** 18 (2): 26-27

AOAC. 1995. **Official Method of Analysis**. 14 th .ed., Assoc.Off. Anal. Chem., Washington,
D.C. 1141p.

Bligh, EG. And W. Dryer. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification.
Can. **J. Biochem. Physiol.** 37: 911-917

British Standards Institution (BS 757- 1975). 1975. **Method for Sampling and Testing Gelatin
(Physical and Chemical Method)** . British Standard Institution , London. 13p.

Brody,J. 1965. **Fishery by product Technology**. The Avi- Publishing Company, Inc., Westport.
234p.

Bronson, W.F. 1950. Technology and utilization of gelatin. **Food Tecch.** 5(1): 55-58

Carr, J.M. 1993. **Food Hydrocolloids Structure, Functional and Application Systems**. Bio-
Industry, Inc., Wisconsin. 15p.

Choi, S.S J.M and Regenstien. 2000. **Physiochemical and sensory characteristic of gelatin**
Journal. 65(2) : 194 of food Science -199p.

Devenyi, T. 1974. **Amino Acid, Peptide and protein: biochemical and immunochemical** .
techniques in protein. Elsevier Science Pub Co., New York. 343p.

Food Standard Agency. 2004. **Determination of Hydroxyproline content in Meat and Meat**
Product. 14p.

Giese, J. 1994. Protein as ingredients: Types, functions, applications. **Food Technology** 48
(10): 49-60p.

Harris, P. 1990. **Food Gel: Gelatin.** Elsevier Applied Science, London. 476p.

Jim- Kim – Soo, Ckoi- Duck-Jong and Koo-Geun-Jae. 1993a. Characteristics of yellowfin sole
and dover sole skins as processing material for gelatin. **Journal of the Korean**
Agricultural Chemical Society 36(4):290-295.

. 1993b. The suitable processing conditions
for gelatin preparation from Dover sole skin. **Journal of the Korean Agricultural**
Chemical Society 36(6):440-448.

. 1995. Effect of gelation condition on
physical properties of yellowfin sole ethanol fractional precipitation . **Journal of the**
Korean Agricultural Chemical Society 27(4):483-486.

Kruyt, H.R. 1969. **Colloid Science.** Elsevier publishing company, New York. 753p.

Lanier, T.C., MacDonald, G.A. and Scott, D.N. 1988. **Surimi technology workshop notes.**
Nelson, New Zealand, July 19-21, 1988. 131 p.

- Levenberger, B.H. 1991. Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins. **Food Hydrocolloids** 5(4) : 353-361.
- Magaret, W. 1997. **Food Experimental Perspectives**. Practice- Hall, Inc – Simon and Schisteria Viacom Company, New Jersey. 67p.
- Mann, I. 1962. **Animal by- Product : Processing and Utilization**. Food and Agriculture Organization of the United Nation. 246p.
- Marh, E.M. and G.F. Stewart. 1957. **Advanced in food research Volumn VII**. Academic Press Inc, Publishers. 404p.
- Morris, V.J. 1986. **Multicomponent gels**. In G.O. Philips, D.J. Wedlock, and P.A. Williams, Gums and stabilizers for the food industry 3. New York, London. 87-99 p.
- Moulton, C.R. 1984. **Meat though the microscope**. Institute of Meat Packing The University of Chicago, Chicago. 592 p.
- Nagai, T.,& Suzuki, N. 2000. Isolation of collagen from fish waste material skin, bone and fins. **Food Chemistry**, 68, 277-281
- Ockerman, H.W. 1988. **Animal by product processing**. Ellis Horwood International Publishers in Science and Technology. 366 p.
- Rother, J. 1994. Edible gelatin types, properties, use and application in the food industry. **Food Technology Europe** 1(5) : 32-42
- Sadowska, M., and Kolodziejska, I. 2004. Optimisation of conditions for precipitation of collagen from solution using K-carrageenan. Studies on collagen from the skin of Baltic cod (*Gadus morhua*). **Food chemistry**.

- Sadowska, M., Gutowska, J., & Malesa, M. 2004. The effect of glycosoaminoglycans on reconstitution of collagen fibrils. **Polish Journal of food and Nutrition Science**.
- Satas, D. 1991. **Coatings Technology Handbook**. Mercel Dekker, Inc., New York. 284p.
- Scope, K. 1994. **Protein purification principle and Practice**. La Trobe University. Australia. 71-100 p.
- The Committee on Textbooks of The American Meat Institute. 1985. **By-Products of The Meat Packing Industry**. Institute of Meat Packing University of Chicago, Chicaco. 418 p.
- Trius, A., J. G. Sebranek, R.E. Rust and J. M. Carr. 1994. Carrageenan in beaker sausage as effect By pH and sodium tripolyphosphate. **J. Food Sci.** 59 : 948-951.
- Ward, A.G., and A. Courts . 1977. **The science and technology of gelatin Academic Press** , London.564 p.
- Whistler R. and J.R. Daniel. 1990. **Function of polysaccharides in foods**, 395-423 p.
- Wood, G. C. (1960). The formation of fibrils from collagen solutions. 3 effect of chondroitin sulphate and some other naturally occurring polyanions on the rate of formation. **The biochemical journal**, 75, 605-612.
- Yoshimaru, K, M. Terashima, D.Hozan, T.Ebato, Y. Nomura, Y. Ishii and K. Shirai. 2000. Physical properties of shark gelatin compared with pig gelatin. **J. of Agricultural and Food Chemistry** 48 (6) : 2023-2027.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยอบในตู้ไฟฟ้า (AOAC, 1995)

อุปกรณ์

1. ตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
2. ภาชนะหาความชื้น
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. อบอุ่นสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่าอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้วนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำเข้าตู้อบอีก และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{100 \times \text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Bligh and Dryer, 1959)

อุปกรณ์

1. เครื่องปั่นตัวอย่าง
2. ชุดเครื่องกรองแบบ suction
3. กระดาษกรอง
4. เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างปริมาณ 100 กรัม ผสมกับคลอโรฟอร์ม (CHCl_3):เมทานอล (MeOH) ในอัตราส่วน 100 มิลลิลิตร : 200 มิลลิลิตร
2. นำส่วนตัวอย่างจากข้อ 1 ไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน
3. เติม คลอโรฟอร์ม (CHCl_3) 100 มิลลิลิตร แล้วปั่นต่อไปเป็นเวลา 30 นาที
4. กรองแบบ suction ด้วยกระดาษกรอง Whatman
5. นำของแข็งที่ได้จากการกรองเติม คลอโรฟอร์ม (CHCl_3) 100 มิลลิลิตร แล้วปั่นต่อไปเป็นเวลา 30 นาที
6. ชะด้วย คลอโรฟอร์ม (CHCl_3) 50 มิลลิลิตร
7. รวมส่วนของของเหลวทั้งหมดที่ได้มาใส่ในกรวยแยกตั้งทิ้งไว้ข้ามคืนในที่มืด
8. แยกส่วนของน้ำมันออกจากน้ำด้วยกรวยแยกใส่ภาชนะที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
9. นำไประเหยเอาส่วนที่เป็นน้ำออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (evaporator)
10. นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
11. ตั้งทิ้งไว้เย็นในโถดูดความชื้น
12. ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = 100 \times \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ใช้วิธีเจลดาล (AOAC, 1995)

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มิลลิลิตร
2. ชุดกลั่นโปรตีน (semi- microdistillation apparatus)
3. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร (volumetric flask)
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask)
5. ปิเปต ขนาด 5, 10 มิลลิลิตร (Volumetric pipett)
6. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
7. ลูกแก้ว
8. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยา ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) 1 ส่วนต่อ โพแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)

9 ส่วน

3. สารละลายของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และ โซเดียมไฮโอซัลเฟต เข้มข้นร้อยละ 60 ซึ่ง
สารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัม และ โซเดียมไฮโอซัลเฟต 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับ
ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น ร้อยละ 4 โดยละลายกรดบอริก 4 กรัม ละลายในน้ำ
กลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
5. ละลายกรดเกลือ 0.02 นอร์มัล
6. อินดิเคเตอร์ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution ซึ่งเมทิลีนบลู (methylene
blue) 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล (ethanol) 200 มิลลิลิตร และซังเมธิลเรด (methyl red) 0.05 กรัม
ละลายในเอทานอล 50 มิลลิลิตร เวลานำมาผสมในอัตราส่วน stock solution 1 ส่วน : เอทานอล
1 ส่วน : น้ำ 2 ส่วน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหารบนกระดาดกรอง ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร
3. ใส่ลูกแก้ว 2 เม็ด นำไปย่อยบนเตาในตู้ควันทันจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยให้เย็น
4. เติมน้ำกลั่นร้อนลงไปล้างบริเวณคอขวดให้ทั่ว และให้ความร้อนต่อไปจนเกิดควันของกรดซัลฟูริก ปล่อยให้เย็น
5. นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยโปรตีนให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
6. จัดอุปกรณ์กลั่น
7. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์ แล้วนำไปกรองรับของเหลวที่จะกลั่นโดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควมแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้
8. คูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตขนาดความจุ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มิลลิลิตร
9. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควมแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ
10. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือ ที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มัล จะให้จุดยุติเป็นสีม่วง
11. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

การคำนวณ

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

โดยที่

- a = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้เป็นมิลลิลิตร
 B = ปริมาณของสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับ blank เป็นมิลลิลิตร
 N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือเป็นนอร์มัล
 W = น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม
 Factor = ตัวเลขที่เหมาะสม 6.25
 (น้ำหนักกรัมสมมูลของไนโตรเจน = 14.007)

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1995)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. เเผาเครื่องกระเบื้องเคลือบ ในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตช์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิเตาเผาตกลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. เเผาซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นข้อ 1 จนได้น้ำหนักของผลต่างทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่รู้น้ำหนักที่แน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และกระทำเช่นเดียวกันกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = 100 \times \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5. วิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธีการคำนวณ จะต้องหาองค์ประกอบทางเคมีอย่างอื่นเป็นร้อยละก่อน ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมันและเถ้า แล้วนำค่าทั้งหมดมารวมกัน ผลต่างระหว่าง 100 กับค่ารวมของ ความชื้น โปรตีน ไขมันและเถ้า จะเป็นค่าของคาร์โบไฮเดรต

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)} = 100 - (\text{ความชื้น} + \text{โปรตีน} + \text{ไขมัน} + \text{เถ้า}) (\%)$$

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์หาปริมาณไฮดรอกซีโปรลีน

การวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีโปรตีน (Food Standard Agency, 2004)

1. อุปกรณ์

- 1.1 Electric meat mincer
- 1.2 Round หรือ flat-bottomed hydrolysis flask ความจุประมาณ 200 มิลลิลิตร
- 1.3 ตู้อบ (hot air oven) ใช้ที่ความร้อน 105 ± 1 องศาเซลเซียส
- 1.4 กระดาษกรอง (เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 12.5 เซนติเมตร)
- 1.5 เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)
- 1.6 Aluminium foil
- 1.7 water bath (ใช้ที่ 60 ± 0.5 องศาเซลเซียส)
- 1.8 Spectrometer ที่ความยาวคลื่น $558 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$
- 1.9 Glass cell (ขนาด 10 มิลลิลิตร)
- 1.10 เครื่องชั่ง (สามารถชั่งได้ 0.001 กรัม)
- 1.11 Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 1.12 Watch glasses ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร

2. สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

- 2.1 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 3 mol/l

เติมน้ำกลั่นปริมาตร 750 มิลลิลิตร ลงไปในขวดปรับปริมาตรขนาด 2 ลิตร หลังจากนั้นเติมกรดซัลฟูริกปริมาตร 320 มิลลิลิตร ลงไปช้าๆ ตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 2 ลิตร

- 2.2 Buffer solution (pH 6.8)

สารที่ใช้

- 2.2.1 citric acid monohydrate ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{H}_2\text{O}$) 26 กรัม
- 2.2.2 Sodium hydroxide 14 กรัม
- 2.2.3 Anhydrous sodium acetate [$\text{Na}(\text{CH}_3\text{CO}_2)$] 78 กรัม

ละลายสารดังกล่าวในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เทใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วเติม propan-1-ol จำนวน 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรจนได้ 1 ลิตร (เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยสามารถเก็บไว้ได้อย่างน้อย 1 สัปดาห์)

2.2 Chloramine-T reagent

ละลาย Sodium N-chloro-p-toluene sulphonamide trihydrate (chloramines-T) 1.41 กรัม ใน buffer solution 100 มิลลิลิตร (เตรียมก่อนใช้)

2.3 Color reagent

ละลาย p-dimethylaminobenzaldehyde 10 กรัม ใน perchloric acid solution 35 มิลลิลิตร และเติม propan-2-ol ปริมาตร 65 มิลลิลิตร โดยเติมอย่างช้าๆ (เตรียมในวันที่ต้องใช้)

การเตรียม p-dimethylaminobenzaldehyde ให้บริสุทธิ์ โดยการเติมในเอทานอล (ethanol) 70% (v/v) ร้อน และตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และนำไปเก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วกรองด้วย Buchner funnel ล้างด้วยเอทานอล (ethanol) 70%(v/v) เล็กน้อย แล้วล้างด้วยเอทานอล (ethanol) 70%(v/v) ร้อนอีกครั้ง เติมน้ำเย็นแล้วเขย่า ทำซ้ำจนมีลักษณะเหมือนนมผง หลังจากนั้นล้างด้วยเอทานอล (ethanol) 50%(v/v) และทำให้แห้งในโถดูดความชื้น

2.5 Hydroxyproline, standard solution

ละลาย 4-hydroxypyridine- α -carboxylic acid (hydroxyproline) 50 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid solution) จำนวน 1 หยด (เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยสามารถเก็บไว้ได้ 1 เดือน)

ในวันที่ใช้ให้ใช้ stock solution ที่เตรียมไว้ 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนได้ 500 มิลลิลิตร และเตรียม 4 ความเข้มข้น โดยนำสารละลายจากขั้นแรกมา 10, 20, 30 และ 40 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของ hydroxyproline เป็น 0.5 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$, 1.5 $\mu\text{g/ml}$ และ 2 $\mu\text{g/ml}$

3. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดลอง

3.1 ตัวอย่างที่ใช้ (meat and meat product)

ตัดตัวอย่างให้ได้ขนาด 0.5 เซนติเมตร ยาว 8 มิลลิเมตร โดยตัดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างให้มิดชิด โดย seal หรือ vacuum pack โดยใช้ film ที่กันความร้อนได้ หลังจากนั้นให้ความร้อนไม่ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นก่อนทำขั้นตอนต่อไป

3.2 Cooked meat และ Cooked meat product

บดตัวอย่างด้วย homogenizer เก็บตัวอย่างในภาชนะที่ปิดสนิท ควรเตรียมก่อนวิเคราะห์ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

4. วิธีการทดลอง

4.1 Test portion

ชั่งตัวอย่างให้ได้ 100 กรัม แล้วนำไปย่อย อย่าให้ตัวอย่างติดข้างหลอดย่อย

4.2 การย่อย

4.2.1 เติมกรดซัลฟูริกตามที่เตรียมใน (2.1) ลงไป 30 มิลลิเมตร ปิดฝาให้สนิทด้วย watch glass และตั้งบน hot air oven ที่ 105 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

4.2.2 กรองด้วยกระดาษกรอง ในขวดปริมาตร 250 มิลลิเมตร ล้างกระดาษกรองด้วยกรดซัลฟูริกที่เตรียมใน (2.1) และปริมาตรจนได้ 250 มิลลิตร

4.3 การวัดค่าการดูดกลืนแสง

4.3.1 ใช้ปิเปตดูดสารละลายข้างต้นที่เตรียมไว้จาก (4.2.2) โดยเจือจางปริมาณของ hydroxyproline ในตัวอย่างให้ได้ $0.5 \mu\text{g/ml}$ - $2 \mu\text{g/ml}$ ด้วยน้ำกลั่น

หมายเหตุ โดยส่วนมากปริมาตรที่ปิเปตมาจะเป็น 5-25 มิลลิลิตร ขึ้นอยู่กับปริมาตรของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ในตัวอย่าง

4.3.2 ดูดสารจาก (4.3.1) มา 4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองและเติม chloramines-T reagent 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที

4.3.3 เติม color reagent 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันและปิดด้วย foil

4.3.4 นำไปวางใน water bath อย่างรวดเร็ว ตั้งอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

4.3.5 ทำให้เย็น โดยใช้น้ำไหลเป็นเวลาอย่างน้อย 3 นาที และเก็บที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

4.3.6 วัดค่า absorbance ที่ $558 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$ ใน glass cell

4.3.7 วัดค่า absorbance ของ blank solution และอ่านปริมาตร hydroxyproline จาก calibration graph

4.4 blank test

ทำตั้งแต่ขั้นตอน (4.3.2-4.3.7) โดยใช้น้ำกลั่นแทน

หมายเหตุ ถ้าค่า absorbance ของ blank solution มากกว่า 0.045 จะต้องเตรียม color reagent ใหม่ ถ้าไม่เกินแสดงว่า p-dimethylaminobenzaldehyde บริสุทธิ์

4.5 calibration curve

plot ค่า absorbance ที่วัดได้และค่าของ blank เทียบกับความเข้มข้นของ standard hydroxyproline solution จะได้ค่า c หรือสร้างกราฟในโปรแกรม excel จะได้สมการ แล้วจึงแทนค่า absorbance ที่วัดได้ลงในสมการเพื่อคำนวณค่า c

หมายเหตุ ต้องทำ Calibration curve ใหม่ทุกครั้งในการทำแต่ละครั้ง

5. การคำนวณปริมาณ hydroxyproline

$$\text{คำนวณ hydroxyproline content จากสูตร } wh = \frac{6.25 \cdot c}{m \times v}$$

เมื่อ wh = ปริมาณ hydroxyproline (%น้ำหนัก)

c = ความเข้มข้นของ hydroxyproline ใน micro glass/ml ของตัวอย่างจากการย่อย
ที่ diluted โดยอ่านจาก calibration curve

m = ปริมาณ (g) ของตัวอย่างที่ใช้

v = ปริมาณ (ml) ของส่วนของตัวอย่างที่ย่อยแล้วนำมาจาก (4.3.1)

6. การคำนวณปริมาณเจลาติน

สร้าง calibration graph ของเจลาติน โดยการใช้เจลาตินที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอน ไปวัดค่า absorbance แล้วนำค่า absorbance ที่ได้สร้างสมการใน โปรแกรม excel แล้วจึงแทนค่าในสมการ เพื่อ คำนวณค่า hydroxyproline ต่อเจลาตินร้อยละ 1 ดังนั้นการคำนวณหาปริมาณของเจลาตินในแต่ละตัวอย่างจะต้องหาปริมาณของ hydroxyproline ก่อน แล้วจึงนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของเจลาติน

7. การคำนวณร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้

$$\text{คำนวณจากสูตร } W = \frac{(B-A)}{B \times 100}$$

เมื่อ W = ร้อยละของเจลาตินที่ตกตะกอนได้ (%)

A = ความเข้มข้นของ hydroxyproline ในตัวอย่าง (%)

B = ความเข้มข้นของ hydroxyproline ในตัวอย่างควบคุม (%)

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุมคือตัวอย่างเดิมเฉพาะสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.5 โมลาร์ โดยไม่มีการเติมแคลปการาจีแนน

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

วิธีตรวจสอบทางจุลชีววิทยา

1. วิธีตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (AOAC, 1995)

1.1 การเตรียมตัวอย่างทำโดย ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ (aseptic technique) แล้วเติมสารละลายเจือจาง (peptone water) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไป 225 มิลลิลิตร ปั่นตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง (stomacher) จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 1:10 จากนั้นทำการเจือจางครั้งละ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

1.2 ใช้วิธี Pour plate technique โดยปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างกันปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว ค่อยๆรินอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ลงไปให้มีปริมาตรประมาณ 18-20 มิลลิลิตร ค่อยๆเขย่าให้ตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกัน ทำซ้ำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

1.3 คัดเลือกจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี นับจำนวนด้วยเครื่องนับโคโลนี (colony counter)

1.4 หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่นับได้แต่ละระดับความเจือจาง คูณด้วยค่า dilution factor ของระดับความเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)

2. วิธีตรวจสอบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ฟิคัล โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Escherichia coli* (AOAC, 1995)

- a. เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด
- b. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจาง 1:10, 1:100 และ 1:1000 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ลงในอาหาร Lauryl sulfate tryptose broth (LST broth) ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

- c. บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- d. ตรวจดูหลอดที่ให้ผลบวก โดยจะเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ (presumptive test)
- e. ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดที่มีก๊าซลงในอาหาร Brilliant green lactose bile broth (BGLB)

และ EC broth

2.5.1 BGLB นำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซทั้งหมดในขั้นนี้ (confirm test) นำไปหาค่า MPN ของฟีคัล โคลิฟอร์มจากตาราง MPN

2.5.2 EC broth นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซทั้งหมดในขั้นนี้ (confirm test) นำไปหาค่า MPN ของฟีคัล โคลิฟอร์มจากตาราง

2.6 การตรวจหา *E. coli*

2.6.1 ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากหลอดที่ให้ผลบวกในข้อ 3.5.2 มา streak ลงบนอาหาร Eosin methylene blue (EMB) agar บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.6.2 เลือกโคโลนีที่มีสีเข้มคล้ำ อาจมีเงาโลหะหรือไม่มีก็ได้ ถ่ายเชื้อลงในอาหาร NA-slant บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.6.3 ทดสอบปฏิกิริยา IMVIC ได้แก่

Indole production ทำโดย ถ่ายเชื้อลงใน Tryptose broth บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบการสร้างอินโดล โดยเติม Kovac's reagent 0.2-0.3 มิลลิลิตร ถ้าเกิดสีชมพูหรือสีแดงที่ผิวหน้าแสดงว่าให้ผลบวก

Methyl red reactive compounds ทำโดยถ่ายเชื้อลงใน MR-VP medium บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมน้ำตาลละลายเมธิลเรดลงไป 5 หยด ถ้าเกิดสีแดงแสดงว่าให้ผลบวก

Voges-Proskauer reactive compound ทำโดยถ่ายเชื้อลงใน MR-VP medium บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมน้ำตาลละลาย α -naphthol 0.1 มิลลิลิตร และ 40% KOH 0.1 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ถ้ามีสีชมพูเกิดขึ้นแสดงว่าให้ผลบวก

Citrate utilization ถ่ายเชื้อลงในอาหาร Koser's citrate broth บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ถ้าอาหารขุ่นแสดงว่าให้ผลบวก

2.6.4 ย้อมสีแบบแกรม

2.6.5 คำนวณค่า MPN ของ *E. coli* ต่อกรัมอาหาร จากหลอดที่ทดสอบแล้วว่ามีแบคทีเรียรูปท่อน แกรมลบ และให้ผลการทดสอบ IMVIC เป็น +++ หรือ ---

3. วิธีตรวจสอบ *Staphylococcus aureus* (AOAC, 1995)

3.1 เตรียมตัวอย่างอาหารเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

3.2 ปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจาง 1:10 และ 1:100 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Trypticase soy broth (TSB) + 10%NaCl บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3 ปิเปตตัวอย่างอาหาร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร Mannitol salted egg yolk agar (MS-EY) เกลี่ยด้วยแท่งแก้วเพื่อให้ทั่วผิวน้ำอาหาร บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4 สังเกตโคโลนีของ *Staphylococcus spp* ที่อยู่บนอาหาร MS-EY agar โคโลนีสีขาว เหลืองขนาดเล็ก และมีบริเวณทึบแสง (opaque zone) สีขาวเหลืองรอบๆ โคโลนี

3.5 ทดสอบเอนไซม์โคแอกกูเลส (coagulase) โดยตรวจการแข็งตัวของน้ำเลือด เชื้อที่ให้ผลทดสอบเอนไซม์โคแอกกูเลสเป็นผลบวกจัดเป็น *S. aureus*

4. วิเคราะห์ *Salmonella spp.* (AOAC, 1995)

4.1 สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ลงในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อ เติม Trypticase soy broth 225 มิลลิลิตร ตีปั่น 2 นาที แล้วนำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2 ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตรลงใน Selenite cystine broth 10 มิลลิลิตร บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.3 Streak ลงบน Xylose lysine decarboxylase (XLD) agar และ *Salmonella shigella* (SS) agar บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.4 ตรวจดูโคโลนีที่มีลักษณะของ *Salmonella* บน SS agar โคโลนีจะไม่มีสีใสหรือทึบ อาจมีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลาง ส่วนบน XLD agar โคโลนีจะใส อาจมีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลาง เช่นเดียวกัน อาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆจะเป็นสีบานเย็น

4.5 ทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีบางประการ โดยเชื้อจากโคโลนีที่สงสัย ลงในอาหาร เพาะเชื้อต่อไปนี้ บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.6 Triple sugar iron agar เชื้อ *Salmonella* จะให้ผลบวกดังนี้ เกิดด่างที่ slant (สีแดง) เกิดกรดที่ butt (สีเหลือง) อาจจะสร้างหรือไม่สร้างก๊าซและ H_2S ก็ได้

4.7 Lysine indole motility medium เชื้อ *Salmonella* จะให้ผลการทดสอบเป็น lysine +indole- และ motility+

4.8 Urea agar เชื้อ *Salmonella* จะไม่สร้าง Urease อาหารจะไม่เปลี่ยนสี

4.9 ทดสอบการตกตะกอนด้วย *Salmonella* antiserum

4.10 เชื้อที่ให้ผลการทดสอบทางชีวเคมีที่แสดงว่าเป็น *Salmonella* จะตกตะกอนกับ antiserum จัดว่าเป็น *Salmonella spp.*

ภาคผนวก ง
วิธีวิเคราะห์คุณภาพเจลลาติน

วิธีวิเคราะห์คุณภาพเจลลาติน

1. วิธีวัดค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) (BS: 757:1975)

1. ชั่งตัวอย่างเจลลาตินจำนวน 7.5 ± 0.01 กรัม ใส่ในภาชนะซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 59 ± 1 มิลลิเมตร
2. ผสมน้ำกลั่นจำนวน 105 มิลลิตรในตัวอย่าง ปล่อยสารละลายทิ้งไว้จนกระทั่งเจลลาตินเกิดการพองตัวอย่างสมบูรณ์ ใช้เวลาประมาณ 15 นาที ถึง 2 ชั่วโมง ขึ้นกับขนาดของตัวอย่างถ้าเจลลาตินมีการพองตัวอย่างสมบูรณ์เมื่อนำไปให้ความร้อนจะทำให้เจลลาตินละลายอย่างรวดเร็ว
3. นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเจลลาตินละลายหมดใช้เวลาประมาณ 15 นาที
4. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้สารละลายเจลลาตินเย็นตัวลง
5. นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เวลา 16-18 ชั่วโมง
6. นำไปทดสอบด้วยเครื่อง Texture Analysis

หมายเหตุ สภาวะในการทดสอบด้วยเครื่อง Texture Analysis

1. อัตราเร็วก่อนการทดสอบ 0.5 เมตร ต่อ วินาที
2. อัตราเร็วระหว่างการทดสอบ 0.5 เมตร ต่อ วินาที
3. อัตราเร็วหลังการทดสอบ 0.5 เมตร ต่อ วินาที
4. ขนาด probe เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 นิ้ว
5. แรงในการกด 4 กรัม

2. วิธีวัดความชื้น (BS: 757:1975)

1. ชั่งตัวอย่างเจลลาติน 1 ± 0.01 กรัม ลงในภาชนะที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
2. เติมน้ำกลั่นประมาณ 10 มิลลิตร ผสมในตัวอย่าง
3. นำไปวางบนตะแกรงเหนือน้ำร้อน จนกระทั่งเจลลาตินละลายและระเหย เจลลาตินจะแห้งเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ
4. นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เวลา 18 ± 1 ชั่วโมง

5. เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำตัวอย่างทำให้เย็นใน โถดูดความชื้น
6. ชั่งน้ำหนัก นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้น

สูตรคำนวณ

$$M_u = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

$$M_0$$

M_0 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

M_1 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

3. วิธีวัดพีเอช (BS:757:1975)

1. ชั่งน้ำหนักเจลาตินจำนวน 1 กรัมใส่ภาชนะ
2. เติมน้ำกลั่นที่ต้มเดือดในปริมาณเล็กน้อยเพื่อละลายเจลาติน
3. เจือจางสารละลายเจลาตินให้ได้ 100 มิลลิลิตร
4. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
5. นำไปวัดพีเอช โดยใช้เครื่องวัดพีเอชที่เป็น glass electrode

4. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (BS: 757:1975)

1. ชั่งตัวอย่างเจลาตินจำนวน 5 ± 0.01 กรัม ใส่ในภาชนะหาเถ้า (Crucible)
2. นำไปเผาที่อุณหภูมิต่างๆก่อน จนหมดควัน
3. นำไปเผาที่อุณหภูมิ 495 ± 5 องศาเซลเซียส จนได้ลักษณะเถ้าเป็นสีขาว
4. ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก คำนวณหาปริมาณเถ้า

สูตรคำนวณ

$$M_1 \times 100$$

$$M_0$$

M_0 = น้ำหนักเริ่มต้นของตัวอย่าง

M_1 = น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

ภาคผนวก จ

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์.....ชุดที่.....

ชื่อผู้ทดสอบชิม.....วันที่.....เวลา.....

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างจากซ้ายไปขวาแล้วให้คะแนนความชอบตัวอย่างในแต่ละปัจจัยที่ใกล้เคียงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด

9 = ชอบมากที่สุด

6 = ชอบเล็กน้อย

3 = ไม่ชอบปานกลาง

8 = ชอบมาก

5 = เฉยๆ

2 = ไม่ชอบมาก

7 = ชอบปานกลาง

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

ปัจจัย	คะแนนความชอบของตัวอย่าง		
	_____	_____	_____
ลักษณะปรากฏ			
สี			
กลิ่น			
รสชาติ			
ลักษณะเนื้อสัมผัส			
ความชอบรวม			

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

ภาคผนวก จ

ตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ๑1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติของน้ำบึงปลาพุน้ำที่ผ่าน
การตกตะกอน โปรตีนที่ pH 1-5

ลักษณะทดสอบ	Sov	SS	df	MS	F
ปริมาณ โปรตีน	ระดับ pH	23.44	6	3.90	46.83**
	Error	1.16	14	0.08	
ค่าความแข็งแรง ของเจล	ระดับ pH	169.96	6	28.32	6.43**
	Error	61.62	14	4.40	
ค่าสี (L*)	ระดับ pH	8538.59	6	1423.09	2416.73**
	Error	8.24	14	0.58	
(a*)	ระดับ pH	339.63	6	56.60	1648.71**
	Error	0.48	14	0.03	
(b*)	ระดับ pH	1555.94	6	259.32	2261.26**
	Error	1.60	14	0.11	

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

ตารางผนวกที่ ๒2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติของน้ำบีบปลาหมึกที่ผ่าน
การตกตะกอน โปรตีนที่ pH 0.2-2.0

ลักษณะทดสอบ	Sov	SS	df	MS	F
ปริมาณ โปรตีน	ระดับ pH	29.70	10	2.97	41.94**
	Error	1.55	22	0.07	
ค่าความแข็งแรง ของเจล	ระดับ pH	13802.74	10	1380.27	1171.10**
	Error	25.92	22	1.17	
ค่าสี (L*)	ระดับ pH	9668.68	10	966.88	5526.80**
	Error	8.84	22	0.17	
(a*)	ระดับ pH	405.08	10	40.50	1056.73**
	Error	0.84	22	0.03	
(b*)	ระดับ pH	1586.29	10	158.63	222.50**
	Error	15.68	22	0.71	

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

ตารางผนวกที่ ๓ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติของน้ำปิบที่ผ่านการ
ตกตะกอนโปรตีนที่ pH 1.0 ในระยะเวลาที่ต่างกัน

ลักษณะทดสอบ	Sov	SS	df	MS	F
ปริมาณ โปรตีน	ระยะเวลา	0.03	4	0.008	1.55 ^{ns}
	Error	0.05	10	0.005	
ค่าความแข็งแรง ของเจล	ระยะเวลา	22.81	4	5.70	30.89**
	Error	1.84	10	1.18	
ค่าสี (L*)	ระยะเวลา	0.53	4	0.13	202.11**
	Error	0.007	10	0.001	
(a*)	ระยะเวลา	0.01	4	0.03	22.68**
	Error	0.001	10	0.00	
(b*)	ระยะเวลา	0.006	4	0.02	8.66**
	Error	0.002	10	0.00	

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๔ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของอัตราส่วนของเจลาคตินและ
แคลปการจีแนน ที่เหมาะสมในการตกตะกอนเจลาคติน

Sov	SS	df	MS	F
ความเข้มข้นของเจลาคติน	58031.76	2	29015.88	1645099**
ความเข้มข้นของการจีแนน	607.39	4	151.84	8609.26**
Error	544.10	8	68.01	3856.07

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

ตารางผนวกที่ ๕ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติผลของ pH ต่อปริมาณการตกตะกอนของ
เจลาติน

ลักษณะทดสอบ	Sov	SS	df	MS	F
การตกตะกอนเจลาติน	ระดับ pH	18706.33	7	2672.33	85.99**
	Error	497.20	16	31.07	

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

ตารางผนวกที่ ๖ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติผลของค่า ionic strength ต่อปริมาณการ
ตกตะกอนของ เจลาติน

ลักษณะทดสอบ	Sov	SS	df	MS	F
การตกตะกอนเจลาติน	ความเข้มข้นเกลือ	11061.20	5	2212.23	44.69**
	Error	544.48	11	49.49	

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

ตารางผนวกที่ ๗ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการ
ตกตะกอนของเจลาติน

ลักษณะทดสอบ	Sov	SS	df	MS	F
การตกตะกอนเจลาติน	ระดับอุณหภูมิ	5661.12	4	1415.28	34.67**
	Error	408.21	10	40.82	

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

ตารางผนวกที่ ๗8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติคุณสมบัติของเจลาตินหลังการอบแห้ง

ลักษณะทดสอบ	Sov	SS	df	MS	F
ความชื้น	เวลา	33.73	2	16.86	77.60**
	Error	1.30	6	2.21	
ค่าความแข็งแรง ของเจล	เวลา	6630.37	2	3315.18	3.37*
	Error	5887.95	6	981.32	
ความหนืด	เวลา	2.524	2	1.262	20.58**
	Error	0.368	6	0.06	

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางผนวกที่ ๙ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เซลล์สำเร็จรูป เซลล์ที่ทำจากเจลาตินทางการค้า และเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า

คุณสมบัติ	Sov	SS	df	MS	F
ลักษณะปรากฏ	ผู้ทดสอบ	37.917	19	1.996	5.404*
	ชนิดของเจลาติน	1.033	2	0.517	20.872*
	Error	3.633	38	0.096	
สี	ผู้ทดสอบ	42.979	19	2.262	2.071*
	ชนิดของเจลาติน	0.475	2	0.238	19.723*
	Error	4.358	38	0.115	
กลิ่น	ผู้ทดสอบ	34.913	19	1.838	5.381*
	ชนิดของเจลาติน	7.908	2	3.954	2.500*
	Error	27.925	38	0.735	
รสชาติ	ผู้ทดสอบ	41.746	19	2.197	12.151*
	ชนิดของเจลาติน	19.308	2	9.654	2.765*
	Error	30.192	38	0.795	
ลักษณะเนื้อสัมผัส	ผู้ทดสอบ	31.650	19	1.666	24.019*
	ชนิดของเจลาติน	6.700	2	3.350	11.943*
	Error	5.300	38	0.139	
ความชอบรวม	ผู้ทดสอบ	30.546	19	1.608	24.097*
	ชนิดของเจลาติน	20.408	2	10.204	3.796*
	Error	16.092	38	0.423	

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ข

ภาพเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า



ภาพผนวกที่ ๑1 ลักษณะของเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า