



การปรับปรุงสมบัติการเกิดเจลของเจลาตินจากหนัง  
ปลาทูน่าเพื่อประยุกต์ใช้ในอาหารสัตว์เลี้ยง  
**Improving the Gelation Properties of  
Gelatin from Skipjack Tuna Skin for  
Pet Food Application**

ธัญลักษณ์ เกิดบัวทอง  
**Thanyalak Koedbuatong**

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the degree of  
Master of Science in Science and Food Technology  
Prince of Songkla University**

**2556**

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การปรับปรุงสมบัติการเกิดเจลของเจลาตินจากหนังปลาทูน่า  
เพื่อประยุกต์ใช้ในอาหารสัตว์เลี้ยง

ชื่อผู้เขียน นางสาวรัชฎ์ลักษณ์ เกิดบัวทอง

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

---

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณี วิทยานนท์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรี ทองเรือง)

(ศาสตราจารย์ ดร.ภาวิณี ชินะโชติ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรี ทองเรือง)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และ  
เทคโนโลยีอาหาร

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลมาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(ศาสตราจารย์ ดร.ภาวิณี ชินะโชติ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวธัญลักษณ์ เกิดบัวทอง)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใด มาก่อน  
และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวรัชฎลักษณ์ เกิดบัวทอง)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การปรับปรุงสมบัติการเกิดเจลของเจลาตินจากหนังปลาหูนาเพื่อประยุกต์ใช้ในอาหารสัตว์เลี้ยง
ผู้เขียน	นางสาวรัชฎ์ลักษณ์ เกิดบัวทอง
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2555

## บทคัดย่อ

การสกัดเจลาตินจากหนังปลาหูกา (Katsuwonus pelamis) ที่ผ่านการให้ความร้อน โดยต้มสกัดเจลาตินด้วยอุณหภูมิ ระยะเวลา และอัตราส่วนน้ำต่อปริมาณหนังปลาแตกต่างกัน พบว่าการสกัดด้วยอุณหภูมิ 90°C นาน 30 นาที ที่อัตราส่วนน้ำต่อปริมาณหนังปลาเป็น 1:4 มีร้อยละของผลได้ (% Gelatin recovery) สูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 53.46 (น้ำหนักแห้ง) เจลจากสารสกัดหยาบเจลาตินเหลว (LG) ที่มีปริมาณเจลาติน 6 กรัมต่อ 100 มล. มีค่าความแข็ง (Breaking strength) สูงสุด (200.13 กรัม) และค่า Breaking strength จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีอัตราส่วนน้ำต่อปริมาณหนังปลาหูนา น้อยกว่า 1 สำหรับ LG ที่สกัดจากปลาที่จับในฤดูหนาว และฤดูใบไม้ร่วงมี Yield แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 9.88 ถึง 20.04 (กรัม ต่อ 100 กรัมหนังปลาหูนา) ทั้งนี้จะเป็นผลมาจากองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของหนังปลาในแต่ละ Batch และ แต่ละฤดูกาล น้ำหนักโมเลกุลของ LG มีค่าอยู่ในช่วง 20-200 กิโลดาลตัน และมีปริมาณกรดอะมิโน (โพรลีน และ ไฮดรอกซีโพรลีน; ร้อยละ 11.3 และ 7.19 ตามลำดับ) ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำกว่าเจลาตินจากปลาชนิดอื่น ทำให้เกิดเจลที่อ่อนกว่า ส่วนจุด Isoelectric ของ LG มีค่าเท่ากับ 6 แต่หลังจากผ่านการอบแห้ง (AG) หรือ ฟนฝอย (SG) ส่งผลให้ค่า pI ลดลงมาที่ 4 สำหรับผลของเกลือ และการกรด-ด่างเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อแรงอันตรกิริยาทางไฟฟ้า (Electrostatic interaction) ของ LG โดยที่ LG ที่มีค่ากรด-ด่างเท่ากับ pI (ค่ากรด-ด่างเท่ากับ 6) จะมีค่า Breaking strength สูงสุด (เนื่องจากการละลายของโปรตีนต่ำสุด) เมื่อมีปริมาณเกลือ (NaCl หรือ CaCl<sub>2</sub>) น้อยกว่า 10 มล.โมลาร์ ขณะที่การเกิดเจลของเจลาตินจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำกว่า (อุณหภูมิประมาณ 20-21°C) เมื่อเปรียบเทียบกับเจลาตินเจลาจากหมู (ประมาณ 45°C) จากการศึกษาอุณหภูมิการหลอมเหลวของ LG ด้วยเทคนิค DSC (Differential Scanning Calorimeter) หลังจากให้ความร้อนแล้วทำให้เย็นลง พบว่าโครงสร้างเจลของ LG ไม่เกิดการผันกลับ สำหรับการ Anneal เจล (เซตเจลที่อุณหภูมิ 4°C นาน 24 ชม. แล้วบ่มที่ 10°C นาน 10 ชม. หลังจากนั้นกลับมาบ่มที่ 4°C นาน 10 ชม.) ไม่สามารถปรับปรุงค่า Breaking strength ได้ ทั้งยังมีเจลที่อ่อนลง ส่วนอัตราการเกิดเจลจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเจลาติน และลดลงตามระดับการเสถียรภาพด้วยความร้อนจากการทำแห้ง โดยที่ LG มีอัตราการเกิดเจลมากกว่า SG และ AG ตามลำดับ Breaking strength และลักษณะการเปลี่ยนแปลงค่าแรงตามระยะเวลา (force deformation curves) ให้ข้อมูลเกี่ยวกับสมบัติทางกายภาพของเจลได้ดีกว่า Bloom strength และการใช้สารช่วยเพิ่มความแข็งของเจล (Glucono delta lactone และ Ascorbic

acid) ไม่ส่งผลต่อการปรับปรุงความแข็งแรงของเจลอาจเนื่องมาจากผลกระทบของประจุบนโมเลกุลโปรตีน

การศึกษาส่วนผสมระหว่างเจลาติน แชนแทนกัม และคาร์ราจีแนน เพื่อกำหนดสัดส่วนที่ดีที่สุดสำหรับการเกิดเจลที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเติม LG (ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6) ในระบบเจลที่มีแชนแทนกัมและคาร์ราจีแนน (ร้อยละ 0.4 และ 0.71 ตามลำดับ) จะได้เจลมีความแข็งแรงใกล้เคียงกับเจลมาตรฐานอาหารแมว แต่สำหรับอัตราส่วนอื่นๆ จะไม่เกิดเจล หรือเกิดเจลที่อ่อนมาก อย่างไรก็ตาม เมื่อนำ LG ไปประยุกต์ใช้ในอาหารแมว ทำให้ปริมาณถ้าเพิ่มขึ้นจากสูตรมาตรฐาน (แชนแทนกัมร้อยละ 0.8 และ คาร์ราจีแนนร้อยละ 0.71) ซึ่งให้เห็นว่าควรมีขั้นตอนการกำจัดเกลือในกระบวนการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่า การประเมินผลทางประสาทสัมผัสของการพัฒนาอาหารแมวไม่พบความแตกต่างเมื่อเทียบกับสูตรมาตรฐานในด้าน ความแข็ง ความหนืด และกลิ่นคาว ยกเว้นสีที่เข้มกว่าสูตรมาตรฐาน ซึ่งให้ลักษณะที่คล้ายกับเนื้อมากกว่าสูตรมาตรฐาน สำหรับการทดสอบความชอบในแมวเบื้องต้นยังไม่สามารถสรุปผลได้ชัดเจน แต่แมวสีในหกตัวมีแนวโน้มที่จะชอบสูตรมาตรฐานมากกว่าสูตรที่พัฒนาขึ้น แต่การศึกษาในสัตว์จำนวนมากขึ้นนั้นจะสามารถวิเคราะห์ผลทางสถิติและนำไปสู่การสรุปผลได้ ในอนาคตจึงควรมีการปรับปรุงโดยเพิ่มขั้นตอนการลดเกลือ ปรับปรุงกลิ่นรส และรสชาติให้ดีขึ้น

<b>Thesis Title</b>	Improving the gelation properties of gelatin from skipjack tuna skin for pet food application
<b>Author</b>	Miss Thanyalak Koedbuatong
<b>Major Program</b>	Science and Food Technology
<b>Academic Year</b>	2012

## **ABSTRACT**

Gelatin was extracted from precooked skipjack tuna skin (*Katsuwonus pelamis*) by hot water at various temperature, time and water:skin ratio with maximum yield of 9.97% (db) obtained at 90°C, 30 min and water:skin ratio of 1:4. Liquid gelatin crude extract (LG) at 6 g gelatin/100 ml provided the highest breaking strength (200g). The breaking strength was found to increase significantly at water:tuna skin ratio less than 1. LG from autumn and winter harvest varied in extraction yields from 9.88 to 20.04 g gelatin/ 100 g skin which mimics to seasonal composition of tuna skin. Strongly suggest that such variability was due to variability in skin composition among batch and season. Molecular weights of extracted gelatin (20-200 kDa) are relatively lower than other fish gelatin with lower imino acid (11.30% and 7.19%; proline and hydroxyl proline) contributing to a weaker gel. Isoelectric point of native LG gelatin was at 6 and after air-drying (AG) and spray-drying (SG), a downward shift in pI to 4 was observed. Electrostatic forces (as observed from salt and pH effects) were demonstrated to be important factors. LG at pI (of 6.0) exhibited the highest gel breaking strength (due to lowest protein solubility); this increased in a presence of salt (Na or Ca ions) at <10 mmol/l. Gelation of LG occurred at a lower temperature (~20-21°C) when compare with porcine gelatin (typically at 28°C). From Differential Scanning Calorimeter (DSC) gel structure was irreversible after a the heat cool cycle and setting temperature of 4°C and annealing at 4-10°C (4°C for 10 hr then 10°C for 10 hr then 4°C for 10 hr) cycle could not improve (and lower) the breaking strength. Gelling rate was increase with gelatin concentration and decrease after drying process as follows: control > spray dried > air dried gelatin. Breaking strength and force deformation curves provided more useful information on gelation physical structure than bloom strength. Glucono delta lactone or ascorbic acid additions were ineffective in improving the gel strength probably possibly due to their effects on charge groups.

Mixture of gelatin, xanthan gum and carrageenan were studied in order to determine the best combination for gels set at room temperature. When six percent LG was added to

xanthan gum (0.4%) carrageenan (0.71%), a gel was formed and its breaking strength was comparable to commercial cat food gels. Other systems (with different composition) showed no/extremely weak gels. However, when used in a cat food formula, ash content was higher than control formula (0.8% xanthan gum and 0.71% carrageenan) suggesting that a salt removal of tuna skin or of LG would be necessary in the gelatin extraction process. Sensory evaluation of developed cat food was not different when compared to the control formula in texture (hardness) viscosity and odor (fishy smell). However, color of the new formula was more preferred (more meat) than the control formula with the appearance of meat sauce. Preliminary cat food palatability test result was not conclusive. Four out of 6 cats tend to like the control formula more than the new developed product. But more animals would be necessary for such test in order to have a statistically meaning the conclusion. Future salt lowering step and flavor optimization could potentially improve this property.



## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ.....	(8)
LIST OF TABLES.....	(9)
LIST OF FIGURES.....	(11)
บทที่	
1 บทนำ.....	1
บทนำต้นเรื่อง.....	1
การตรวจเอกสาร.....	2
1. คอลลาเจน.....	2
2. สมบัติการเกิดเจลของโปรตีน.....	7
3. Annealing.....	11
4. เจลาติน.....	12
5. สารก่อเจลที่นิยมใช้ในอาหารสัตว์เลี้ยง.....	29
6. การผลิตและการส่งออกอาหารสุนัขและแมวของ ประเทศไทย.....	33
7. ปลาทูน่า.....	38
วัตถุประสงค์.....	43
2 วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ.....	44
วัสดุ.....	44
อุปกรณ์.....	44
วิธีดำเนินการ.....	45
1. การสกัดเจลาตินและการเตรียมเจลาตินผงจากหนัง ปลาทูน่า.....	45
2. ศึกษาองค์ประกอบเคมีในหนังปลาทูน่าที่มีฤดูกาลจับปลา แตกต่างกัน.....	46
3. ศึกษาผลของสภาวะการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่า... ..	47
4. ศึกษาสมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจาก หนังปลาทูน่า.....	47
5. ศึกษาสมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนัง ปลาทูน่าที่ผ่านการทำแห้ง.....	49

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

6. ศึกษาผลของการใช้สารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล ในสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่าต่อค่า ความแข็งของเจล.....	50
7. ศึกษาผลการ Annealing ต่อค่าความแข็งของสารสกัดหยาบ เจลาตินเจล.....	50
8. ศึกษาการใช้สารสกัดหยาบเจลาตินทดแทนสารที่ทำให้เกิดเจล ทางการค้าในผลิตภัณฑ์อาหารแมวแบบเปียก.....	51
3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	54
1. องค์ประกอบเคมีในหนังปลาทูน่าที่มีฤดูกาลจับปลาแตกต่างกัน.....	54
2. ผลของสภาวะการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่า.....	56
3. สมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่า....	59
4. สมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่าที่ ผ่านการทำแห้ง.....	67
5. ผลของการใช้สารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจลในสารสกัดหยาบ เจลาตินจากหนังปลาทูน่าต่อค่าความแข็งเจล.....	75
6. ผลของการ Annealing ต่อค่าความแข็งของสารสกัดหยาบ เจลาตินเจล.....	76
7. การใช้สารสกัดหยาบเจลาตินทดแทนสารที่ทำให้เกิดเจลทางการค้าใน ผลิตภัณฑ์อาหารแมวแบบเปียก.....	78
4 บทสรุป.....	96
เอกสารอ้างอิง.....	99
ภาคผนวก.....	110
ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์สมบัติเคมี.....	111
ก1. วิธีวิเคราะห์ปริมาณความชื้น.....	111
ก2. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเถ้าทั้งหมด.....	112
ก3. วิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมัน.....	112
ก4. วิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมด.....	113
ก5. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเกลือทั้งหมด.....	115
ก6. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเจลาติน.....	116

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ก7 วิธีวิเคราะห์รูปแบบโมเลกุลโปรตีน.....	119
ก8 วิธีวิเคราะห์ค่าการละลายของโปรตีน.....	122
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ.....	123
ข1 วิธีวิเคราะห์อุณหภูมิการหลอมเหลวของเจล.....	123
ข2 วิธีวิเคราะห์ค่าความแข็งของเจล.....	123
ข3 วิธีวิเคราะห์ความหนาแน่นของผง.....	124
ข4 วิธีวิเคราะห์การไหลของอนุภาค.....	124
ข5 วิธีวิเคราะห์ค่าสีของเจล.....	124
ข6 วิธีคำนวณร้อยละผลผลิต.....	125
ประวัติผู้เขียน.....	126

## LIST OF TABLES

Table	Page
1. Collagen and their tissue distribution.....	6
2. Physical and chemical means to induce protein gelation.....	10
3. Amino acid composition of gelatin from skin of fish and porcine.....	17
4. Gelling temperature and melting temperature of gelatin from some fish species.....	25
5. Chemical compositions of some tuna species.....	40
6. Concentrations of gelatin carrageenan xanthangum on gel mixture.....	52
7. Chemical compositions of precooked skipjack tuna skin.....	55
8. Effect of extraction temperature and extraction time on gelatin content of LG prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin....	57
9. Effect of water extraction ratio on gelatin content of LG prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin.....	58
10. Chemical composition of liquid gelatin crude extracts (LG).....	60
11. Amino acid composition of liquid gelatin crude extract (LG, 6% gelatin; wb) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin average of duplication among batch.....	62
12. Melting temperature ( $T_m$ ) and enthalpy change ( $\Delta H$ ) value of difference concentration of liquid gelatin crude extract prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin.....	64
13. Physical and chemical properties of gelatin crude extract prepared from batch 1 of November 2011 skipjack tuna skin.....	71

**LIST OF TABLES (Cont.)**

<b>Table</b>	<b>Page</b>
14. Effect of pH and temperature step on breaking strength of liquid gelatin crude extract (LG, 6% gelatin) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin.....	78
15. Chemical compositions of wet cat food with LG (6% gelatin; wb) added and no gelatin crude extract added.....	93
16. Microbial test of wet cat food with LG (6% gelatin; wb) added and no gelatin crude extract added.....	93
17. Triangle test of wet cat food compare with commercial formula.....	94
18. Difference from control test of guest panelist.....	95
19. Palatability of wet cat food compare with commercial formula.....	95

## LIST OF FIGURES

Table	Page
1. Structure of collagen.....	5
2. SDS-PAGE protein pattern of bigeye snapper.....	18
3. Gelation of gelatin, the transition from sol to the gels during cooling.....	19
4. Gelation of gelatin from bigeye snapper in difference gelatin concentrations	22
5. DSC thermogram of gelatin gel.....	26
6. Structure of carrageenan (a) K-carrageenan (b) $\iota$ -carrageenan (c) $\lambda$ - carrageenan.....	30
7. Propose two step gelation mechanisms for carrageenan. Step1: formation of order conformation; Step2: formation of conjunction.....	31
8. Tuna can process and by-product.....	42
9. Extracting procedure of crude gelatin from skipjack tuna.....	46
10. Effect of water extraction ratio on breaking strength of liquid gelatin crude extract (LG) gel.....	58
11. Effect of pH on protein solubility of LG prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin.....	63
12. DSC thermogram of difference concentrations of liquid gelatin crude extract from skipjack tuna skin.....	65
13. Breaking strength of liquid gelatin crude extract (LG, 6% gelatin; wb) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin in the pH range of 1-10 (A) and different concentrations of salts (B).....	66

## LIST OF FIGURES (Cont.)

<b>Table</b>	<b>Page</b>
14. SDS-PAGE pattern of liquid gelatin crude extracted spray dry gelatin crude extracted (SG) and air dry gelatin crude extracted (AG) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin.....	68
15. Effect of pH on protein solubility prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin.....	69
16. Texture profile of skipjack tuna skin gelatins at 20% concentration liquid crude extract (LG,pH5.9), air-dried (AG, pH 6) and spray-dried (SG, pH 6) and gelling temperature at 4 °C .....	73
17. (A) Effects of gelling time and concentrations on gel strength of liquid crude extract (LG, 6% gelatin; wb, pH5.9), air-dried (AG, pH 6) and spray-dried (SG, pH 6) (B) The relationship between gel strength and concentration of gelatin	74
18. Effect of additive on breaking strength of liquid gelatin crude extract (LG, 6% gelatin; wb, pH 5.9) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin.....	76
19. Texture profile of mixed gel from 0.4% xanthan gum, 0.71% carrageenan and different concentrations of gelatin with gelling temperature at room temperature.....	80
20. Texture profile of mixed gel xanthan gum, carrageenan and different concentrations of gelatin with gelling temperature at 4 °C.....	82
21. Breaking strength of mixed gel from different concentrations of gelatin, xanthan gum and carrageenan and (A) gelling temperature at room temperature (B) gelling temperature at 4 °C.....	84
22. Relative work of gel with different concentration of gelatin and xanthan gum in gelatin-xanthan gum-carrageenan system of gelling temperature at 4 °C.....	85

**LIST OF FIGURES (Cont.)**

<b>Table</b>	<b>Page</b>
23. Relationship between maximum breaking strength and water ratio of gelling temperature at 4 °C.....	85
24. (A) Texture profile of mixed gel containing 6% gelatin, 0.71% carrageenan and different concentrations of xanthan gum (except last graph with no gelatin added) at gelling temperature of room temperature.....	87
(B) Texture profile of mixed gel containing 6% gelatin, 0.71% carrageenan and different concentrations of xanthan gum (except last graph with no gelatin added) at gelling temperature of 4 °C.....	89
25. Breaking strength of gel containing 0.71% carrageenan and 6% gelatin and different concentrations of xanthan gum gel compare with system used for cat food control (0.8% xanthan gum, 0% gelatin) set at gelling temperatures of room temperature and 4 °C.....	91
26. . Relative work obtain from area under force-deformation curve of gel containing 0.71% carrageenan and 6% gelatin and different concentrations of xanthan gum gel compare with system used for cat food control (0.8% xanthan gum, 0% gelatin) set at gelling temperatures of room temperature and 4 °C.....	91



# บทที่ 1

## บทนำ

### บทนำต้นเรื่อง

อุตสาหกรรมการผลิตอาหารทะเลกระป๋องเป็นอุตสาหกรรมหลักที่ทำรายได้เข้าประเทศเป็นจำนวนมากและมากกว่าร้อยละ 60 ของมูลค่าส่งออกอาหารทะเลกระป๋อง คือปลาทูน่ากระป๋อง (พิศมัย เจนวนิชบัญญัติกุล และปาริชาติ หลายชูไทย, 2535) ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทยแสดงตัวเลขการส่งออกปลาทูน่ากระป๋องในปี 2552 ว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็น 617,100 ตัน มีมูลค่า 2,000 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ คิดเป็นร้อยละ 15.5 เมื่อเปรียบเทียบกับปี 2551 การส่งออกปลาทูน่ากระป๋องมีแนวโน้มเติบโตอย่างต่อเนื่องสวนทางกับภาวะเศรษฐกิจที่ซบเซา (กรุงเทพธุรกิจออนไลน์, 2552) ในกระบวนการแปรรูปปลาทูน่าเบื้องต้นมีส่วนที่ใช้ประโยชน์ได้ร้อยละ 35 และเศษเหลือร้อยละ 45 ประกอบด้วยหัว หาง หน้าง ก้างร้อยละ 25-30 ใส้ร้อยละ 5-7 เลือดร้อยละ 10-12 และน้ำนิ่งปลาที่เสียไประหว่างนี้ร้อยละ 20 (สุมาลัย ศรีกำไลทอง และคณะ, 2540) ในโรงงานแปรรูปนั้นเศษเหลือทั้งหมดรวมถึงกระดูกปลาถือว่าเป็นของเสีย (Waste product) ที่ต้องกำจัด โดยส่วนใหญ่จะขายเพื่อเป็นวัตถุดิบให้กับโรงงานที่ผลิตปลาป่นหรืออาหารสัตว์ในราคากิโลกรัมละ 2-3 บาท ซึ่งเป็นราคาที่ต่ำมาก นับว่าเป็นการใช้ประโยชน์จากเศษเหลือไม่คุ้มค่า เนื่องจากวัตถุดิบเหล่านี้สามารถนำมาเพิ่มมูลค่า และนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น การสกัดเจลาติน แคลเซียม และ ฟอสฟอรัส เป็นต้น (พรรณพิพย์ สุวรรณสาครกุล, 2530)

คอลลาเจน เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำหน้าที่ยึดเหนี่ยวส่วนของโครงสร้างให้แข็งแรง คอลลาเจนมีประมาณร้อยละ 50 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในสัตว์ (Nagai and Suzuki, 2000) เป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ กรดอ่อน และด่างอ่อน แต่สามารถละลายได้ในน้ำร้อน สารละลายที่ได้เรียกว่า สารละลายเจลาติน (เยวลักษณะณ์ สุรพันธ์พิษฐ์, 2536) การสกัดเจลาตินจากวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมแปรรูปปลาเป็นแนวทางหนึ่งในการสร้างมูลค่าแก่วัสดุเศษเหลือ เช่นการสกัดเจลาตินจากหนังปลา โดยอุตสาหกรรมอาหารที่ใช้ เจลาติน ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ประเภท เจลาติน เช่น เยลลี่ การใช้เจลาตินทำให้เครื่องดื่มและน้ำผัก ผลไม้ใส (Vine et al., 1999; Tressler and Joslyn, 1954; Peterson and Johnson, 1978; Lee and Lee, 1999) รวมถึงการใช้เจลาตินเป็นสารให้ความคงตัว (Stabilizer) สารอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) สารเพิ่มความหนืด (Thickener) และสารให้เนื้อสัมผัส (Texturizer) ทำให้มีการใช้เจลาตินในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ขนมหวาน ลูกกวาด ลูกอม แคลปซูล เกรวี่ชนิดซง และไอศกรีม (Igoe, 1983; McCormick, 1987; McWilliam, 2001) นอกจากนี้ยังมีอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่ไม่ใช่อาหาร เช่น फिल्म อิมัลชัน และกาว (Burghagen, 1999) เจลาตินส่วนใหญ่ที่ใช้ในอุตสาหกรรมดังกล่าวข้างต้นนี้มักได้มาจากการสกัดหนังโค กระบือและสุกร เจลาตินจากหนังสุกรเป็นข้อจำกัดของผลิตภัณฑ์อาหารที่เป็นฮาลาล (Halal)

และโคเชอร์ (Kosher) อีกทั้งการระบาดของโรควัวบ้าและโรคปากและเท้าเปื่อยในโคกระบือทำให้การใช้ เจลาตินจากแหล่งดังกล่าวเป็นไปอย่างจำกัดและต้องเผื่อระวัง ดังนั้นการผลิต เจลาตินจากปลาและอาหารทะเลจึงได้รับความสนใจมากขึ้น ตัวอย่างเช่น งานวิจัยที่ศึกษาการสกัดเจลาตินจากกระดูกปลากะพงแดง (วริศรา สุวรรณ, 2545) และ การสกัดคอลลาเจนและเจลาตินจากหนังและกระดูกของปลาตาหวาน (Kittiphattanabawon, 2004) ทั้งนี้ในโรงงานผลิตปลาทุ่นำกระป๋องนั้นจะมีที่มิกำลังการผลิตต่อวันประมาณ 35-40 ตัน จะมีหนังปลาเป็นเศษเหลือถึงวันละประมาณ 500 กิโลกรัม ทั้งนี้การผลิตอาหารสัตว์เช่น อาหารแมวนั้นยังมีการเติมสารที่ทำให้เกิดเจลเพื่อปรับปรุงเนื้อสัมผัสของสินค้า ดังนั้น หากสามารถผลิตเจลาตินจากหนังปลาทุ่นำ และสามารถใช้ทดแทนสารที่ทำให้เกิดเจลทางการค้าได้จะเป็นการนำวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมมาใช้อย่างเกิดประโยชน์และมีมูลค่าเพิ่มขึ้น

## การตรวจเอกสาร

### 1. คอลลาเจน

คอลลาเจนเป็นโปรตีนเส้นใยที่พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันทุกชนิด ซึ่งมีประมาณร้อยละ 30 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด โดยจะพบมากในผิวหนัง เอ็น กระดูก และกระดูกอ่อน โดยปริมาณ คอลลาเจน จะแตกต่างกันตามชนิดของเนื้อเยื่อ และอายุของสัตว์ (Balian and Bowes, 1977; Bailey and Light, 1989; Poppe, 1992) คอลลาเจนทำหน้าที่เป็นโครงสร้างทำให้เนื้อเยื่อต่างๆมีรูปแบบ ความเหนียว และความแข็งแรง (พิสิฐรุ้ง ประพันธ์วัฒนา, 2549) ส่วนลักษณะของคอลลาเจนจะแตกต่างกันเล็กน้อยในส่วนองค์ประกอบของกรดอะมิโน ซึ่งทำให้สมบัติของ คอลลาเจนแตกต่างกัน โดยมีปัจจัยที่สำคัญคือ สายพันธ์และชนิดของเนื้อเยื่อที่ใช้เป็นแหล่งของคอลลาเจน (มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรรณวิบูลย์ กาญจนกฤษ, 2549)

#### 1.1 กรดอะมิโนในคอลลาเจน

สัดส่วนของกรดอะมิโนที่ประกอบกันเป็นคอลลาเจน จะแตกต่างจากที่พบในโปรตีนโดยทั่วไป โดยกรดอะมิโนที่พบส่วนใหญ่ในคอลลาเจน ได้แก่ ไกลซีน (Glycine) เป็นกรดอะมิโนที่พบมากที่สุด ประมาณ ร้อยละ 30 ของกรดอะมิโนทั้งหมดในโมเลกุลคอลลาเจน และมีกรดอิมิโน (Imino acid) ประมาณร้อยละ 25 โดยแยกเป็นโพรลีน (Proline) ร้อยละ 12 และไฮดรอกซีโพรลีน (Hydroxyproline) ร้อยละ 11 (Ward and Courts, 1977) ซึ่งไฮดรอกซีโพรลีนนั้นเป็นอนุพันธ์ของกรดอะมิโน ที่ไม่พบในโปรตีนชนิดอื่นๆ เช่นเดียวกับไฮดรอกซีไลซีน ที่มีประมาณ ร้อยละ 1 (Uitto *et al.*, 2003) นอกจากนี้ยังพบกรดอะมิโนชนิดอื่น ได้แก่ อะลานีน (Alanine) ซึ่งพบมากเช่นเดียวกับไฮดรอกซีโพรลีน ซึ่งมีปริมาณ 1 ใน 7 ของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด ส่วนฟีนิลอะลานีน (กรด-ต่างenylalanine) ไทโรซีน (Tyrosine) และฮิสติดีน (Histidine) มีปริมาณเล็กน้อย สำหรับซิสเตอีน (Cysteine) พบเฉพาะในคอลลาเจน typeIII และ typeIV เท่านั้น เมไทโอนีน (Methionine)พบ

ในปริมาณน้อยมากในคอลลาเจนทุกชนิด ส่วนทริปโตเฟน (Tryptophan) ไม่พบในคอลลาเจน ลักษณะการเรียงตัวของกรดอะมิโนจะมีลักษณะซ้ำๆ กันของ Gly-X-Y- โดย Gly คือ ไกลซีน ส่วนตำแหน่ง X และ Y มักเป็นโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนตามลำดับ นอกจากนี้ตำแหน่ง X ยังอาจเป็นกรดอะมิโนชนิดอื่น เช่น กลูตามีน (Glutamine) ลิวซีน (Leucine) และ ฟีนิลอะลานีน ส่วนตำแหน่ง Y อาจเป็นกรดอะมิโนชนิด ทรีโอนีน (Threonine) ไลซีน (Lysine) และอาร์จินีน (Arginine) เป็นต้น

กรดอะมิโนที่มีความจำเพาะในคอลลาเจน คือ ไฮดรอกซีโพรลีน ซึ่งมีความสำคัญในการพันเกลียวของสายแอลฟา ( $\alpha$ -Chain) ก่อนส่งออกไปนอกเซลล์ ถ้าขาดไฮดรอกซีโพรลีน สาย โพลีเปปไทด์จะไม่สร้างเป็นเกลียวสามสาย (Triple helix) ทำให้ไม่มีการสร้างคอลลาเจนบริเวณนอกเซลล์ตามมา (Uitto *et al.*, 2003) การสังเคราะห์ไฮดรอกซีโพรลีนเกิดขึ้นหลังจากการสังเคราะห์สายโพลีเปปไทด์แล้ว โดยโพรลีนจะเปลี่ยนเป็นไฮดรอกซีโพรลีน โดยปฏิกิริยา ไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation) ซึ่งเร่งโดยเอนไซม์โพรลิล-ไฮดรอกซิเลส (Prolyl 4-hydroxylase) และกรดแอสคอบิกเป็นตัวรีดิวซ์ (Stryer, 1975) การเกิดปฏิกิริยานี้มีความจำเพาะ คือจะสามารถเกิดปฏิกิริยาได้เฉพาะโพรลีนที่ตำแหน่ง Y ของ Gly-X-Y เท่านั้น ตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง X จะมีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา คือเอนไซม์จะมีกิจกรรมสูงที่สุดเมื่อตำแหน่ง X เป็นโพรลีน แต่กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลง 20 เท่าเมื่อตำแหน่ง X เป็นกรดกลูตามิก (Glutamic acid) (Bailey and Light, 1989) โดยการเติมนั้นเริ่มตั้งแต่มีสาย โปร-แอลฟา (Pro- $\alpha$ ) เกิดขึ้นในโรโบโซม และเอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานเมื่อสายโพลี เปปไทด์บิดเป็นเกลียวสามสาย นอกจากนี้ปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันยังสามารถเกิดได้กับกรดอะมิโนชนิดอื่นคือ ไลซีน เป็นไฮดรอกซีไลซีน (Hydroxylysine) โดยเอนไซม์ไลซิล ไฮดรอกซิเลส (Lysyl hydroxylase) ซึ่งจะไปจับกับไลซีนในตำแหน่ง Y ของ Gly-X-Y และ จะไม่เติมหมู่ไฮดรอกซีในไลซีนที่อยู่ในสายที่พันเกลียวแล้วเช่นกัน ไฮดรอกซีไลซีนนั้นมีความสำคัญคือ เป็นที่ที่จะมีการเติมหมู่น้ำตาล เพื่อเป็นตัวที่จะสร้างพันธะเชื่อมประสาน (Crosslink) ในการพันเกลียวเป็นคอลลาเจนนอกเซลล์ต่อไป ไลซีนจะเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันได้น้อยกว่าโพรลีนร้อยละ 10-20 ปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันจะทำให้สายโพลีเปปไทด์ที่บิดเป็นเกลียวสามสายมีความคงตัวมากขึ้น (Uitto *et al.*, 2003)

องค์ประกอบของกรดอะมิโนในคอลลาเจนจะมีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของ คอลลาเจน เช่น สมบัติการละลาย ความสามารถในการเกิดพันธะข้าม และความคงตัวต่อความร้อน (Lin and Liu, 2006) สัตว์แต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1 คอลลาเจนจากหนังสัตว์น้ำ ได้แก่ ปลาตาหวาน และปลาสิ่กูดมีปริมาณของไฮดรอกซีโพรลีนที่ต่ำกว่าคอลลาเจนจากหนังสัตว์บก (โค และสุกร) ซึ่งปริมาณของไฮดรอกซีโพรลีนจะมีความสัมพันธ์กับความคงตัวต่อความร้อนของคอลลาเจน เนื่องจากไฮดรอกซีโพรลีนจะช่วยให้อโครงสร้างของ โทรโปรคอลลาเจนมีความคงตัวมากขึ้น (Jose and Harrington, 1964) ดังนั้น คอลลาเจนจากสัตว์บกจะมีความคงตัวต่อความร้อนที่สูงกว่าคอลลาเจนจากสัตว์น้ำ ปริมาณกรดอะมิโนชนิดไทโรซีน ของคอลลาเจนจากสัตว์ทุกชนิดจะมีปริมาณที่ต่ำมากซึ่งปริมาณของ ไทโรซีนบ่งชี้ถึงปริมาณที่ไลเปป

ไทด์ คอลลาเจนที่สกัดโดยใช้กรดร่วมกับเอนไซม์เปปซินจะมีปริมาณของไทโรซีน และฮิสติดีน ที่ต่ำกว่าคอลลาเจนที่สกัดโดยใช้กรดเพียงอย่างเดียว (Noitup, 2004)

## 1.2 โครงสร้างของคอลลาเจน

คอลลาเจนเป็นโปรตีนเส้นใย จัดอยู่ในประเภทไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) มีลักษณะโมเลกุลเป็นเส้นยาว โครงสร้างทุติยภูมิเป็นปัจจัยกำหนดรูปร่างและสมบัติที่สำคัญ จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับโปรตีนแอลฟาเคราติน ( $\alpha$ -keratin) ไฟโบรอิน (Fibroin) และซีรีซิน (Sericin) ที่พบในผิวหนังและขน (สุกัญญา และ วิเชียร, 2547) โครงสร้างพื้นฐานของคอลลาเจน หรือ โมโนเมอร์ของคอลลาเจน (Collagen monomer) เรียกว่า โทรโปคอลลาเจน (Tropocollagen) เกิดจากสายโพลีเปปไทด์ 3 สายมาพันเกลียวกัน (Triple helix) ซึ่งแต่ละสายจะมีกรดอะมิโนมากกว่า 1000 ตัวมาเรียงต่อกัน มีลักษณะเป็นเกลียววนซ้าย (Left-hand helix) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน โดยแต่ละรอบมี 3.3 residue และมีระยะห่างระหว่างเกลียวเท่ากับ 0.87 นาโนเมตร เรียกว่าสายแอลฟา จากนั้นสายแอลฟาทั้ง 3 สายจะพันรอบกันเองเป็นเกลียววนขวา (Right-hand helix) โดยมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อมต่อกันระหว่างสายโพลีเปปไทด์แต่ละสาย โทรโปคอลลาเจนนั้น มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกยาว (Long cylindrical protein) มีระยะห่างระหว่างเกลียวประมาณ 8.6 นาโนเมตร มีน้ำหนัก 285 กิโลดาลตัน มีความยาวประมาณ หรือ 300 นาโนเมตร และมี เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 นาโนเมตร (Ward and Courts, 1977; Bailey and Light, 1989; สุกัญญา สุนทรรส และ วิเชียร ริมพณิชยกิจ, 2547) เส้นใยคอลลาเจนเกิดขึ้นจากโทรโปคอลลาเจน หลายๆโมเลกุลมารวมตัวกันอย่างเป็นระเบียบแบบข้างต่อข้าง (Lateral association) มีการเหลื่อมกันอยู่ประมาณ 1 ใน 4 ของความยาวของโทรโปคอลลาเจน เรียกว่าโครงสร้างแบบ Quarter staggered (ภาพที่ 1)

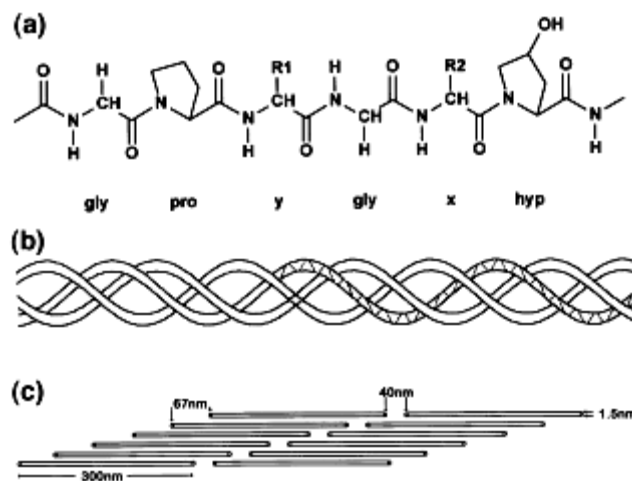


Figure1. Structure of collagen (a) Sequence of amino acids (b) Structure of tropocollagen (c) The arrangement of collagen fibers of the tropocollagen

ที่มา : Friess (1998)

### 1.3 การจำแนกประเภทของคอลลาเจน

ปัจจุบันสามารถแบ่งคอลลาเจนออกเป็น 13 ชนิด โดยแบ่งตามลำดับของกรดอะมิโน มวลโมเลกุล ส่วนประกอบของหน่วยย่อย (subunit) ความยาวของสายเกลียว คุณสมบัติและขนาด ของส่วนที่ไม่เป็นเกลียว (non-helix portion) (Kucharz, 1992) ดังตารางที่ 1 คอลลาเจน type I พบได้เป็นส่วนใหญ่ในสัตว์ชั้นสูง ในส่วนของหนัง เอ็น และ กระดูก ซึ่งประกอบด้วย 3 สาย ได้แก่ สาย  $\alpha 1(I)$  จำนวน 2 สาย และ  $\alpha 2(I)$  จำนวน 1 สาย ซึ่งสาย  $\alpha 1$  และ  $\alpha 2$  จะมีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบสาย  $\alpha 1(I)$  จำนวน 3 สายซึ่งพบน้อยมาก คอลลาเจนชนิดนี้จะพบกรดอะมิโนชนิดไกลซีนประมาณ 1 ใน 3 ของ กรดอะมิโนทั้งหมด มีจำนวนกรดอะมิโนประมาณ 1,050 ตัว มีส่วนที่ไม่บิดเป็นเกลียวสั้น ประกอบด้วยไทโรซีนและฮิสติดีน ไม่พบทริปโตเฟนและซีสเทอีน คอลลาเจน type II พบได้ส่วนใหญ่ในกระดูกอ่อน ประกอบด้วยสาย  $\alpha 1(II)$  จำนวน 3 สาย ซึ่งเชื่อกันว่ามีลักษณะคล้ายสาย  $\alpha 1(I)$  มีปริมาณของไฮดรอกซีไลซีนสูงกว่า type I ถึง 3 เท่า คอลลาเจน type III พบได้ปริมาณน้อย (ประมาณ 10%) ส่วนใหญ่พบในเส้นเลือด ซึ่งพบว่าคอลลาเจน type III จะจับกับคอลลาเจน type I ดังนั้น ในการสกัดคอลลาเจนส่วนใหญ่จะ พบ type III ปนร่วมกับคอลลาเจน type I เล็กน้อย (Piez, 1985) คอลลาเจน type IV มีความจำเพาะเจาะจงมาก ซึ่งพบได้เฉพาะในร่างแหของเส้นใย ฝอยที่เกาะกันหลวมๆ (loose fibrillar network) ในเยื่อแผ่นบาง ๆ ที่อยู่นอกเซลล์ (basement membrane) สำหรับคอลลาเจนชนิดอื่น ๆ จะพบในปริมาณที่น้อยมาก และมีการเชื่อมโยงกับ โครงสร้างทางชีววิทยาที่จำเพาะ ในการศึกษาส่วนใหญ่นิยมศึกษาคอลลาเจน type I เนื่องจากมี ปริมาณมาก และมีการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะทางการแพทย์

**Table 1** Collagen and their tissue distribution

Type	Chain composition	Tissue distribution
I	$(\alpha 1(I))_2 \alpha 2(I)$ , Trimer $(\alpha 1(I))_3$	Skin, tendon, bone, fiber cartilage, tendon
II	$(\alpha 1(II))_3$	Hyaline cartilage, vitreous, notochord
III	$(\alpha 1(III))_3$	Large vessels, dermis. Intestine (usually coexists with type I except in bone and tendon)
IV	$(\alpha 1(IV))_2 \alpha 2(IV)$	Basement membranes
V	$\alpha 1(V) \alpha 2(V) \alpha 3(V)$ or $(\alpha 1(V))_2 \alpha 2(V)$ or $(\alpha 1(V))_3$	Cornea, placental membranes, bone, large vessels, Hyaline cartilage
VI	$\alpha 1(VI) \alpha 2(VI) \alpha 3(VI)$	Skin, nucleus pulpous, heart muscle

VII	$\alpha_1(\text{VII})_3$		Skin, placenta, lung, cartilage, cornea	
VIII	$\alpha_1(\text{VIII})$	$\alpha_2(\text{VIII})$	Chain Produce by endothelial cells, Descemet's organization of helix unknown membrane	
IX	$\alpha_1(\text{IX})$	$\alpha_2(\text{IX})$	$\alpha_3(\text{IX})$	Cartilage
X	$(\alpha_1(\text{X}))_3$		Hypertrophic and mineralizing cartilage	
XI	$\alpha_1(\text{XI})$	$\alpha_2(\text{XI})$	$\alpha_3(\text{XI})$	Cartilage, intervertebral disc, vitreous humor
XII	$(\alpha_1(\text{XII}))_3$		Chicken embryo tendon, ligament	
XIII	Unknown		Cetal skin, bone, intestinal mucosa	

ที่มา : Friess (1998)

## 2. สมบัติการเกิดเจลของโปรตีน

โครงข่ายของโปรตีนเป็นโครงสร้างทุติยภูมิของสารโพลีเปปไทด์ โดยทั่วไปแล้ว การเกิดโครงข่ายของโปรตีนจะเกิดจากพันธะ Non-covalent หรือการสร้างพันธะข้าม (Cross-link) เช่น การเกิดอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) พันธะไฮโดรเจน หรืออันตรกิริยาทางไฟฟ้าบนโมเลกุลของโปรตีน (Electrostatic interactions) และจะเกิดพันธะ Covalent ขึ้นได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น เช่นการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ (di-Sulfide bond) ปัจจัยในการเกิดพันธะและชนิดของโครงข่ายของเจล ขึ้นอยู่กับสมบัติของโปรตีน และสภาวะแวดล้อม (Smith, 1994)

สมบัติทางกายภาพของเจลจะเป็นความสมดุลระหว่างแรงผลักรัง (Repulse) และแรงดึงดูด (Attractive) ของโมเลกุลโปรตีน สำหรับกลไกการเกิดเจล จะเกิดจากความสมดุลของ อันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนกับตัวทำละลาย (Hermansson, 1979; Cheftel *et al.*, 1985; Ziegler and Foegeding, 1990; Kinsella *et al.*, 1994; Matsumura and Mori, 1996; Zayas, 1997) การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน และโปรตีนกับตัวทำละลายนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อการเกิดเจลของโปรตีน และส่งผลต่อ ชนิดและสมบัติของเจลเช่นเดียวกัน (Hermansson, 1979; Kinsella *et al.*, 1994) ซึ่ง Phillips และคณะ (1994) จำแนกปัจจัยในการเกิดเจลของโปรตีนออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

### 2.1 ปัจจัยภายใน

#### 2.2.1. อันตรกิริยาทางไฟฟ้าบนโมเลกุลของโปรตีน (Electrostatic-interactions)

ประจักษ์ของโมเลกุลโปรตีนถูกทำให้เปลี่ยนแปลงโดยแรงดึงดูดและแรงผลักระหว่างโมเลกุล ซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน และโปรตีนกับตัวทำละลาย (Phillips *et al.*, 1994) อัตราการเกิดอันตรกิริยาจะเกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงค่าความแข็งแรงของไอออน หรือ ค่ากรด-ด่าง

### 2.1.2. พันธะไดซัลไฟด์ (di-Sulfide bond)

พันธะไดซัลไฟด์ เป็นพันธะโควาเลนต์ ในสายโพลีเปปไทด์ ทั้งยังช่วยเพิ่มการเกิดเจลของโปรตีน ทำให้โครงข่ายของเจลเกิดความคงตัว (Clak and Lee-Tufnell, 1986) พันธะไดซัลไฟด์ ไม่ใช่พันธะที่สำคัญในการเกิดเจลของโปรตีน แต่พันธะชนิดนี้จะมีบทบาทต่อการเกิดเจล โดยจะมีความสัมพันธ์ต่อการเพิ่มน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลต่อความยาวของสายโปรตีนด้วย (Wong and Damodaran, 1990)

### 2.1.3. น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)

น้ำหนักโมเลกุล ส่งผลต่อการเกิดเจลภายในโครงข่ายเจล โดยที่การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็งแรงของเจลขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย และอุทกพลศาสตร์ ในสายโพลีเปปไทด์ในโครงข่ายเจล โดยที่น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่ำสุดที่โปรตีนสามารถเกิดโครงข่ายของเจลได้มีค่าประมาณ 23,000 ดาลตัน (Wong and Damodaran, 1990)

### 2.1.4. องค์ประกอบของกรดอะมิโน (Amino acid composition)

โปรตีนที่มีปริมาณกรดอะมิโนชนิดที่ไม่ชอบน้ำ (วาเลอีน โพรลีน ลิวซีน ไอโซ-ลิวซีน พีและนิลอะลานีน) น้อยกว่าร้อยละ 31.5 จะเกิดเจลที่มีลักษณะทึบแสง (Coagulum) ส่วนโปรตีนที่มีปริมาณของกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) สูงกว่าร้อยละ 31.5 จะเกิดเจลที่มีลักษณะโปร่งแสง (Translucent) (Shimada and Matsushita, 1980)

### 2.1.5. ปริมาณส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity)

กรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วจะเกิดนิวเคลียสของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ อยู่โดยรอบ โดยส่วนที่ชอบน้ำจะอยู่ในส่วนของตัวทำละลาย โดยที่น้ำ จะมีบทบาทที่สำคัญต่อการจัดระเบียบของสายโปรตีน (Mierovich and Scheraga, 1980) เนื่องจากเมื่ออยู่ในสารละลายกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำจะขจัดรวมตัวกันอยู่ภายในโมเลกุลของโปรตีน แล้วโมเลกุลของน้ำจะล้อมรอบอยู่ภายนอก ซึ่งเฉพาะส่วนที่ไม่ชอบน้ำเท่านั้นที่จะมีผลต่อปริมาณของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งเป็นค่าที่เป็นตัวแทนของความไม่ชอบน้ำของโมเลกุลโปรตีนนั้นๆ และเกี่ยวข้องไปถึงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับตัวทำละลายที่ล้อมรอบอยู่ (Keshavarz and Nakai, 1979)

## 2.2 ปัจจัยภายนอก

### 2.2.1. ความเข้มข้นของโปรตีน (Protein concentration)

การกระจายตัวของการสร้างพันธะข้ามในโมเลกุลขนาดใหญ่ นั้น ปริมาณเริ่มต้น และสัดส่วนของโปรตีนมีความสำคัญต่อการเกิดเจล หากความเข้มข้นของโปรตีนมีปริมาณต่ำกว่า ความเข้มข้นวิกฤต จะทำให้โครงข่ายสามมิติไม่สามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่อง จึงทำให้ไม่สามารถเกิดเจลได้ (Ferry, 1948) ดังนั้นความเข้มข้นของโปรตีนจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อความแข็งแรงของเจล (Semejima *et al.*, 1986)

### 2.2.2. ค่ากรด-ด่างของโปรตีน (pH of protein solution)

ประจุสุทธิของโมเลกุลโปรตีนที่จุดไอโซอิเล็กทริก จะมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อมรอบโปรตีนที่มีประจุสุทธิเข้าใกล้ศูนย์จะมีประจุเพิ่มขึ้น จึงทำให้โมเลกุลโปรตีนมีประจุสุทธิเพิ่มขึ้น ส่งผลให้แรงผลักทางไฟฟ้าระหว่างโมเลกุลสูงขึ้น ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องการในการเกิดอันตรกิริยาในระบบของเจล (Chef *et al.*, 1985; Hermansson, 1979; Kinsella *et al.*, 1994; Zayas, 1997)

### 2.2.3. อุณหภูมิ (Temperature)

เป็นหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญ เพราะเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการคลายสายของโปรตีน เมื่อค่าสัมประสิทธิ์ของอุณหภูมิการเกิดเจลสูง การเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนจะเกิดขึ้นเร็วกว่าการรวมตัวของโมเลกุลโปรตีน เมื่ออัตราการรวมตัวกันช้าลง ทำให้แรงดึงดูดระหว่างสายโปรตีนที่เสถียรน้อย ทำให้เกิดโครงข่ายของเจลที่โปร่งแสง (Ferry, 1948) จึงสามารถใช้อุณหภูมิในการปรับปรุงการเกิดโครงข่ายของเจลได้ (Pomeranz, 1991)

### 2.2.4. ความแรงของประจุ (Ionic strength)

ความแรงของประจุจะส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการดูดน้ำ การพองตัว และการละลายของโปรตีน ทำให้เกิดการเชื่อมโยงของโมเลกุลโปรตีนขึ้น (Boderias and Montero, 1988) ความแรงของประจุจะส่งผลต่อ โครงสร้างระดับจุลภาคในระบบของเจล ณ ที่ ค่าความแรงของประจุต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 0.1 โมลาร์) ของไอออนโมโนวาเลนต์ จะเกิดการปรับเกลียวสายในระบบ ในขณะที่ ค่าความแรงของประจุมากกว่าร้อยละ 0.1 โมลาร์ จะกลายเป็นระบบผสม (Foegeding *et al.*, 1995)

### 2.2.5. ชนิดของเกลือ (Types of salt)

ในระบบที่มีเกลือคลอไรด์ชนิดโมโนวาเลนต์ ( $\text{Na}^+$   $\text{Li}^+$  หรือ  $\text{K}^+$ ) ในปริมาณน้อยกว่า 0.1 โมลาร์ จะทำให้ระบบของเจลมีความเสถียร ความเข้มข้นของเกลือจะมีความจำเป็นต่อประจุในโครงสร้างระดับโมเลกุลของเจล ซึ่งจะขึ้นอยู่กับตำแหน่งของเกลือใน Hofmeister series โดยที่โครงข่ายของโปรตีนเจลมักจะเกิดได้ดีเมื่อมีเกลือไดวาเลนต์ ( $\text{Ca}^{++}$   $\text{Mg}^{++}$  หรือ  $\text{Br}^{++}$ ) ความเข้มข้นต่ำ (10-20 มล.โมลาร์) และมีค่ากรด-ด่าง เท่ากับ 7.0 (Foegeding *et al.*, 1955)

## 2.3 การชักนำให้เกิดโปรตีนเจล

คำนิยามของการเกิดเจลนั้นจะขึ้นอยู่กับทัศนะของผู้วิเคราะห์ และเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ (Ziegler and Foegeding, 1990) คำนิยามพื้นฐานของการเกิดโปรตีนเจล คือ การรวมตัว



กันอย่างต่อเนื่องของโมเลกุลที่เสียสภาพธรรมชาติ ทำให้เกิดโครงข่ายที่ต่อเนื่อง (Wong, 1989) โดยการเกิดเจลมีพื้นฐานอยู่ 2 ขั้นตอนคือ การเสียสภาพธรรมชาติ และการรวมตัวกันของโมเลกุลที่เสียสภาพธรรมชาติ (Kinsella *et al.*, 1994; Matsumoto and Mori, 1996) การชักนำให้เกิดเจลโดยวิธีทางเคมี และกายภาพ ดังแสดงในตารางที่ 2

**Table 2** Physical and chemical means to induce protein gelation

	<b>Ion</b>	After initial heating and salt addition, electrostatic repulsion or charges are shielded, forming a gel. Disruption of secondary structure induces a hydrophobic effect.
	<b>Urea</b>	Urea promotes intermolecular thiol- disulphide oxidation of thiol groups, resulting in a network formation.
<b>Chemical</b>		
	<b>Acid</b>	Slow pH reduction allows denaturation to form clusters or aggregates. These fractal clusters may be considered as the building blocks of the gel.
	<b>Enzymatic</b>	Enzyme catalyses cross-linking between protein glutamine residues to form a gel structure.
	<b>Heat</b>	Native protein partially unfolded by heat to form a network. Ordered matrix by aggregation of the molecules.
<b>Physical</b>	<b>High pressure</b>	Pressure (200–500 MPa) induces hydrophobic interactions and disulphide bonds between protein molecules, resulting in a rearrangement gel structure.

ที่มา: ดัดแปลงจาก Totosaus และคณะ (2002)

### 2.3.1 การชักนำให้เกิดเจลโดยวิธีทางเคมี

#### 2.3.1.1 การชักนำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์

การชักนำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์ของกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เช่น ซีสทีน และ เมทไธโอนีน ส่งผลให้โปรตีนเจลมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น (Grosch, 1986) เช่น การใช้วิตามินซี (L-ascorbic acid) ความเข้มข้น 250 และ 500 ppm. ในแป้งสาลีผสมแป้งถั่วอัตราส่วน 1:1 เวลาในการหมักโดว์ 45 นาที ทำให้ความยืดหยุ่นของโดว์เพิ่มขึ้น และการใช้วิตามินซีความเข้มข้น 500 ppm. จะมีค่าความยืดหยุ่นของโดว์สูงกว่าที่ความเข้มข้น 250 ppm. เนื่องจากปฏิกิริยารีดอกซ์ของดีไฮโดรแอสคอร์บิก แอซิด (DHHA) กับ กลูตาไธโอน (GSH) จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น แอลแอสคอร์บิกแอซิด (LAA) กับ ออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSSG) ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อไปกับโปรตีนที่มีหมู่ซัลไฮดริลเป็นองค์ประกอบ (PSH) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น โปรตีนที่เกิดพันธะไดซัลไฟด์กับกลูตาไธโอน (PSSG) และกลูตาไธโอน ต่อจากนั้น PSSG จะ เกิดปฏิกิริยากับซีสเทอีน (CSH) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นโปรตีนที่เกิดพันธะไดซัลไฟด์ซีสเทอีน (P-SS-C) และ จากปฏิกิริยาดังกล่าวจะเหนี่ยวนำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้น (Maforimbo *et al.*, 2006)

### 2.3.1.2 การชักนำโดยใช้กรด

การใช้กรดการชักนำให้เกิดเจลนั้นจะส่งผลต่อ อันตรกิริยาระหว่างประจุบนโมเลกุลในระบบของโปรตีนเจล เนื่องจากกรดจะลดแรงผลักระหว่างโมเลกุลของโปรตีน สำหรับโปรตีนปลานั้นสามารถใช้กรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก กรดทาร์ทาริก หรือ กรดซิตริก การชักนำให้เกิดเจลได้ แต่สารที่นิยมนำมาใช้มากที่สุดคือ กลูโคโนเดลตาแลคโตน ซึ่งเมื่อไฮโดรไลซ์ด้วยความร้อนจะเปลี่ยนเป็น กรดกลูโคนิก (Totousaus *et al.*, 2002) สำหรับการใส่กลูโคโนเดลตาแลคโตน ปริมาณร้อยละ 0.15 และ 0.25 (w/w) ชักนำให้เกิดเจลจากโปรตีน 2 ชนิด คือ Way protein isolate (WPI) และ Ovalbumin ที่ความเข้มข้นของโปรตีนร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิ 25°C โดยใช้เวลาในการเกิดเจล 21 ชม. ส่งผลให้ค่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น โดยที่ Ovalbumin มีค่าความแข็งแรงของเจลสูงกว่า WPI เพราะกลูโคโนเดลตาแลคโตนถูก ไฮโดรไลซ์เป็นกรดกลูโคนิกอย่างช้าๆ ทำให้ค่ากรด-ด่างของเจล เข้าใกล้จุดไอโซอิเล็กตริก ของ WPI และ Ovalbumin (Alting *et al.*, 2004)

## 3. Annealing

Annealing คือการบ่มสารพอลิเมอร์ภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า Onset melting temperature ( $T_o$ ) (Jacob and Delcour, 1998) หลังจาก Annealing แล้วโครงสร้างของพอลิเมอร์ จะเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้บางส่วนเกิดการจัดเรียงตัวเป็นผลึก (กล้านรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2546) Annealing มีผลทำให้ค่า  $T_o$  และ  $T_m$  (Average melting temperature) สูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจาก Annealing ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้าง เช่น อาจมีการจัดเรียงตัวกันใหม่ของพันธะไฮโดรเจนภายในเกลียวคู่ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงในลักษณะนี้จะไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของพลังงานเอนทาลปี ( $\Delta H$ ) (Yost and Hosenev, 1986; Stute, 1992 and Jacobs *et al.*, 1998) หรืออาจเกิดเกลียวคู่เพิ่มขึ้น ร่วมกับการจัดเรียงตัวใหม่ของพันธะไฮโดรเจนภายในเกลียวคู่ จะส่งผลให้ค่า  $\Delta H$  เพิ่มขึ้น (Hoover and Vasanthan 1994; Tester *et al.*, 2000 and Nakazawa and Wang, 2003) Annealing เป็นวิธีการที่มักใช้ศึกษาสารพอลิเมอร์ในกลุ่มสตาร์ช

โดย Annealing จะส่งผลต่อค่า Glass transition temperature (Tg) ทำให้สมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งสตาร์ชเปลี่ยนแปลงไป จากการศึกษากการ Anneal สตาร์ชข้าวที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ใช้อัตราส่วนของแป้งสตาร์ชข้าวต่อปริมาณน้ำ 1:4, 1:2, 3:4, 1:1, 4:3, 5:3 โดย Anneal ในถ้วย DSC (Differential scanning calorimetry pan) ทำให้ Tg เพิ่มขึ้น ที่อัตราส่วน 5:3 ทำให้ค่า Tg เพิ่มขึ้นมากที่สุด (Seow and Teo, 1993) Annealing ทำให้ชั้นอสัณฐานมีการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบมากขึ้น และเกิดการเชื่อมโยงกันระหว่างสายอะมิโลสด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้เกิดสภาวะ Glassy ภายในชั้น อสัณฐานมากขึ้น ส่งผลให้ค่า Tg เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Annealing ยังส่งผลให้ค่า To เพิ่มขึ้นด้วย (Tester *et al.*, 2000; เบญจลักษณ์ ศิริบุรณ, 2550) สำหรับการ Anneal เจลาตินเจลที่ผลิตจากหนังวัว ความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยใช้ขั้นตอนการ Anneal แตกต่างกันคือ การบ่มเจลที่อุณหภูมิ 15 และ 25°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง การบ่มเจลที่อุณหภูมิสองระดับ คือ 25°C เป็นเวลา 30 นาที แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 15 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และการบ่มเจลที่อุณหภูมิสามระดับ คือ 27°C และ 20°C ขั้นตอนละ 30 นาที แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 13 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า การ Anneal จะเพิ่มอุณหภูมิการหลอมเหลวของเจล การบ่มเจลที่อุณหภูมิ 15°C เพียงขั้นตอนเดียว จะมีอุณหภูมิการหลอมเหลวของเจลสูงที่สุด (35.7°C) ซึ่งไม่แตกต่างจากการ Annealing สองขั้นตอน (25-15) และสูงกว่าที่อุณหภูมิ 25°C เพียงขั้นตอนเดียว (30.2°C) สำหรับการบ่มเจลที่อุณหภูมิ สามระดับ (27-20-13) มีอุณหภูมิการหลอมเหลวของเจลด้อยที่สุด (Dranca and Vyazovkin, 2009)

#### 4. เจลาติน

เจลาติน (Gelatin) มาจากภาษาลาตินว่า Gelata หมายถึง ลักษณะที่แข็งตัว เย็นแล้วแข็งหรือลักษณะที่เหนียวหนืด (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) เจลาตินมีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้เกิดเจล หรือความหนืด ส่วนใหญ่ผลิตจากผลพลอยได้ของสัตว์ที่มีราคาถูกวัตถุดิบที่นิยมนำมาผลิตมากที่สุดคือ เอ็น หนังหรือกระดูกของโค กระบือ และสุกรเพราะให้เจลาตินที่มีคุณสมบัติที่ดีเนื่องจากเป็นแหล่งของคอลลาเจน (Collagen) ส่วนวัตถุดิบจากปลาพบว่าจะนำมาผลิตเจลาตินน้อยเนื่องจากเจลาตินที่ได้มีคุณภาพต่ำ (Ward, 1977)

ถึงแม้ว่าเจลาตินที่ผลิตจาก โค กระบือและสุกรจะมีคุณสมบัติที่ดี แต่ก็มีข้อจำกัดในการบริโภค ต่อผู้บริโภคบางกลุ่มเช่น ชาวมุสลิมที่ไม่สามารถบริโภคได้เพราะขัดกับหลักศาสนา ดังนั้นการผลิต เจลาตินจากปลาจึงเป็นทางเลือกที่ดีในการแก้ปัญหาดังกล่าว ในแต่ละปีการใช้ เจลาตินมีแนวโน้ม เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยทั่วโลกมีการใช้เจลาตินสูงถึง 200,000 ตันต่อปี โดยเฉพาะด้านอุตสาหกรรมอาหาร เป็นตลาดใหญ่ที่สุดของเจลาติน โดยมีประมาณ 30,000 ตันต่อปี ซึ่งใช้เป็น ส่วนประกอบใน อาหารชนิดต่างๆ เช่น ขนมหวาน ไอศกรีม โยเกิร์ต เป็นต้น รองลงมาคือ อุตสาหกรรมด้านการผลิต ยา ประมาณ 10,000 ตันต่อปี โดยนำไปผลิตแคปซูลหรืออาจนำไปใช้ใน อุตสาหกรรมถ่ายภาพโดย ใช้เคลือบแผ่นฟิล์มถ่ายรูป และใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อาหารเลี้ยง เชื้อจุลินทรีย์ และยังแพร่หลายไปยังกลุ่มที่นิยมบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ (Yoshimaru *et al.*, 2000)



อุณหภูมิ 22 และ 45 °ซ มีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่าอุณหภูมิ 22 °ซ เพียงพอต่อการสกัดเจลาตินจากปลาชนิดนี้ แต่เจลาตินที่สกัดที่อุณหภูมิ 65 °ซ มีสมบัติทางกายภาพลดลง แสดงว่าเกิดไฮโดรไลซิสเนื่องจากความร้อน ซึ่งส่งผลให้สมบัติเหล่านั้นลดลง นอกจากนี้ยังพบว่า สมบัติทางกายภาพที่ศึกษาแปรผันตามขนาดโมเลกุลของเจลาติน (Eysturskard *et al.*, 2009)

2. ค่ากรด-ด่างของสารละลายที่ใช้สกัด การสกัดเจลาตินจากปลา Saithe โดยใช้สารละลาย ที่มีค่ากรด-ด่าง 4-9 ซึ่งปรับ ค่ากรด-ด่าง ด้วยกรดไฮโดรคลอริกหรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการสกัดที่ 50 °ซ 3 ชม. พบว่า ค่ากรด-ด่าง ของสารละลาย และระยะเวลาการสกัด มีผลต่อผลผลิตและคุณภาพของเจลาตินที่สกัดได้ การสกัดโดยใช้สารละลายที่มีค่ากรด-ด่าง ต่ำจะทำให้ ได้ผลผลิตเจลาตินสูงขึ้น แต่ความแข็งแรงและความสว่างของเจลาตินจะสูงสุดที่ กรด-ด่าง 6-7 ในขณะที่การเพิ่มระยะเวลาการสกัดจะช่วยให้อัตราการสกัดเจลาตินได้มากขึ้น แต่ความแข็งแรง และค่าความสว่างของเจลาตินจะไม่แปรผันตรงกับระยะเวลาการสกัด ความแข็งแรง และความสว่างของเจลาตินเจลา จะเพิ่มขึ้นในช่วงแรก แต่การสกัดนานเกินไปจะทำให้โมเลกุลของคอลลาเจนถูกไฮโดรไลซ์ ซึ่งส่งผลให้ความแข็งแรงของเจลาตินลดลง (Cho *et al.*, 2006)

3. ระยะเวลาการสกัดเจลาติน มีผลต่อประสิทธิภาพการละลายของเจลาตินจากวัตถุดิบส่วนของตัวทำละลาย ซึ่ง Cho และคณะ (2006) ศึกษาการสกัดเจลาตินจากปลา saithe โดยใช้สารละลายที่มีค่ากรด-ด่างเท่ากับ 6.0 สกัดเจลาตินที่อุณหภูมิ 50 °ซ เป็นเวลา 3-6 ชม. พบว่า การสกัดเป็นเวลานานทำให้ผลผลิตเจลาตินเพิ่มขึ้น โดยความหนืด และความแข็งแรงของเจลาตินลดลงไม่มากนัก สภาวะการสกัดเจลาตินจากหนังปลาชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.4 การปรับสภาพวัตถุดิบมีทั้งการใช้ต่าง เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และ กรด เช่น กรดซิตริก หรือ กรดซัลฟิวริก หรือใช้กรดและด่างร่วมกัน ตามด้วยการสกัดที่อุณหภูมิ 45-70 °ซ โดย ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจะอยู่ในช่วง 2-18 ชม. พบว่า ร้อยละของผลผลิตเจลาตินที่ได้ขึ้นอยู่กับช่วง 6.5-23% ซึ่งแตกต่างกันไป ตามสภาวะที่สกัดและชนิดของปลา การสกัดเจลาตินจากปลาที่อาศัยในน้ำเย็น เช่น ปลาคอด และ ปลาแซลมอน จะได้เจลาตินค่อนข้างน้อย ตารางที่ 2.5 แสดงการศึกษาเกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเจลาตินจาก ปลาโดยใช้ RSM พบว่า การปรับสภาพหนังปลาด้วยด่างใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 24 ชม. ส่วนการปรับสภาพเกล็ดปลาใช้เวลาเพียง 3 ชม. สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาเพื่อให้ได้ผลผลิตเจลาตินสูงและเจลาตินมีความแข็งแรงของเจลาตินสูงคืออุณหภูมิในช่วง 43-59 °ซ ระยะเวลาการสกัด 4.7-5.8 ชม.

#### 4.1.2. การทำเจลาตินให้บริสุทธิ์

บางครั้งอาจมีการเติม Diatomaceous earth และ ผงถ่านกัมมันต์ (Activate carbon) ประมาณร้อยละ 5 ในสารละลายเจลาตินที่มี อุณหภูมิ 55-60 °ซ เป็นเวลา 4-6 ชม. ซึ่งสารเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นสารฟอกสี ทำให้สารละลายที่ได้มีความใส หลังจากนั้นจึงนำไปกรอง เพื่อกำจัดสิ่งแขวนลอยที่ไม่สามารถละลายได้เช่น ไขมัน หรือพวกเส้นใยคอลลาเจนที่ไม่สามารถละลายได้จึงช่วยทำให้เจลาตินใสได้ (Ockerman, 1988)

#### 4.1.3. การทำแห้งเจลาติน

หลังจากการสกัดเจลาตินแล้วจะนำสารละลายเจลาตินมาทำให้เข้มข้น โดยการระเหยน้ำด้วยเครื่องระเหยน้ำ (Evaporator) ซึ่งจะระเหยน้ำออกประมาณร้อยละ 50-75 ใช้อุณหภูมิประมาณ 50-70°C เนื่องจากสารละลายเจลาตินมีความไวต่ออุณหภูมิ (Thermosensitive fluid) (Ward, 1977) ดังนั้นควรใช้อุณหภูมิต่ำ เพราะความร้อนจะทำให้พันธะเปปไทด์เกิดการย่อยสลายจึงมีผลทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลต่ำ หลังจากระเหยน้ำออกแล้วก็จะนำเจลาตินที่ได้ไปทำแห้ง ซึ่งเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด ได้แก่ เครื่องทำแห้งแบบระเหิด (Freeze dryer) เจลาตินที่ได้จะมีคุณภาพที่ดีเนื่องจาก โครงสร้างไม่ถูกทำลายจากความร้อน แต่มีข้อเสียเนื่องจากราคาแพงจึงมีการใช้เครื่องมือชนิดอื่นแทน ได้แก่ การทำแห้งแบบอุโมงค์ (Drying tunnels) การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum drying) การอบแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum oven) และตู้อบไฟฟ้าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ (Hot air oven) ซึ่งการที่จะ เลือกใช้เครื่องมือชนิดใดจะต้องมีการควบคุมอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ให้เหมาะสม (Mann, 1962)

#### 4.2 เจลาตินจากปลา

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตเจลาตินปลาที่จำหน่ายทางการค้าในช่วงแรกคือ หนังปลา เช่น หนังปลาค็อด หนังปลาแฮดต็อก และหนังปลาพอลล็อก ซึ่งเป็นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมแช่เยือกแข็ง (Norland, 1990) ตารางที่ 3 แสดงชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในเจลาตินจากหนังปลาชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับเจลาตินที่สกัดจากหนังสุกร จะเห็นได้ว่าเจลาตินที่สกัดมาจากหนังปลาจะมีโพรลีน (ประมาณร้อยละ 12) และไฮดรอกซีโพรลีน (ประมาณร้อยละ 6) น้อยกว่าคอลลาเจนจากหนังสุกรซึ่งมีปริมาณ โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน ร้อยละ 13 และ 9 ตามลำดับด้วยสาเหตุนี้จึงทำให้คอลลาเจนจากหนังปลามีสมบัติต่าง ๆ เช่น การให้ความหนืดหรือความแข็งแรงของเจลต่ำกว่า เจลาตินจากหนังสุกร ทั้งนี้เนื่องจากกรดอะมิโนดังกล่าวจะเป็นส่วนที่มีไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบมาก ซึ่งมีผลต่อการเกิดพันธะที่เกี่ยวข้องกับสมบัติดังกล่าว (Karim and Bhat, 2009) ปริมาณของกรดอะมิโน โดยเฉพาะ ไฮดรอกซีโพรลีนขึ้นกับสภาพสิ่งแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ และมีผลกระทบต่อความ คงตัวต่อความร้อนของคอลลาเจน โดยคอลลาเจนจากปลาที่อาศัยในน้ำเย็นมีปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนที่ต่ำกว่า และมีความคงตัวต่อความร้อนที่ต่ำกว่าปลาที่อาศัยในเขตน้ำอุ่น นอกจากนี้ปลาที่อาศัยในเขตน้ำเย็นยังมีกรด ไฮดรอกซีอะมิโน ได้แก่ เซอรีน และทรีโอนีน ในปริมาณสูง (Wasswa et al., 2007) สำหรับเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาตาหวานสองสายพันธุ์ ได้แก่ ปลาตาหวานหนังหนา (*Priacanthus tayenus*) และปลาตาหวานหนังบาง (*Priacanthus macracanthus*) ประกอบด้วยกรดอะมิโน(โพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีน) ในปริมาณที่สูง (186.29–187.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เจลาตินจากหนังปลาทั้งสองประกอบด้วยสายโซ่ แอลฟาI, แอลฟาII และ เบตา เป็นองค์ประกอบหลัก (ภาพที่ 2) นอกจากนี้เจลาตินที่สกัดได้มีการละลายที่สูงกว่าร้อยละ 90 ที่ค่ากรด-ด่างในช่วงกว้าง (1-10) ค่าความแข็งแรงของเจล (Gel strength) ที่เตรียมจากเจลาตินหนังปลา *Priacanthus tayenus* และ *Priacanthus macracanthus* มีค่าเท่ากับ 227.75

และ 254.10 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเจลาตินจากหนังโคทางการค้า (293.22 กรัม) (Benjakul *et al.*, 2009)

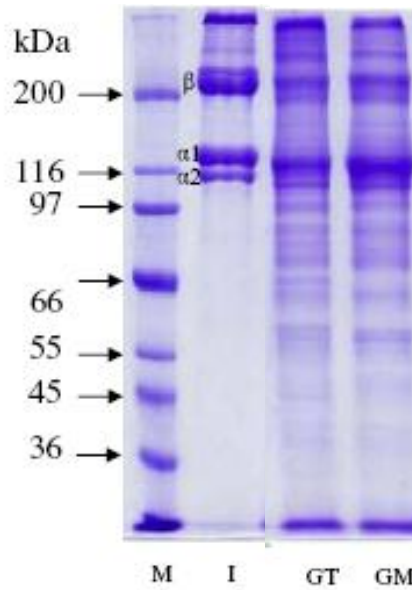
**Table 3** Amino acid composition of gelatin from skin of fish and porcine

Amino acid	Bigeye snapper	Cod	Alaska pollack	Tilapia	Porcine
Ala	10.3	9.6	10.8	12.3	11.2
Arg	9.2	5.6	5.1	4.7	4.9
Asx	6.1	5.2	5.1	4.8	4.6
Glx	10.3	7.8	7.4	6.9	7.2
Gly	19.3	34.4	35.8	34.7	33.0
His	1.2	0.8	0.8	0.6	0.4
Hyl	-	0.6	0.6	0.8	0.6
Hyp	9.1	5.0	5.5	7.9	9.1
Ile	1.0	1.1	1.1	0.8	10.0
Leu	2.7	2.2	2.0	2.3	2.4
Lys	3.8	2.9	2.6	2.5	2.7
Met	1.7	1.7	1.6	0.9	0.4
Phe	2.1	1.6	1.2	1.3	1.4
Pro	13.4	10.6	9.5	11.9	13.2
Ser	3.8	6.4	6.3	3.5	3.5
Thr	3.2	2.5	2.5	2.4	1.8
Tyr	6	3	3	2	3
Val	21	18	18	15	26

ที่มา: ดัดแปลงจาก Karim และ Bhat (2009)

หมายเหตุ: - ไม่ได้ศึกษา





**Figure2.** SDS-PAGE protein pattern of bigeye snapper (thick skin; GT) and (thin skin; GM)

ที่มา: Benjakul และคณะ (2009)

หมายเหตุ: M และ I คือ โปรตีนมาร์คเกอร์ และ คอลลาเจน type I

#### 4.3 สมบัติของเจลาติน

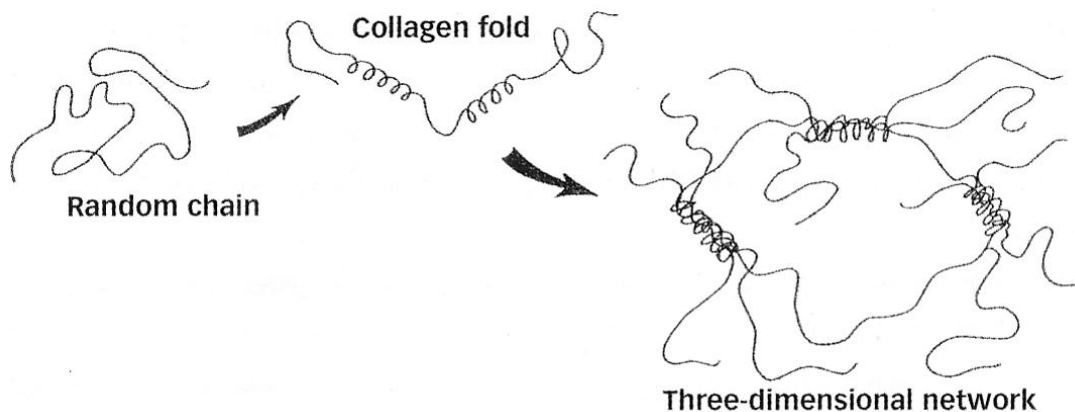
##### 4.3.1 การละลายน้ำ

เจลาตินละลายได้เพียงบางส่วนในน้ำเย็น อย่างไรก็ตาม เมื่อคนเจลาตินแห้งในน้ำเย็น เจลาตินจะดูดน้ำและพองตัว โดยของผสมนี้ควรมีเจลาตินไม่เกินร้อยละ 34 เมื่อให้ความร้อนที่ 40°C ประมาณ 30 นาที เจลาตินจะหลอมเหลวเกิดเป็นสารละลายเนื้อเดียว อีกวิธีหนึ่งในการละลายเจลาตินคือ คนเจลาตินแห้งในน้ำร้อน โดยต้องคนตลอดเวลาจนกระทั่งได้เป็นสารละลาย วิธีนี้นิยมใช้เตรียมสารละลายเจลาตินที่มีความเข้มข้นไม่สูงมากนัก เมื่อนำสารละลายเจลาตินที่อยู่ในสถานะซอล (sol) ไปทำแห้งแบบพ่นฝอย หรือแบบลูกกลิ้ง จะได้เจลาตินที่ละลายในน้ำเย็น อย่างไรก็ตาม เจลที่ได้จะขุ่น ดังนั้นเจลาตินชนิดนี้จึงมักใช้ทำพุดดิ้งนม หรือผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการความใส

สารละลายเจลาตินในน้ำ สามารถผสมกับแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ไฮดรอกซีหลายหมู่ (polyhydric alcohols) เช่น กลีเซอรอล โพรพิลีน ไกลคอล ซอร์บิทอล เป็นต้น ได้อย่างไม่จำกัด ซึ่งใช้ปรับปรุงความแข็งของฟิล์มจากเจลาตินได้ ในผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำน้อย เช่น ลูกกวาด ซึ่งมีสารอื่นที่แย่งน้ำกับเจลาติน เช่น กลูโคสไซรัป ทำให้เจลาตินตกตะกอนและเกิดความขุ่น ในกรณีนี้ ความสามารถในการละลายของเจลาตินจะขึ้นอยู่กับประจุของโมเลกุลโปรตีนหรือค่ากรด-ด่าง ของผลิตภัณฑ์ ดังนั้น หากผลิตภัณฑ์มีค่ากรด-ด่าง ห่างจากจุดไอโซอิเล็กทริกของเจลาตินมากเท่าใดความสามารถในการละลาย และประสิทธิภาพของเจลาตินก็จะมากขึ้นเท่านั้น (Cole, 2000)

### 4.3.2 การเกิดเจล

เจลาตินเป็นสารผสมของสายพอลิเมอร์ที่มีความยาวแตกต่างกัน เมื่อละลายน้ำจะไม่เป็นสารละลายแท้ (Real solution) แต่จะเป็นสารละลายคอลลอยด์ (Colloidal solution) หรือซอล (Sol) สารละลายคอลลอยด์จากเจลาตินนี้ ในทางฟิสิกส์เคมีถือว่าเป็น “สารละลายคอลลอยด์ในอุดมคติ” เมื่อทำให้เย็นซอลจะเปลี่ยนเป็นเจล และเมื่อทำให้อุ่นก็จะกลับเป็นซอลอีกครั้ง กระบวนการเกิดเจลที่ย้อนกลับได้อย่างไม่จำกัดในเชิงทฤษฎีนี้ถือว่าเป็นสมบัติที่สำคัญที่สุดของ เจลาติน ไฮโดรคอลลอยด์อื่น เช่น แอลจีเนต คาราจีแนน หรือเพคติน สามารถเกิดเจลได้เช่นกัน แต่การเกิดเจลของสารเหล่านี้ไม่สามารถย้อนกลับได้ หรือย้อนกลับได้อย่างจำกัด (Schrieber and Gareis, 2007) สารละลายเจลาตินเจือจางเป็นของไหลแบบนิวโตเนียน โมเลกุลเจลาตินอยู่ในรูป Random coil แต่เมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง โมเลกุลของเจลาตินจะเริ่มขดตัวคล้ายกับการขดตัวของคอลลาเจน โมเลกุลที่เคลื่อนที่จะเริ่มจับตัวกันเกิดเป็น Cluster ขนาดเล็ก เมื่ออุณหภูมิลดลงจนถึงจุดเกิดเจล โมเลกุลเจลาตินจะจับตัวกันมากขึ้นจนเกิดเป็นโครงสร้างสามมิติ (Figure3) พันธะระหว่างโมเลกุล คงตัวมากขึ้น พันธะหลักที่เกี่ยวข้องกับการจับตัวกันของโมเลกุลเจลาตินคือพันธะไฮโดรเจน ส่วน พันธะไฮโดรโฟบิก และ การเกิดอันตรกิริยาทางไฟฟ้า (Electrostatic interaction) มีผลเล็กน้อย เจลที่เกิดขึ้นมีสมบัติแบบวิสโคอีลาสติก (Viscoelastic properties) การเปลี่ยนเฟสระหว่างซอลและเจลนี้ เรียกว่า Sol-gel transition (Schrieber and Gareis, 2007)



**Figure3.** Gelation of gelatin, the transition from Sol to the gels during cooling.

ที่มา: Schrieber และ Gareis (2007)

สมบัติของเจลาตินที่นำใช้มากที่สุดในการอุตสาหกรรมคือสมบัติการเกิดเจล สมบัตินี้ใช้กำหนดราคาของเจลาตินโดยส่วนใหญ่ ยกเว้นเจลาตินชนิดที่ไม่เกิดเจล ดังนั้นความแข็งแรงของเจลจึงเป็นลักษณะที่สำคัญที่สุดของเจลาติน (Schrieber and Gareis, 2007)

ค่าบลูม (Bloom value) เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถในการเกิดเจลของเจลาติน ค่านี้เป็นแรงในหน่วยกรัมที่ใช้ในการกดหัววัดขนาดครึ่งนิ้วลงไป ในเจลความเข้มข้นร้อยละ 6.67 ปริมาณ 112 กรัม เป็นระยะทาง 4 มล. เจลที่ใช้ต้องผ่านการป่มที่ 10°C เป็นเวลา 16-18 ชม. เจลาตินที่

จำหน่ายทางการค้ามีความแข็งแรงของเจลอยู่ในช่วง 50-300 บลูม เจลาตินที่มีค่าบลูม 200-300 กรัมถือว่า มีค่าบลูมสูง ส่วนเจลาตินที่มีค่าบลูมที่ 100-200 ถือว่ามีค่าบลูมปานกลาง และที่มีค่าบลูม 50-100 ถือว่ามีค่าบลูมต่ำ เจลาตินที่มีค่าบลูมสูงจะมีจุดหลอมเหลวและจุดเกิด เจลสูง ใช้ระยะเวลา การเกิดเจลสั้น รวมทั้งมักจะมีสีอ่อน มีกลิ่นและรสชาติดีกว่าชนิดที่มีค่าบลูมต่ำ ความสามารถในการ เกิดเจลสูงยังหมายถึงปริมาณที่น้อยลงเพื่อทำให้ได้เจลที่มีความแข็งแรงเท่ากัน (Schrieber and Gareis, 2007) การทดสอบความแข็งแรงของเจลนี้จะต้องทำตามวิธีที่ใช้ทดสอบอย่างเคร่งครัด เนื่องจากความแข็งแรงของเจลขึ้นอยู่กับความเข้มข้นอย่างมาก ดังนั้นจึงต้องชั่งเจลาตินและตวงน้ำ ให้ถูกต้อง ภาชนะบรรจุตัวอย่างจะต้องมีรูปร่างตามที่กำหนด การละลายเจลาตินต้องทำที่อุณหภูมิ ไม่เกิน 60°C และอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 50-55°C เป็นเวลา 20 นาที การสูญเสียน้ำระหว่างการ ให้ความร้อนนี้อาจทำให้ความเข้มข้นของเจลาตินเพิ่มขึ้นและส่งผลต่อค่าบลูม ดังนั้นจึงต้องปิด ภาชนะบรรจุตัวอย่างระหว่างการละลายและต้องนำน้ำที่กลั่นตัวกลับคืนสู่ตัวอย่าง นอกจากนี้ต้อง ระวังไม่ให้เกิดฟองระหว่างการเตรียมตัวอย่าง การเกิดเจลจะต้องทำตามสภาวะมาตรฐาน เนื่องจาก กระบวนการเกิดเจลเกิดขึ้นอย่างช้าๆ การทำให้เย็นอย่างรวดเร็วจะทำให้ค่าบลูมลดลงประมาณร้อยละ 10 ความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้นระหว่างการบ่มจนถึง 16-18 ชม. หลังจากนั้นความแข็งแรงของ เจลจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย อุณหภูมิและระยะเวลาการบ่มจึงส่งผลต่อค่าที่วิเคราะห์อย่างมาก ดังนั้น จึงนิยมทิ้งให้เจลแข็งตัวในอ่างน้ำเย็นอุณหภูมิ 10°C การเบี่ยงเบนของอุณหภูมิไม่ควรเกิน  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  (Schrieber and Gareis, 2007)

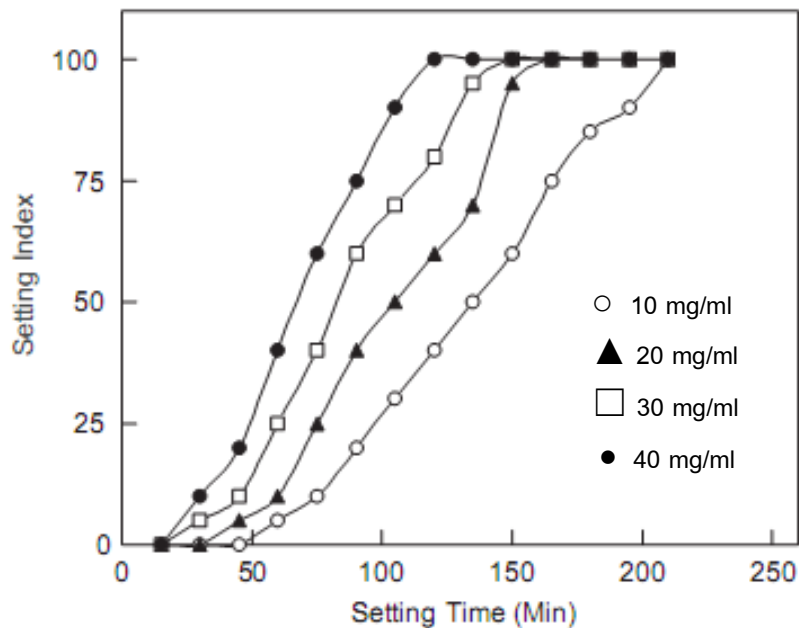
โดยทั่วไป เจลาตินที่มีมวลโมเลกุลต่ำจะให้ความแข็งแรงของเจลและความหนืดต่ำ อย่างไรก็ตาม สายแอลฟา ( $\alpha$ -chain) ของคอลลาเจนซึ่งมีมวลโมเลกุล 100 กิโลดาลตัน และให้ความแข็งแรง ของเจล 364 บลูม จะเป็นองค์ประกอบที่สัมพันธ์กับความแข็งแรงของเจลมากที่สุด ในขณะที่โมเลกุล ขนาดใหญ่กว่าคือสายเบตา ( $\beta$ -chain) ที่มีมวลโมเลกุล 200 กิโลดาลตัน และสายแกมมา ( $\gamma$ -chain) ที่มีมวลโมเลกุล 300 กิโลดาลตัน ตลอดจนไมโครเจล (microgel) ที่มีมวลโมเลกุลมากกว่า 300 กิโล ดาลตัน พบว่ามีความสัมพันธ์กับความแข็งแรงของเจลเพียงเล็กน้อย แต่มีความสัมพันธ์อย่างมาก กับค่าความหนืด (Cole, 2000)

เจลาตินฟองตัวเมื่ออยู่ในน้ำ โดยสามารถดูดน้ำได้ 5-10 เท่าของปริมาตรเดิม เจลาตินจึงมี สมบัติการดูดน้ำที่ดี ตัวอย่างการใช้ประโยชน์ในด้านนี้คือการผลิตแฮมกระป๋อง ซึ่งการเติม เจลาตินลงในกระป๋องก่อนการฆ่าเชื้อ จะทำให้น้ำที่ไหลออกจากแฮม (exudates) ในระหว่างการให้ ความร้อน ถูกเจลาตินดูดซับและเกิดเป็นเจล (Cole, 2000) การผลิตลูกกวาดแบบเหนียว เช่น กัมมี (gummy) เจลาตินจะทำหน้าที่เป็นตัวประสานของผลิตภัณฑ์กัมมี โดยมีส่วนผสมหลักคือเจลาติน น้ำตาล และกลูโคสไซรัป ความไม่เข้ากันระหว่างเจลาตินและกลูโคสไซรัปอาจเกิดขึ้นได้ตามความ เข้มข้นของโพลีเมอร์กลูโคสที่มีกลูโคสมากกว่า 2 หน่วย กล่าวคือในผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำน้อย โพลีเมอร์ กลูโคสจะแย่งน้ำกับเจลาติน ซึ่งอาจทำให้เจลาตินตกตะกอน และส่งผลให้ผลิตภัณฑ์แข็งและสูญเสีย การเป็นเจล เจลาตินต่างชนิดกันที่มีสมบัติในน้ำคล้ายกัน อาจมีสมบัติต่างกัน ผลิตภัณฑ์ลูกกวาด (Cole, 2000) ผลไม้สดบางชนิด เช่น สับปะรดและมะละกอมีเอนไซม์ย่อยโปรตีนชนิดโบรมีเลน และ

ปาเปน ตามลำดับ เอนไซม์นี้จะไฮโดรไลซ์ เจลาติน ทำให้สูญเสียสมบัติการเกิดเจล ดังนั้นจึงจำเป็นต้องให้ความร้อนกับผลไม้เพื่อทำลายเอนไซม์ย่อยโปรตีนก่อนทำการเติมผลไม้ลงในสารละลายเจลาติน (Cole, 2000)

#### 4.3.2.1 ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อสมบัติการเกิดเจลของเจลาติน

1. ความเข้มข้นของเจลาติน ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและความแข็งแรงของเจลจะขึ้นอยู่กับชนิด และ วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการผลิตเจลาติน ซึ่งค่าความแข็งแรงของเจลสามารถคำนวณได้จากสมการ  $b=kC^n$  (Johnson-Bank, 1990; Ferry, 1984) โดยที่  $b$  คือ ความแข็งแรงของเจล (bloom strength)  $n$  ความเข้มข้นของเจลาตินที่ใช้ทดสอบ,  $k$  คือ อัตราส่วนคงที่,  $C$  คือ ความเข้มข้นของ เจลาติน ( $w/w$ ) และ  $n$  เป็นค่าที่จะ เปลี่ยนแปลงตามชนิดของเจลาติน สำหรับ เจลาตินที่มีความแข็งแรงสูง มีค่าเท่ากับ 1.7 และ เจลาตินที่มีความแข็งแรงต่ำกว่าจะมีค่าประมาณ 1.8-1.9 สำหรับสมบัติการเกิดเจลของเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาตาหวาน (Bigeye snapper; *Priacanthus hamrur*) โดยใช้ความเข้มข้นของเจลาติน 4 ระดับคือ 10 20 30 และ 40 มก. ต่อมล. โดยใช้อุณหภูมิการเกิดเจลที่ 5°C เก็บตัวอย่างเพื่อวัดค่าดรรชนีการเกิดเจล ทุกๆ 5 นาที พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเจลาตินเพิ่มขึ้นระยะเวลาการเกิดเจลจะลดลงดังแสดงในภาพที่ 4 โดยที่ความเข้มข้น 40 มก.ต่อมล. จะใช้เวลาการเกิดเจลประมาณ 2 ชม. ซึ่งเป็นระยะเวลาที่น้อยที่สุด ( $p<0.05$ ) (Binsi *et al.*, 2009) นอกจากนี้ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นที่แตกต่างกันของเจลาตินต่อความแข็งแรงของเจลโดยใช้เจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 2 3 4 5 6 8 10 12 และ 15 ( $w/w$ ) ใช้ระยะเวลาการเกิดเจล 4 ชม. ที่อุณหภูมิ 20°C พบว่าความแข็งแรงของเจลมีความสัมพันธ์กับเข้มข้นของเจลาตินในเชิงบวก โดยเมื่อความเข้มข้นของเจลาตินเพิ่มขึ้นเจลจะมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ( $w/w$ ) ให้ค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุดและไม่แตกต่างกับที่ความเข้มข้นร้อยละ 12 และ 15 ( $w/w$ ) (Bot *et al.*, 1996)



**Figure 4.** การเกิดเจลของเจลาตินจากหนังปลาตาหวานที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน  
ที่มา : Binsi และคณะ (2009)

2. ค่ากรด-ด่าง และความแรงของประจุ มีความสำคัญต่อค่าความแข็งแรงของเจล โดยเฉพาะในสภาวะที่มีค่ากรด-ด่าง สูง และค่ากรด-ด่างระหว่าง 4-9 ไม่ส่งผลต่อค่าความแข็งแรงของเจล โดยที่ค่ากรด-ด่าง จะส่งผลต่อการเกิดเจลของเจลาตินที่มีความเข้มข้นต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 2) มากกว่าเจลาตินที่มีความเข้มข้นสูง (มากกว่าร้อยละ 10) (Johnson-Banks, 1990) ค่ากรด-ด่าง และความแรงของประจุ มีความสำคัญต่อสมดุลของประจุในโมเลกุลของโปรตีน และทำให้เกิดโครงข่ายของเจลที่แข็งแรง Hatta *et al.* (1986) ศึกษาผลของค่ากรด-ด่าง และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อ ค่าความขุ่น และความแข็งแรงของ Ovalbumin เจล ความเข้มข้นร้อยละ 5 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C พบว่า การไม่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ทำให้สารละลาย Ovalbumin ไม่เกิดเจล สำหรับตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ (10-20 มล.โมลาร์) และค่ากรด-ด่าง ใกล้ จุดไอโซอิเล็กตริก ของ Ovalbumin (4.7) ให้เจลที่มีลักษณะขุ่น อ่อนนุ่ม และเกิดเจลโปร่งแสง สำหรับตัวอย่างที่มีค่ากรด-ด่าง สูงกว่าหรือ ต่ำกว่าจุดไอโซอิเล็กตริก โดยที่ค่ากรด-ด่างเท่ากับ 3 และ 7 จะเกิดเจลที่แข็งที่สุด สำหรับค่าความขุ่นของเจลจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเกลือ ในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง (30-80 มล.โมลาร์) ให้เจลที่มีลักษณะขุ่น โดยที่ตัวอย่างที่มีค่ากรด-ด่างเท่ากับ 3.5 และ 7.5 จะเกิดเจลที่มีความแข็งแรงมากที่สุด เมื่อมีความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 30 และ 50 มล.โมลาร์ ตามลำดับ และจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้น

3. อุณหภูมิ และระยะเวลาการเกิดเจล ค่าความแข็งแรงของเจล จะขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ และระยะเวลาการเกิดเจล โดยที่ ค่าความแข็งแรงของเจลจะลดลง เมื่ออุณหภูมิ การเกิดเจลเพิ่มขึ้น และความแข็งแรงของเจลจะแปรผันตรงกับระยะเวลาการเกิดเจล (Choi and Regenstein, 2000) การศึกษาความสัมพันธ์ของระยะเวลาในการเกิดเจลต่อความแข็งแรงของเจ

ลจากเจลาติน ใช้ความเข้มข้นของเจลาตินร้อยละ 8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และระยะเวลาการเกิด เจลที่ 1 2 3 4 6 8 20 28 และ 96 ชม. ค่ากรด-ด่าง เท่ากับ 5.5 พบว่า ความแข็งแรงของเจลมี ความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเกิดเจลในเชิงบวก โดยเมื่อระยะเวลาการเกิดเจลเพิ่มขึ้นเจลจะมีความ แข็งแรงเพิ่มขึ้น ซึ่งในช่วงแรกของการเกิดเจลความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (1-2 ชม.) และจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนมีค่าคงที่ (4-96 ชม.) (Bot *et al.*, 1996)

#### 4.3.3. ความหนืด

ความหนืดเป็นสมบัติที่สำคัญอันดับสองของเจลาติน ขึ้นอยู่กับการใช้งาน เจลาตินที่มีความหนืดสูงใช้สำหรับการทำให้มีลชั้นคงตัว อย่างไรก็ตาม ในการผลิตลูกกวาดที่ต้อง ขึ้นรูปจะนิยมใช้เจลาตินชนิดความหนืดต่ำเพื่อป้องกันการไหลตามเป็นเส้น (Tailing effect) ในขณะที่ การผลิตฟิล์มเจลาตินนิยมใช้เจลาตินความหนืดสูง (Cole, 2000)

วิธีมาตรฐานในการวัดความหนืดคือการใช้ปิเปต โดยวัดระยะเวลาการไหลออกของ สารละลายเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 6.67 ปริมาตร 100 มล. ที่มีอุณหภูมิ 60°ซ และรายงานผลใน รูป มล.ปาสคาร์ล ส่วนในกรณีของเจลาตินไฮโดรไลเสต จะใช้สารละลายเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 10 หรือ 20 ที่อุณหภูมิ 25 หรือ 30°ซ ในการใช้งานบางอย่างอาจวัดโดยใช้เครื่องวัดความหนืด (Rotary viscometer) เครื่องรีโอมิเตอร์ หรืออุปกรณ์อื่นๆ กับสารละลายเจลาตินที่มีความเข้มข้นและ อุณหภูมิแตกต่างกัน (Schrieber and Gareis, 2007)

#### 4.3.4 การเกิดโฟม

เจลาตินเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้โฟมคงตัว สมบัตินี้นำไปใช้ ในการผลิต มาร์ชเมลโลว์ เจลาตินต่างชนิดกันทำให้โฟมเสถียรได้ต่างกัน จึงต้องเลือก เจลาตินให้ เหมาะสม ในการผลิตมาร์ชเมลโลว์นั้น ยังใช้สมบัติการเกิดฟิล์มของเจลาตินในการทำให้โฟมเสถียร ระหว่างการทำให้เย็น และเนื่องจากผลิตภัณฑ์ชนิดนี้มักมีความเป็นกรดต่ำ จึงจำเป็นต้องทำให้มี ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 15 เพื่อป้องกันการระเหยระหว่างการเก็บรักษา ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่มีมีความเป็น กรดสูงกว่า จึงสามารถให้มีความชื้นสูงถึงร้อยละ 24 (Cole, 2000)

#### 4.3.5 การยึดติด

เจลาตินมีสมบัติเป็นสารยึดติด จึงสามารถใช้เป็นกาวจากสัตว์ โดยใช้ สารละลายเจลาตินที่ยังอุ่นและต้องไม่เกิดเจลก่อนที่พื้นผิวจะติดกัน การใช้ประโยชน์จาก เจลาตินในด้านนี้คือการผลิตเม็ดยาหรือเม็ดลูกกวาดที่ต้องเชื่อมชั้นเข้าด้วยกัน (Cole, 2000)

#### 4.3.6 การเกิดฟิล์ม

สมบัติการเกิดฟิล์มของเจลาตินถูกนำมาใช้ในการผลิตแคปซูลยาทั้งชนิด แข็งและอ่อน ฟิล์มเจลาตินมักจะหดตัวระหว่างการทำให้แห้ง ดังนั้นจึงมักเติมแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ไฮ ดรอกซีหลายหมู่ (Polyhydric alcohols) เพื่อปรับปรุงการยึดติดและความยืดหยุ่นของฟิล์มเจลาติน

ในการผลิตฟิล์มเจลาตินนั้นควรใช้เจลาตินชนิดที่มีความหนืดสูงมากกว่าชนิดที่มีความหนืดต่ำ (Cole, 2000)

#### 4.3.7 การเป็นอิมัลชันไฟเออร์

เจลาตินทำให้อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำคงตัวโดยไม่จำเป็นต้องเกิดเจล โดยเพิ่มความหนืดของเฟสน้ำ อย่างไรก็ตามความหนืดของเจลาตินขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต เจลาตินชนิด A ซึ่งปรับสภาพด้วยกรดมีความหนืดประมาณครึ่งหนึ่งของเจลาตินชนิด B ซึ่งปรับสภาพด้วยด่าง ดังนั้นเจลาตินชนิด B จึงเหมาะสมสำหรับทำให้อิมัลชันคงตัว (Schrieber and Gareis, 2007)

#### 4.3.8 การหลอมเหลวและ การผันกลับ

การเกิดเจลเป็นสมบัติหลักของเจลาติน แต่เมื่อเจลได้รับอุณหภูมิที่สูงขึ้น เจลจะเกิดการหลอมเหลว เรียกอุณหภูมิที่เจลหลอมเหลวว่า จุดหลอมเหลวของเจล ( $T_m$ ) ซึ่งจุดหลอมเหลวของ เจลาตินมักจะมีค่าต่ำกว่าอุณหภูมิของร่างกายมนุษย์ และเจลาตินจากปลาจะมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าเจลาตินที่ได้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น สุนัข หรือ โค ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและสัดส่วนของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเจลาตินชนิดนั้นๆ โดยเจลาตินจากสุนัขและโคมีจุดหลอมเหลวประมาณ 20-25 °ซ และ 28-31 °ซ ตามลำดับ และเจลาตินจากปลามีอุณหภูมิการเกิดเจลที่ 8-25 °ซ และมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 11-28 °ซ (Karim and Bhat, 2008) ดังตารางที่ 4

**Table 4** Gelling temperature and melting temperature of gelatin from some fish species

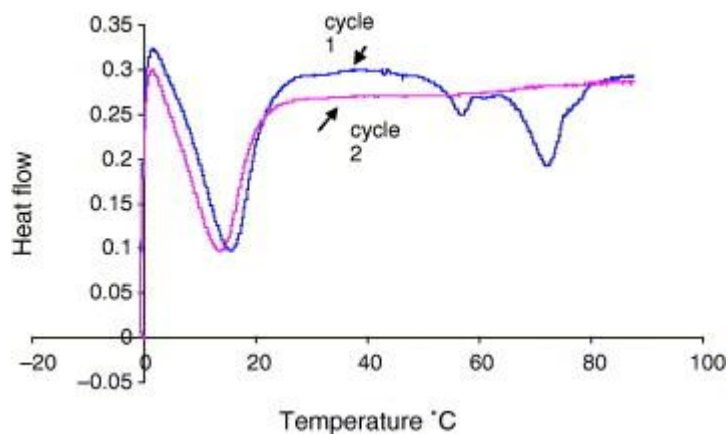
Fish species	Gelling temperature (°C)	Melting temperature (°C)
Cod	11-12	13.8
Hake	11-12	14
Sole	18-19	19.4
Nile perch	19.5	26.3
Yellow fin tuna skin	18.7	24.3
Cat fish	15-18	23-27

ที่มา: ดัดแปลงจาก Karim และ Bhat (2008)

##### 4.3.8.1 การผันกลับของเจลาตินเจล (Reversibility)

การผันกลับของเจลาตินเจล จะเกิดขึ้นภายหลังให้ความร้อนแก่เจล แล้วลดอุณหภูมิลงทำให้สายโมเลกุลของเจลาตินกลับมาจับกันเป็นโครงข่ายสามมิติและเกิดเจลอีกครั้ง การศึกษาการผันกลับของเจลาตินเจล ด้วยเทคนิค DSC (Differential Scanning Calorimeter)

ซึ่งใช้หลักการการดูดความร้อนของสารแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากผลึกเป็นลักษณะอสัณฐาน (Cycle1) เรียกจุดที่โมเลกุลใช้พลังงานเฉลี่ยในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากผลึกเป็นลักษณะอสัณฐานสูงสุดว่า จุดหลอมเหลว (Tm) และเมื่อลดอุณหภูมิลงโมเลกุลจะเปลี่ยนแปลงจากลักษณะอสัณฐานเป็นผลึกอีกครั้ง (Cycle2) เรียกการเกิดผลึกขึ้นอีกครั้งนี้ว่า การผันกลับ ดังแสดงในภาพที่ 5 ซึ่งโดยทั่วไปแล้วอุณหภูมิหลอมเหลว (Tm) จะมีค่าสูงกว่าอุณหภูมิที่เกิดการผันกลับ (Badii and Howell, 2006)



**Figure5.** DSC thermogram of gelatin gel

ที่มา: Badii และ Howell (2006)

#### 4.4 ความคงตัวของเจลาติน

เจลาตินแห้งมีอายุการเก็บไม่จำกัด ตราบใดที่ไม่ได้รับความชื้นจนทำให้อุณหภูมิจากเกิดสภาวะเหมือนแก้ว (Glass transition) ต่ำกว่าอุณหภูมิจากเก็บรักษา ซึ่งเจลาตินหนึ่งโคที่มีความชื้นร้อยละ 12.9 เริ่มเกิด สภาวะเหมือนแก้ว ที่อุณหภูมิ 48°C เจลาตินหนึ่งสุกรที่มีความชื้นร้อยละ 12.7 เริ่มเกิดสภาวะเหมือนแก้ว ที่อุณหภูมิ 44°C แสดงว่าสามารถเก็บรักษาเจลาตินจากหนึ่งโคสุกรที่มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 13 ที่อุณหภูมิจากเก็บไว้ได้อย่างไรก็ตาม เจลาตินจากหนึ่งปลาทูน่าครีบลีโอง (Yellow fin tuna) ที่มีความชื้นร้อยละ 8.9 เริ่มเกิด สภาวะเหมือนแก้ว ที่อุณหภูมิ 30°C แสดงว่าเจลาตินจากหนึ่งปลาต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30°C เพื่อป้องกันการเกิด สภาวะเหมือนแก้ว (Rahman *et al.*, 2008) หากอุณหภูมิจากเก็บรักษาเจลาตินสูงกว่าอุณหภูมิจากเกิด สภาวะเหมือนแก้ว จะทำให้เจลาตินอยู่ในสถานะ Rubbery state ซึ่งที่สถานะนี้จะมี Molecular mobility สูง ทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้น้ำที่มีอยู่ในเจลาตินและทำให้เจลาตินเสื่อมเสียได้ (D'Cruz and Bell, 2005) ส่วนความคงตัวของสารละลายเจลาตินขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและค่ากรด-ด่าง โดยทั่วไปสารละลายเจลาตินจะสูญเสียความแข็งแรงของเจลและความหนืดเมื่อเก็บไว้นาน โดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูง และค่ากรด-ด่าง ต่ำ เนื่องจากโมเลกุลเจลาตินจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดและความร้อน (Schrieber and Gareis, 2007) ดังนั้น ค่ากรด-ด่างของสารละลายเจลาตินควรอยู่ในช่วง



5-7 อุณหภูมิควรต่ำที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ และไม่ควรถูกเก็บสารละลายเจลาตินไว้นานโดยไม่จำเป็น หลังจากการเติมกรดในส่วนผสมลูกกวาดแล้ว ควรนำสารละลายไปใช้และทำให้เย็นหรือเกิดเจลให้เร็วที่สุด (Cole, 2000)

#### 4.5 มาตรฐานในการตรวจสอบคุณสมบัติของเจลาติน

1. ความแข็งแรงของเจล (Gel strength) เป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่สุดของเจลาติน การวัดจะวัดการต้านทานต่อแรงกด โดยนิยมนวัดเป็นค่าบลูม (Bloom strength) ด้วยเครื่อง Bloom Gelometer (Marh and Stewart, 1957)

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

3. สี เจลาตินคุณภาพสูงควรจะไม่มียีสจนถึงสีสว่างอำพันหรือสีเหลืองจาง ๆ เจลาตินคุณภาพต่ำจะให้ลักษณะไม่โปร่งใสจนถึงขุ่น หรือมีสีเหลืองเข้ม มักเกิดจากกระบวนการผลิตที่ไม่ดี นอกจากนี้ เจลาตินจะต้องไม่มีกลิ่นแปลกปลอม (Odorless) และไม่ไร้รสชาติ (Tasteless) (Brody, 1965)

4. ปริมาณแบคทีเรียในการผลิตจะต้องระวังมากเนื่องจากในบางครั้งไม่มีการอนุญาตให้ใช้สารกันเสีย (Preservative) ตามมาตรฐานอนุญาตให้มีแบคทีเรียได้ไม่เกิน  $1 \times 10^3$  กรัม และจะต้องไม่พบ *salmonella sp.* และ *Escherichia coli* ถ้าพบว่าเจลาตินมีค่ากรด-ด่างน้อยกว่า 4 แบคทีเรียจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ ถ้าเจลาตินมีค่ากรด-ด่างสูงกว่า 5 อาจทำให้พบ Proteolytic bacteria ได้

5. การทดสอบทางด้านเคมี เช่น ความชื้น เถ้า พีเอช เจลาตินที่เปียกในรูปของแห้งควรมีความชื้นประมาณร้อยละ 10-12 ปริมาณความชื้นนี้สามารถเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงร้อยละ 7-15 ได้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการอบแห้งระยะเวลาการเก็บรักษา (The Committee on Textbooks of The American Meat Institute, 1985) ปริมาณเถ้ากำหนดไม่เกินร้อยละ 2 ถ้าเป็นเจลาตินคุณภาพสูงจะมีปริมาณเถ้าต่ำกว่าร้อยละ 0.5 ซึ่งปริมาณเถ้านี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่นำมาสกัด ถ้าต้องการให้มีระดับเถ้าต่ำ จะต้องนำมากรองผ่าน Ion exchange เพื่อกำจัดพวกแร่ธาตุต่าง ๆ (Demineralizing) ออก ค่ากรด-ด่าง ควรอยู่ในช่วง 4-7 ถ้าเป็นเจลาตินคุณภาพสูง จะมีค่ากรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.0-5.8 (Harris, 1990)

#### 4.6 การนำเจลาตินไปใช้ประโยชน์

##### 4.6.1 การใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

การใช้เจลาตินในอุตสาหกรรมอาหารมีวัตถุประสงค์ต่าง ๆ กันดังนี้ คือ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เป็นเจลตามที่ต้องการ ใช้เพิ่มความหนาของผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อให้เกิดการจับตัวเป็นก้อนของอาหาร หรือเป็นตัวประสานให้ส่วนผสมของอาหารเข้ากันได้ดี ใช้เพื่อทำให้อาหาร

ขึ้นฟู และใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัว (Rother, 1994) เช่น อุตสาหกรรมขนมหวาน ท็อปปิ้ง เจลลี่ มาร์ชเมลโลว์ ผลิตภัณฑ์นม จำพวกไอศกรีม ครีมช้น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว ผลิตภัณฑ์ที่ให้พลังงานต่ำ (Dietetic) ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ (Health product) ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มทำให้ใสขึ้น เช่น ไวน์ และ น้ำผลไม้ ผลิตภัณฑ์เนื้อเพื่อประสานชั้นเนื้อให้เกาะเป็นก้อน และมีการใช้ในการปรับปรุง ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ (Bakery product) และผลิตภัณฑ์ธัญพืช (Cereal product) (Annon, 1996; Giese, 1994)

#### 4.6.2 การใช้ในอุตสาหกรรมยา

ใช้ในการผลิตแคปซูล ซึ่งมี 2 ชนิดคือ แคปซูลชนิดแข็ง และแคปซูลชนิดนิ่ม แคปซูล ชนิดแข็งหรือแบบ 2 ชั้น จะใช้ในการบรรจุยาที่เป็นผงแคปซูลชนิดนิ่ม จะมีการเติม Plasticizer ซึ่งอาจเป็น กลีเซอรอล หรือ โพลีเอทิลีนไกลคอล โดยใช้บรรจุพวกน้ำมันตับปลา และพวกวิตามินในการผลิตยาเม็ด และใช้ในการเคลือบยาเม็ดเพื่อช่วยป้องกันการแตกหัก ทำให้เกิดความรู้สึกที่ลิ้นเวลารับประทาน และช่วยในการดูดความชื้น ทำให้ตัวยาเกิดการพองตัวและแตกออกได้ เจลาตินจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน (Oxidation) และเป็นสารให้ความคงตัว (Stabilizer) สำหรับอิมัลชัน และนอกจากนี้ยังเป็นตัวกลางสำหรับพวกสารประกอบภายนอกของ ยา เช่น สาร Zinc-oxide (ZnO), Sulphonamides และ Penicillin

#### 4.6.3 ใช้ในอุตสาหกรรมถ่ายภาพ

ในอุตสาหกรรมถ่ายภาพจะใช้เจลาตินในการทำ Baryta-coated paper และใช้ในการเคลือบฟิล์ม เนื่องจากฟิล์มจะมีสารพวกที่ไวต่อแสงคือ silver reagent รวมอยู่ด้วย เจลาติน จะใช้เป็นตัวควบคุมขนาดของ Silver halide ที่ได้รับ นอกจากนี้ยังมีการทำแผ่นกรอง (Filter) สำหรับ ไฟสาด (Spot light) และกล้อง (Satas, 1991)

#### 4.6.4 ใช้ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

ในห้องปฏิบัติการจะมีการใช้เจลาตินทำเป็นอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ และใช้วัดค่าความสามารถของเอนไซม์

#### 4.6.5 ใช้ในผลิตภัณฑ์อื่น ๆ

เช่นใช้ในการทำดินปืนเพื่อทำให้มีควันน้อย ใช้ในยาฆ่าแมลงแบบที่ใช้พ่น เพื่อคงความเป็นผง ใช้ผสมในอาหารสัตว์ ใช้เป็นตัว Adhesive สำหรับแอสแตมภ์และกระดาษ เป็นต้น (Bronson, 1950)

### 4.7 ความปลอดภัยของเจลาติน

เจลาตินถือว่าเป็นส่วนประกอบในอาหารมากกว่าจะเป็นวัตถุเจือปนในอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาจัดให้เจลาตินเป็นสารที่โดยทั่วไปถือว่าปลอดภัย (Generally Regarded As Safe, GRAS) นอกจากนี้ Joint Expert Commission on Food Additive (JECFA) จัดให้เจลาตินเป็นสารที่ใช้ได้อย่างไม่จำกัด ในช่วงแรกที่เกิดการระบาดของโรค โคบ้า ผู้บริโภคหวาดระแวงว่าผลิตภัณฑ์ที่มีต้นกำเนิดจากโคอาจแพร่เชื้อและทำให้เกิดโรคระบบประสาท และสมองที่เรียกว่า Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD) ในคน ซึ่งเป็นการประเมินโดยไม่

อาศัยหลักการทางวิทยาศาสตร์ ในปัจจุบันมีข้อพิสูจน์ว่าโรคโคโบบ้านี้ไม่เกี่ยวข้องกับหนังของสัตว์ และเชื้อพรีออนไม่สามารถรอดชีวิตจากกระบวนการผลิตเจลาตินได้ (Cole, 2000)

เจลาตินเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียส่วนใหญ่ ดังนั้นกระบวนการผลิตจะต้องมีสุขอนามัยที่ดีเพื่อป้องกันการปนเปื้อน นอกจากนี้ยังควรใช้ระบบ Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) ในการผลิต (Baziwane and He, 2003)

## 5. สารก่อเจลที่นิยมใช้ในอาหารสัตว์เลี้ยง

เจลาตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่สำคัญในการเกิดเจล แต่ความร้อนที่ใช้ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์นั้นจะลดสมบัติการเกิดเจลลง ซึ่งนอกจากเจลาตินแล้ว ยังมีสารในกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดที่มีสมบัติในการเกิดเจลได้ เช่น คาร์ราจีแนน และโลคัสปีนิกัม เป็นต้น นอกจากนี้ในอาหารสัตว์เลี้ยงชนิดเปียก (Wet-pet foods) ยังนิยมผสมสารให้ความข้นหนืด เช่น แชนแทนกัม เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะที่ดี มีความน่ากิน ซึ่งจะมีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ (Jones, 2004)

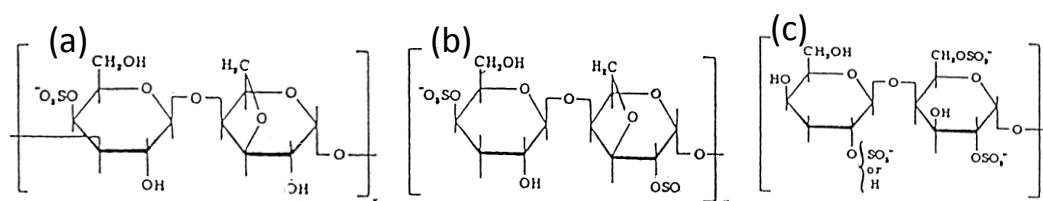
### 5.1 คาร์ราจีแนน (Carrageenan)

พบในสาหร่ายทะเลสีแดง (*Rhodophyceae*) เช่น *Chondrus crispus*, *Eucheuma cottonii* และ *Eucheuma spinosum* คาร์ราจีแนนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดดาแลคแทนที่มีหมู่ซัลเฟต ไม่มีสายกิ่ง มี เบตา-ดี-กาแลคโทส และ 3-6-แอนไฮโดร-ดี-กาแลคโทส เป็นหน่วยซ้ำในสาย จับกันด้วยพันธะ แอลฟา-1,3 และ เบตา-1,4-ไกลโคซิดิก และจะมีหมู่ซัลเฟต เป็นเอสเทอร์อยู่ ดังนั้นจึงมีสมบัติเป็นแอนไอออนิก คาร์ราจีแนนสามารถละลายได้ในน้ำร้อน อุณหภูมิสูงกว่า 75°C คาร์ราจีแนนที่สำคัญมี 3 ชนิดได้แก่ แคปปา (K)-, ไอออตา (I)- และ แลมบ์ดา-( $\Lambda$ )-คาร์ราจีแนน (ภาพที่ 6)

แคปปา-คาร์ราจีแนน จะมีหมู่ซัลเฟตที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ที่โมเลกุลของ เบตา-ดี-กาแลคโทส ทุกตัว ส่วนที่โมเลกุล 3-6-แอนไฮโดร-ดี-กาแลคโทส จะไม่มีหมู่ซัลเฟตเลย

ไอออตา-คาร์ราจีแนน มีหมู่ซัลเฟตมากกว่าชนิดแรก โดยจะพบหมู่ซัลเฟตที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ในโมเลกุลของ เบตา-ดี-กาแลคโทส และที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ในโมเลกุลของ 3-6-แอนไฮโดร-ดี-กาแลคโทสด้วย

แลมบ์ดา-คาร์ราจีแนน คาร์ราจีแนนชนิดนี้มีหมู่ซัลเฟตมากที่สุด คือ มีซัลเฟตที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของ เบตา-ดี-กาแลคโทส และที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และตำแหน่งที่ 6 ของ ดี-กาแลคโทส ซึ่งน้ำตาลหน่วยที่สองไม่ใช่น้ำตาล 3-6-แอนไฮโดร เหมือน แคปปา- และ ไอออตา-คาร์ราจีแนน และการมีหมู่ซัลเฟตที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ทำให้คาร์ราจีแนนชนิดนี้ไม่สามารถเกิดเจลได้



**Figure6.** Structure of carrageenan (a) K-carrageenan (b) I-carrageenan (c)  $\Lambda$ -carrageenan  
ที่มา: Trius และคณะ (1994)

### 5.1.1 การเกิดเจล

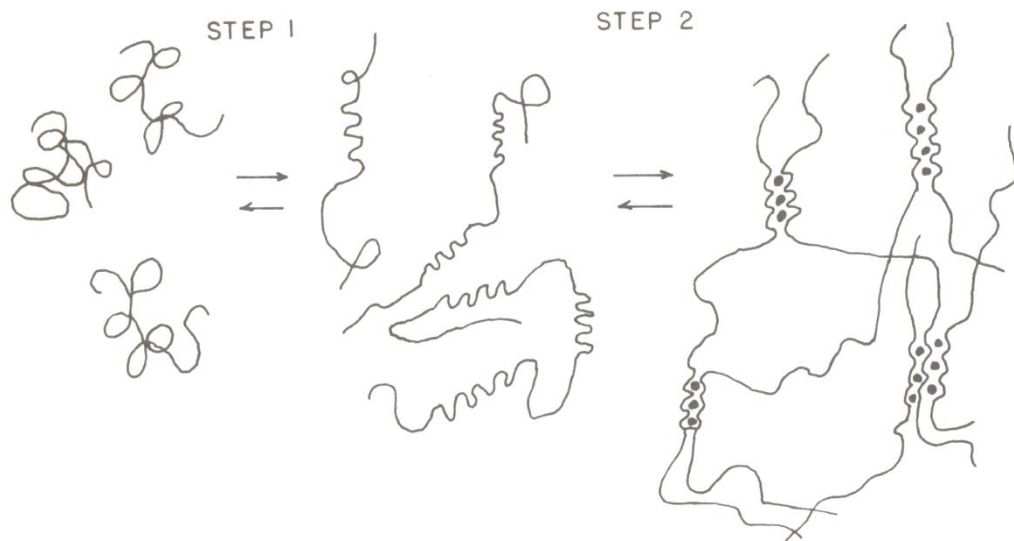
คาร์ราจีแนนทุกชนิดละลายได้ในน้ำร้อน สำหรับแคปปา- และ ไอออตา-คาร์ราจีแนน เมื่ออยู่ในสารละลายขณะร้อน สายโซ่จะอยู่ในรูปเกลียวม้วนอย่างไม่เจาะจง (Random coil) แต่เมื่อเย็นลง ความหนืดจะเพิ่มขึ้นและเกิดเป็นเจลได้ (ที่ 40-60°C) เพราะบางช่วงของสายโซ่ของกาแลคแทน สามารถเข้าใกล้กันและสร้างเป็นเกลียวคู่ แต่บางช่วงในโครงสร้างสามารถขวางการเป็นเกลียวคู่ เพราะมีกาแลคโทส-6-ซัลเฟต แทนที่หน่วยน้ำตาล 3,6-แอนไฮโดร เกลียวคู่ที่เกิดขึ้นสามารถรวมกลุ่มสร้างเป็นขอบเขตรอบต่อ (junction zone) ช่วยยึดรวมโครงสร้างไว้ ทำให้เกิดเจลในที่สุด เจลของคาร์ราจีแนนเป็นเจลชนิดผันกลับได้ด้วยความร้อน (Reversibility) นั่นคือเมื่อเจลได้รับความร้อน เจลจะหลอมละลาย และเมื่อทิ้งให้เย็นตัวลงก็จะเป็นเจลได้อีก แต่เจลจะแสดงฮิสเทอรีซิส (hysteresis) คือมีความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิการหลอมละลายและอุณหภูมิที่เป็นเจล

หมู่ซัลเฟตในคาร์ราจีแนนมีผลต่อการเกิดเกลียวคู่ของสายโซ่ใน แคปปา- และ ไอออตา-คาร์ราจีแนน โดยพบว่าหมู่ซัลเฟตที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของ เบตา-ดี-กาแลคโทส จะไม่ขวางการเกิดไโดเมอร์เพื่อสร้างเป็นเกลียวคู่ โดยหมู่ซัลเฟตจะชี้ออกนอกเกลียวคู่ หมู่ซัลเฟตที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของ 3-6-แอนไฮโดร-แอลฟา-ดี-กาแลคโทส ของไอออตา-คาร์ราจีแนน ก็ไม่มีผลเช่นเดียวกัน ส่วนแลมบ์ดา-คาร์ราจีแนน นั้นพบว่าหน่วยน้ำตาล แอลฟา-ดี-กาแลคโทส ที่มีหมู่ซัลเฟตที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 จะขวางการเกิดไโดเมอร์ของสายโซ่ ดังนั้น แลมบ์ดา-คาร์ราจีแนน จึงไม่สามารถเกิดเจลได้ นั่นคือ น้ำตาลหน่วย 3-6-แอนไฮโดร มีความสำคัญต่อการเกิดเจลของคาร์ราจีแนน ถ้าคาร์ราจีแนน (แคปปา- และ ไอออตา-) มีน้ำตาล 3-6-แอนไฮโดรมาก จะเกิดเจลได้ดี (ภาพที่ 7)

ทั้งแคปปา- และ ไอออตา-คาร์ราจีแนน สามารถเกิดเจลได้ที่ความเข้มข้นต่ำ เช่นที่ 0.5% แต่การเกิดเจลจำเป็นจะต้องมีไอออนประจุบวก (แคตไอออน) เช่น ไอออนโพแทสเซียม ( $K^+$ ) หรือ ไอออนแคลเซียม ( $Ca^{++}$ ) ด้วย เพื่อลดผลของประจุลบบนสายโซ่ทำให้เข้าใกล้กันและเกิดการสร้างเกลียว แคปปา-คาร์ราจีแนน จะให้เจลที่มีความแข็งแรงของเจล (Gel strength) สูงถ้ามี  $K^+$  อยู่ด้วย ส่วน ไอออตา-คาร์ราจีแนน จะเกิดเจลได้ดีถ้ามีไอออน  $Ca^{++}$  การมีไอออนบนประจุบวกพร้อมด้วยพบว่าทำให้การรวมตัวระหว่างเกลียวคู่เกิดขึ้นได้ดี

เจลของ แคปปา- และ ไอออตา-คาร์ราจีแนน จะแตกต่างกัน ชนิดแรกจะให้เจลที่มีลักษณะแข็ง และกรอบ (Brittle) เมื่ออยู่นานขึ้นจะมีการบิบบของเหลวออกจากเจล (ซินเนอร์จีซิส) ได้ ส่วน ไอออตา-คาร์ราจีแนน จะให้เจลที่มีความยืดหยุ่นและเกาะตัวกัน (ลักษณะคล้ายเยลลี่จากเจลาติน) ดีกว่ารวมทั้งมีความคงตัว ไม่มีการบิบบของเหลวออกจากเจลาตินเกิดขึ้น ลักษณะเจลที่แตกต่างนี้อาจมาจากกลไกการเกิดเจล

ซินเนอริซิส (Synneresis) คือการบีบของเหลว (น้ำ) ออกจากเจล เพราะเมื่อเวลาผ่านไป เจลเกิดการสร้างพันธะภายในดีขึ้น มีการหดตัว ทำให้น้ำถูกบีบออกมาสู่ภายนอก เพราะในคาร์ราจีแนนมีหมู่ซัลเฟตในโมเลกุลจึงเป็นโพลีแอนไอออน และมีขนาดโมเลกุลใหญ่ สามารถเกิดอันตรกิริยากับประจุบวกบนผิวของ แคปตา-เคซีนในน้ำนมได้ดี รวมทั้งการที่ แอลฟา-เคซีน และ เบตา-เคซีน จับกับ  $Ca^{++}$  ช่วยให้โปรตีนในนมมีความเสถียร จึงไม่เกิดการตกตะกอน ตัวอย่างเช่น การใช้แคปตา-คาร์ราจีแนน เป็นสารช่วยให้คงตัวในผลิตภัณฑ์นม เช่น เจลนม (Milk gel) ไอศกรีม นมช็อคโกแลต โยเกิร์ต และนมผสมกับไอศกรีมที่ปั่นหรือเขย่าพอเป็นฟอง (Milk shake) เป็นต้น



**Figure7.** Propose two step gelation mechanisms for carrageenan. Step1: formation of order conformation; Step2: formation of conjunction

ที่มา: Glicksman (1982)

## 5.2 แชนแทนกัม (Xanthan gum)

แชนแทนกัมเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ หรือ กัม ที่ละลายน้ำได้ สังเคราะห์โดยแบคทีเรีย *Xanthomonas* โดยเฉพาะ *X. compestris* NRRL-B-1459 ด้วยกระบวนการหมักแบบใส่อากาศ (submerged) มี ดี-กลูโคส เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนหลักหรืออาจใช้น้ำตาลซูโครสหรือสตาร์ช กัมชนิดนี้แบคทีเรียสร้างหุ้มอยู่ภายนอกเซลล์เพื่อช่วยป้องกันเซลล์จากสภาวะภายนอก เมื่อผลิตได้กัมตามที่ต้องการแล้ว ต้องสเตอริไลซ์ เพื่อฆ่าจุลินทรีย์ แล้วจึงแยก กัมออกด้วยการตกตะกอน และล้างจนสะอาดและอบแห้ง

แชนแทนกัมมีโครงสร้างเป็นน้ำตาล 5 ตัวต่อกัน เป็นกลุ่มซ้ำอยู่ในโมเลกุล น้ำตาล 5 ตัวประกอบด้วย ดี-กลูโคส 2 หน่วย ดี-แมนโนส 2 หน่วย และกรด ดี-กลูคูโรนิก หนึ่งหน่วย ถ้าพิจารณาเฉพาะสายโซ่หลัก จะเป็น เบตา-ดี-กลูโคส ต่อกันด้วยพันธะ 1,4-กลูโคซิดิก คล้ายของเซลลูโลส แล้วมีไทรแซคคาไรด์ (ดี-แมนโนส 2 หน่วย และกรด ดี-กลูคูโรนิก 1 หน่วย) เป็นสายกิ่ง จับต่อกับ ดี-กลูโคส ของโซ่หลักด้วยพันธะ แอลฟา-1,3-ไกลโคซิดิก โดยจับเว้นสลับไปที่ละหนึ่ง ดี-กลูโคส

สายกิ่งไตรแซคคาไรด์ที่กล่าวมาถ้าเริ่มจากด้าน Non-reducing end จะประกอบด้วย ดี-แมนโนไฟแรโนซิล จับ เบตา-1,4 กับกรด ดี-แมนโนไฟแรโนซิล ยูโรนิก (ดี-กลูโคโรนิก) ซึ่งจับ เบตา-1,2 กับ ดี-แมนโนไฟแรโนซิล และประมาณ 50% ของไตรแซคคาไรด์นั้นที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 อาจจะจับกับกรดไพรูวิก (Pyruvic acid) และ คีทัล (Ketal) ทำให้มีวงแหวนหกเหลี่ยมปิดท้ายที่สายกิ่ง และที่ คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของ ดี-แมนโนไฟแรโนซิล แชนแทนกัมจึงมีขนาดโมเลกุลใหญ่ มีสายกิ่งมาก ทำให้ไฮเดรทน้ำได้ดี นั่นคือโมเลกุลของน้ำสามารถเข้าไปซอลเวต (Solvate) อยู่มาก แชนแทนกัมจึงจัดเป็นไฮโดรคอลลอยด์ชนิดหนึ่งด้วย ปริมาณของกรดไพรูวิก ในแชนแทนกัม จะแตกต่างกันตามสายพันธ์ของ *X. compestris* ที่ใช้ กัมจึงมีความหนืดแตกต่างกัน ถ้าปริมาณกรดไพรูวิก สูงกัมก็จะให้ความหนืดสูง

แชนแทนกัมละลายได้ในน้ำเย็น และน้ำร้อน ให้ของเหลวที่มีความหนืดสูงแม้จะใช้ในปริมาณเล็กน้อย เช่น ร้อยละ 0.3-0.5 แชนแทนกัมมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง  $3 \times 10^5$  ถึง  $8 \times 10^6$  ดาลตัน ข้อดีของแชนแทนกัมคือ จะมีความหนืดเสถียรที่ค่ากรด-ด่างอยู่ในช่วงกว้าง (2-13) การมีเกลือ เช่น โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0.1 พบว่าจะช่วยให้ความหนืดของแชนแทนกัม ทนต่อความร้อนสูงได้ดีขึ้น โครงสร้างส่วนที่เป็นกิ่งของแชนแทนกัมจะเป็นส่วนที่ป้องกันหรือกำบังสายโซ่หลักไว้ ทำให้ทนต่อกรด ความร้อน และเอนไซม์ด้วย สารละลายแชนแทนกัมนอกจากจะให้ความหนืดสูงเมื่อใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย (ร้อยละ 0.1-1.0) ยังแสดงสมบัติสภาพพลาสติกเทียม (Pseudoplasticity) ที่ดี เพราะที่อัตราเฉือน (Shear rate) สูง ความหนืดจะต่ำ และความหนืดจะเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่ออัตราเฉือนลดลง ดังนั้นจึงทำให้แชนแทนกัมมีลักษณะเด่นคือ ผลิตภัณฑ์ที่เติมแชนแทนกัมจะสามารถเทให้ไหลออกได้ ผสมและใช้ปัมในการผลิตได้ การที่สารละลายแชนแทนกัมเมื่อทิ้งไว้เฉยๆ โดยไม่มีการกระทำใดๆ ต่อสารละลาย ความหนืดจะสูงเพราะโมเลกุลจะอยู่ในรูปเกลียว มีสายกิ่งพันหุ้มทำให้มีลักษณะโครงสร้างเกลียวที่แข็งแรง (Rigid rod-like) โครงสร้างโดยรวมจึงแข็งแรง และสามารถรวมกลุ่มเกิดเป็นขอบเขตรอยต่อต่างๆ และเมื่อมากขึ้นจะให้ลักษณะโครงข่ายคล้ายเจล แชนแทนกัมเมื่อถูกรบกวน เช่น การกวน การเทให้ไหล ก็จะทำให้เกิดการเหลวตัวเพราะเกิด shear thinning ดังนั้นจึงสามารถใช้แชนแทนกัมในน้ำสลัดได้ เพราะสามารถใช้ในปริมาณต่ำช่วยให้มีลชั้นของน้ำมันละน้ำคงตัว ให้ความหนืด และเป็นสารช่วยในการแขวนลอย ทำให้อนุภาคขนาดใหญ่เช่น ฟิชสมุนไพร์ ชันผัก สามารถแขวนลอยอยู่ได้ไม่มีการจมตกลงมาที่ก้นขวด ปริมาณที่ใช้ขึ้นกับปริมาณน้ำมันในน้ำสลัดดังนี้

ถ้าปริมาณน้ำมันสูง (ร้อยละ 50-60) จะใช้ประมาณ ร้อยละ 0.2-0.3

ถ้าปริมาณน้ำมันปานกลาง (ประมาณร้อยละ 30) จะใช้ประมาณร้อยละ 0.3-0.4

ถ้าปริมาณน้ำมันต่ำ (ร้อยละ 10-20) จะใช้ประมาณร้อยละ 0.4-0.6

ตัวอย่างการใช้แชนแทนกัมในอาหารอื่นเช่น การใช้ในไอศกรีม แชนแทนกัมจะช่วยควบคุมการเกิดผลึกน้ำแข็งที่ใหญ่ ทำให้เนื้อสัมผัสดีขึ้น และไอศกรีมละลายช้าลง และการใช้น้ำเชื่อมหรือไซรัป เช่น การผสมแชนแทนกัม (ร้อยละ 0.05-0.1) ในไซรัปช็อคโกแลต จะช่วยให้ผงโกโก้กระจายตัวดีขึ้น (วรรณ ตุลยธัญ, 2549)

## 6. การผลิตและการส่งออกอาหารสุนัขและแมวของประเทศไทย

ข้อมูลจากกรมส่งเสริมการส่งออก (2543) พบว่าการพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารสุนัขและอาหารแมวของประเทศไทยเกิดขึ้นเมื่อประมาณ 10-15 ปีที่ผ่านมา โดยในช่วงแรกอาหารสัตว์เลี้ยงจะเป็นสินค้านำเข้าจากต่างประเทศเป็นส่วนมาก ต่อมาความต้องการอาหารสุนัขและแมวในประเทศไทยเริ่มมีการเติบโตอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้ผู้ผลิตในไทยหันมาให้ความสนใจที่จะผลิตอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เลี้ยงสำหรับขายในตลาดภายในประเทศ เพื่อลดการนำเข้าจากต่างประเทศ โดยเริ่มแรกผู้ผลิตในไทยได้รับแรงจูงใจจากการนำวัตถุดิบเศษเหลือจากการผลิตสื่อน้ำหนักมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสุนัขและแมว ซึ่งที่เห็นได้ชัดเจนคือ อุตสาหกรรมปลาทูนากะป๋องที่มีการนำเศษเนื้อคามาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารแมว ซึ่งในช่วงแรกการพัฒนาอุตสาหกรรมนี้มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า เนื่องจากจำนวนผู้เลี้ยงสัตว์ในตลาดหลักยังมีจำนวนจำกัด และผู้เลี้ยงสัตว์ยังยึดติดกับการเลี้ยงสัตว์ในรูปแบบเดิมๆ จึงต้องให้ความรู้ความเข้าใจถึงรูปแบบและประโยชน์ของการเลี้ยงสัตว์แบบใช้อาหารสำเร็จรูป

ในช่วงหลังอุตสาหกรรมอาหารสุนัขและอาหารแมวเริ่มมีการเติบโตและการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก เนื่องจากจากผู้เลี้ยงในประเทศเริ่มนิยมเลี้ยงสุนัขและแมวที่มีการนำเข้ามาจากต่างประเทศมากขึ้น โดยเฉพาะร้อยละ 30-40 ต่อปี ส่งผลให้ผู้เลี้ยงสัตว์หันมาใช้อาหารสำเร็จรูปในการเลี้ยงสัตว์มากขึ้น เพราะเข้าใจว่าเป็นอาหารที่มีประโยชน์มากกว่าอาหารแบบคลุกข้าว หรืออาหารที่ปรุงเอง

### 6.1 ประเภทของอาหารสุนัขและอาหารแมว

อาหารสุนัขและแมวแบ่งตามลักษณะใหญ่ๆ ได้ 2 ประเภท คือ แบ่งตามลักษณะของผลิตภัณฑ์ และแบ่งตามลักษณะวัตถุดิบที่ใช้ ดังนี้ (Japan External Trade Organization, 1992) แบ่งตามลักษณะของผลิตภัณฑ์ ได้ 5 ประเภท ดังนี้

1. อาหารสุนัขและแมวแบบแห้ง (Dry-style product) คืออาหารสุนัขและอาหารแมวที่มีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 10 ซึ่งโดยทั่วไปอาหารประเภทนี้จะผ่านกระบวนการผลิตแบบไอน้ำหรือน้ำมันและนำมาอบแห้ง (Heat and foaming process) สินค้าในกลุ่มนี้ ได้แก่ อาหารเม็ดทั่วไป ขนมปังขบเคี้ยว หรือบิสกิตสำหรับสุนัขและแมว เป็นต้น

2. อาหารสุนัขและแมวแบบแห้งและยืดหยุ่น (Soft-dry-style product) คืออาหารสุนัขและอาหารแมวที่มีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 25-35 โดยผ่านกระบวนการผลิตแบบฉีดไอน้ำหรือน้ำมันและนำมาอบแห้ง สินค้าในกลุ่มนี้ ได้แก่ เอ็นเทียม (Dog chew) เป็นต้น

3. อาหารสุนัขและแมวประเภทกึ่งเปียก (Semi-moist product) คืออาหารสุนัขและอาหารแมวที่มีลักษณะกึ่งเปียกกึ่งแห้ง ซึ่งมีความชื้นประมาณร้อยละ 25-30 เป็นการผลิตโดยใช้เครื่องจักรบดส่วนผสมต่างๆ ผสมให้เข้ากัน ส่วนมากอาหารประเภทนี้จะเป็นอาหารชนิดบดแช่แข็งบรรจุถุง โดยต้องนำมาปรุงให้สุกก่อนให้สุนัขหรือแมวทาน

4. อาหารสุนัขและแมวแบบเปียก (Wet-style product) คืออาหารสุนัขและอาหารแมวที่มีความชื้นประมาณร้อยละ 75 ส่วนมากอาหารประเภทนี้จะอยู่ในรูปของอาหารเปียกบรรจุกระป๋อง บรรจุถุง หรือซองฟลอยด์ เป็นต้น

5. อาหารสุนัขและแมวแบบอื่นๆ (Other product) เป็นอาหารสุนัขและแมวแบบต่างๆ ซึ่งมีทั้งแบบเปียก แบบแห้ง หรือแบบผง ซึ่งส่วนมากจะเป็นอาหารเสริมประเภทวิตามินต่างๆ แคปซูล อาหารเม็ดขนาดเล็ก นมผง เนื้อแผ่น เป็นต้น

## 6.2 ระดับคุณภาพของอาหารสุนัขและแมว

อาหารสุนัขและแมวสามารถแบ่งระดับคุณภาพตามคุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต โดยแบ่งเป็น 3 ระดับ ดังนี้ (นริศรา ขำชื่น, 2551)

1. ระดับดีเยี่ยม (Premium grade หรือ Super premium grade) เป็นอาหารที่ผลิตโดยใช้วัตถุดิบที่มีแหล่งโปรตีนจากเนื้อสัตว์ล้วน มีความสดจากเนื้อสัตว์ที่ใช้สูง ไม่มีการใช้ส่วนผสมของเครื่องในสัตว์หรือกระดูกสัตว์เห็นวัตถุดิบหลัก โดยวัตถุดิบที่ใช้มีคุณภาพดีเทียบเท่ากับวัตถุดิบที่ใช้ปรุงอาหารมนุษย์ ซึ่งจะมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีรสชาติน่ากิน รวมทั้งในปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีขั้นสูงมาใช้ในการผลิตเพื่อให้อาหารคงสภาพสดใหม่ ปลอดภัย จุลินทรีย์จะไม่เชื้อโรคต่างๆ ซึ่งโดยทั่วไปผู้ซื้ออาหารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงสัตว์เพื่อจำหน่ายและกลุ่มผู้เลี้ยงสัตว์ด้วยความรัก อยากให้สัตว์เลี้ยงมีสุขภาพดี ซึ่งแม้ว่าราคาของสินค้าในกลุ่มนี้จะสูงมาก แต่ผู้บริโภคก็ยินดีที่จะซื้อเพื่อแลกกับสุขภาพของสัตว์เลี้ยง

2. ระดับมาตรฐาน (Standard grade หรือ Grocery grade) เป็นอาหารที่ผลิตจากผลิตภัณฑ์พลอยได้ (By product) จากอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมหมู่นากระป๋อง อุตสาหกรรมแปรรูปโคเนื้อ และอุตสาหกรรมแปรรูปไก่เนื้อ ซึ่งมีปริมาณโปรตีนไม่สูงมากนักโดยอาจจะมีเครื่องในสัตว์ผสมกับวัตถุดิบหลัก สำหรับอาหารแมวนั้นจะใช้วัตถุดิบหลักเป็นเศษปลา หรือมีส่วนประกอบของเปลือกปลาอยู่ด้วย โดยจะมีคุณค่าทางโภชนาการไม่สูงมากนัก ผู้บริโภคในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นผู้เลี้ยงในระดับทั่วไปหรือเลี้ยงไว้ภายในบ้าน

3. ระดับประหยัด (Economy grade) เป็นอาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ ซึ่งมักผลิตโดยใช้ส่วนผสมของเศษกระดูกสัตว์ป่น และเลือดสัตว์เป็นวัตถุดิบหลัก โดยผู้บริโภคในกลุ่มนี้จะเป็นผู้ที่เลี้ยงสุนัขและแมวตามบ้านทั่วไปและเป็นผู้ที่เลี้ยงสุนัขและแมวเป็นจำนวนมาก ซึ่งจำเป็นต้องซื้ออาหารคราวละมากๆ อาหารในกลุ่มนี้มีราคาไม่แพง บรรจุถุงขายในปริมาณมาก เช่นบรรจุถุงละ 20 กิโลกรัม เป็นต้น

สำหรับผู้บริโภคในประเทศไทยนิยมซื้ออาหารสุนัขและแมวในระดับมาตรฐาน เนื่องจากราคาสินค้าเหมาะสมกับคุณภาพ สามารถหาซื้อได้สะดวก อีกทั้งตราสินค้าที่เป็นที่รู้จักส่วนใหญ่จะเป็นอาหารระดับมาตรฐาน ซึ่งอาหารระดับดีเยี่ยมส่วนใหญ่ยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพงมาก เนื่องจากผู้ผลิตในไทยยังไม่มี ความชำนาญในการผลิต ต้นทุนในการผลิตสูง อีกทั้งผู้บริโภคจะนิยมซื้ออาหารระดับดีเยี่ยมที่นำเข้ามาจากต่างประเทศมากกว่าที่ผลิตในประเทศ จึงทำให้ไม่คุ้มค่าในการลงทุน



### 6.3 กระบวนการผลิตอาหารสุนัขและแมวแบบเปียก (Pet education, 2002)

1. กำหนดสูตรอาหาร จะใช้ความต้องการของตลาดเป็นตัวกำหนดโครงสร้างหลักของสูตรอาหาร โดยอาศัยปัจจัยต่างๆ ประกอบ เช่น อายุของสัตว์เลี้ยง ขนาดของสัตว์เลี้ยง เทคโนโลยีการผลิต เป็นต้น

2. การจัดเตรียมวัตถุดิบ วัตถุดิบในการผลิตนั้นมีทั้งภายในประเทศและต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งวัตถุดิบที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศได้แก่ ปลาทูน่า สารเกิดเจล วิตามิน แร่ธาตุต่างๆ สำหรับวัตถุดิบในประเทศนั้นมีทั้งวัตถุดิบหลัก และวัตถุดิบที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตได้แก่ เนื้อปลา เศษเนื้อ เศษกระดูก หนัง เลือด เครื่องในสัตว์ เป็นต้น

สำหรับการเตรียมวัตถุดิบจากผลพลอยได้จากการผลิต สามารถนำเครื่องใน หนัง เลือด ผ่านความร้อนแล้วเตรียมส่วนผสมได้เลย แต่ในส่วนของปลาทูน่า และปลาซาร์ดีนนั้น จะต้องนำปลามาล้างแล้วแกะแยกเนื้อเป็นเนื้อขาวและเนื้อดำ โดยเนื้อขาวจะนำไปผลิตเป็นปลากระป๋อง ส่วนเนื้อดำจะนำมาผลิตอาหารสุนัขและแมว ซึ่งวัตถุดิบต่างๆจะต้องนำมาตรวจสอบด้านคุณภาพและมาตรฐานอย่างครบถ้วน

3. การผสมวัตถุดิบ นำวัตถุดิบหลักมาผสมกับส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ สารเกิดเจล วิตามิน แร่ธาตุ สารปรุงแต่งอาหาร และกรดอะมิโน ตามสัดส่วนที่เหมาะสม โดยส่วนผสมที่เป็นวัตถุดิบหลักจะต้องผ่านความร้อนก่อนการนำมาผสม เรียกว่า Pre-mix

4. การบรรจุกระป๋อง นำวัตถุดิบที่ผสมตามสูตรแล้วมาบรรจุลงกระป๋อง ซึ่งภาชนะที่ใช้บรรจุจะต้องผ่านการล้างทำความสะอาดและเป่าให้แห้งก่อนนำมาใช้

5. การไล่อากาศ เป็นการทำให้อากาศภายในกระป๋องซึ่งแทรกอยู่ในส่วนผสมช่องว่างของอาหารให้เหลือน้อยที่สุดเพื่อเก็บรักษาคุณภาพของอาหารไม่ให้สูญเสียไป การไล่อากาศจำเป็นมากสำหรับอาหารที่ใช้ปลาเป็นวัตถุดิบหลัก และนิยมไล่อากาศโดยผ่านรางหนึ่งไอน้ำที่มีความร้อนประมาณ 80-90°C โดยใช้เวลาล้างอย่างน้อยประมาณ 10-15 นาที

6. การปิดผนึก (Seaming) การปิดผนึกเป็นการทำให้กระป๋องอยู่ในสภาวะปิดสนิท ป้องกันไม่ให้เชื้อโรค หรือจุลินทรีย์ต่างๆ เข้าไปในกระป๋องได้ ทำให้อาหารไม่เน่าเสีย

7. การนึ่งฆ่าเชื้อ เนื่องจากอาหารสุนัขและแมวเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นสูงจึงง่ายต่อการเน่าเสีย การนึ่งฆ่าเชื้อเป็นการทำให้อาหารสุกและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำให้อาหารเน่าเสียได้ โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Retort ซึ่งจะใช้ความร้อนสูงภายใต้ความดัน โดยความร้อนที่ใช้เป็นความร้อนจากไอน้ำ ปริมาณความร้อนและระยะเวลาที่ใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบและขนาดกระป๋อง โดยความร้อนที่ใช้จะอยู่ในช่วงประมาณ 116-121°C และใช้เวลาประมาณ 60-90 นาที

8. การทำให้เย็น (Cooling) เป็นขั้นตอนการระบายความร้อนที่คงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ภายหลังจากการนึ่งฆ่าเชื้อ และรักษาสภาพกระป๋องป้องกันการรั่วซึมในภายหลัง

9. การติดฉลากและการบรรจุหีบห่อ เป็นการนำสินค้าที่บรรจุกระป๋องเรียบร้อยแล้วมาผ่านการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ติดฉลากสินค้าและบรรจุกล่องเพื่อนำออกไปจำหน่ายต่อไป

## 6.4 มาตรฐานของรัฐบาลต่ออุตสาหกรรมอาหารสุนัขและแมว

### 6.4.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ของไทย

อาหารสุนัขและแมวถูกประกาศเป็นอาหารสัตว์ที่ต้องควบคุมตามพระราชบัญญัติควบคุมอาหารสัตว์ พ.ศ. 2525 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยกรมปศุสัตว์ ประกาศ ณ วันที่ 16 กรกฎาคม 2545 และมีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 26 มกราคม 2546 เป็นต้นไป (ส่วนมาตรฐานด้านการปศุสัตว์, 2551)

โดยผู้ผลิตหรือนำเข้าเพื่อขายอาหารสุนัขและแมวต้องขอใบอนุญาตผลิตอาหารสัตว์ หรือใบอนุญาตนำเข้าซึ่งอาหารสัตว์ จากกรมปศุสัตว์ และต้องนำอาหารสัตว์มาขึ้นทะเบียนต่อพนักงานเจ้าหน้าที่กรมปศุสัตว์ก่อน จึงจะผลิตเพื่อขายหรือนำเข้าเพื่อขายซึ่งอาหารสัตว์นั้นได้ ผู้ใดฝ่าฝืนจะมีโทษตามมาตรา 58 ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกิน 3 ปี หรือปรับไม่เกิน 30,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

ส่วนผู้ขายอาหารสุนัขและแมวต้องขอใบอนุญาตขายอาหารสัตว์จากกรมปศุสัตว์ และขายเฉพาะอาหารสุนัขและแมวที่มีทะเบียนเท่านั้น ผู้ใดฝ่าฝืนต้องระวางโทษตามมาตรา 59 ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกิน 6 เดือน หรือปรับไม่เกิน 5,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ และมาตรา 63 ต้องระวางโทษจำคุกตั้งแต่ 6 เดือน-2 ปี หรือปรับตั้งแต่ 5,000-20,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

### 6.4.2 มาตรฐานสินค้าส่งออก (นริศรา ขำชื่น, 2551)

การส่งออกสินค้าอาหารสุนัขและแมวของไทยไปยังต่างประเทศนั้น สินค้าที่ส่งออกจะต้องเป็นไปตามมาตรฐาน ข้อกำหนด ของสมาคมควบคุมอาหารสัตว์แห่งสหรัฐอเมริกา (Association of American Feed Control Officials; AAFCO) เป็นข้อกำหนดเกี่ยวกับสิ่งสำคัญที่จำเป็นต้องระบุในฉลากสินค้า ได้แก่ ชื่อสินค้า ผลการตรวจสอบคุณภาพ วิธีการใช้ คุณค่าสารอาหาร และปริมาณแคลอรีที่ได้รับ เป็นต้น ซึ่งอาจแบ่งมาตรฐานออกเป็น 2 ข้อใหญ่คือ

1. ต้องวางเกณฑ์ให้มีสารอาหารบำรุงกำลังที่ต้องการ หมายความว่าอาหารต้องผ่านการทดสอบลองชิมแล้วในห้องปฏิบัติการ โดยต้องมีปริมาณ โปรตีน ไขมัน และสารอาหารอื่นๆ ตามที่แนะนำ

2. สิ่งที่น่ามาเป็นอาหารสัตว์ตามระเบียบของ AAFCO จะต้องมีการพิสูจน์ว่าผลิตภัณฑ์นี้ได้จัดเตรียมมาอย่างสมบูรณ์และให้พลังงานอย่างสมบูรณ์และเหมาะสม โดยจะต้องมีการทดสอบกับสัตว์เลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน และแสดงสารอาหารที่ให้พลังงานที่พอเพียง

## 6.5 ตลาดส่งออกที่สำคัญของไทย (นริศรา ขำชื่น, 2551)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีศักยภาพในการผลิตและส่งออกอาหารสุนัขและแมวประเทศหนึ่ง ซึ่งเป็นที่ยอมรับและมีการส่งออกอาหารสุนัขและแมวไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลก โดยตลาดส่งออกที่สำคัญของไทย แบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

1. ตลาดญี่ปุ่น ญี่ปุ่นถือว่าเป็น ตลาดส่งออกอาหารสุนัขและแมวตลาดหลักของประเทศไทย โดยมีมูลค่าการส่งออกในปี พ.ศ.2549 เท่ากับ 7,049.4 ล้านบาท หรือคิดเป็นสัดส่วนสูงถึงร้อยละ

ละ 48.36 ของมูลค่าการส่งออกอาหารสุนัขและแมวทั้งหมด ซึ่งในตลาดนี้เป็นตลาดที่มีแนวโน้มการส่งออกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องมาโดยตลอด

2. ตลาดสหรัฐอเมริกา เป็นตลาดที่มีความสำคัญเป็นอันดับสองรองมาจากประเทศญี่ปุ่น โดยมีมูลค่าการส่งออกในปี พ.ศ.2549 เท่ากับ 2,194.1 ล้านบาท หรือคิดเป็นสัดส่วนสูงถึงร้อยละ 15.05 ของมูลค่าการส่งออกอาหารสุนัขและแมวทั้งหมด

3. ตลาดสหภาพยุโรป เป็นตลาดอันดับที่ 3 ของการส่งออกอาหารสุนัขและแมวของไทย ซึ่งมีมูลค่าการส่งออกของตลาดนี้ในปี พ.ศ.2549 เท่ากับ 2,582.3 ล้านบาท หรือคิดเป็นสัดส่วนสูงถึงร้อยละ 17.72 ของมูลค่าการส่งออกอาหารสุนัขและแมวทั้งหมด โดยประเทศที่มีการส่งออกไปมากที่สุดในตลาดนี้ ได้แก่ ประเทศอิตาลี สหราชอาณาจักร โดยมีมูลค่าการส่งออกในปี พ.ศ.2549 เท่ากับ 1,206.06 และ 464.0 ล้านบาท ตามลำดับ

4. ตลาดอาเซียน เป็นตลาดที่สำคัญตลาดหนึ่ง ที่มีแนวโน้มการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปี โดยในปี พ.ศ.2549 มีมูลค่าการส่งออกเท่ากับ 664.2 ล้านบาท หรือคิดเป็นสัดส่วนสูงถึงร้อยละ 4.56 ของมูลค่าการส่งออกอาหารสุนัขและแมวทั้งหมด โดยประเทศที่มีมูลค่าการส่งออกไปมากที่สุดของตลาดนี้ ได้แก่ ประเทศมาเลเซีย

## 7. ปลาทูน่า

ปลาทูน่า หรือปลาโอ มีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่น Tunnus, Bonito หรือ Thons เป็นปลากระดูกแข็ง (Osteichthyes) ที่อาศัยอยู่ตามผิวน้ำ (Epipelagic) จัดอยู่ในครอบครัว *Scombridae* วงศ์ *Thunnidae* ออกหากินเป็นฝูง เคลื่อนที่ว่องไว มีกล้ามเนื้อแข็งแรง พบแหล่งที่อยู่อาศัยทั้งเขตชายฝั่งและเขตน้ำลึกบริเวณมหาสมุทรแปซิฟิก แอตแลนติก อินเดีย และอ่าวไทย บางสายพันธุ์กินแพลงก์ตอน บางสายพันธุ์กินเนื้อ เช่น ปลา หมึก และ กุ้ง (วิมล เหมะจันทร์, 2528; อมรา ชื่นพันธุ์ และ ไพโรจน์ ชัยภักดิ์, 2534; Fonteneau and Marcille, 1993)

ปลาทูน่า หรือปลาโอที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมี 10 ชนิด

1. ปลาโอดำ (*Thunnus tonggol*) มีชื่อสามัญว่า Longtail tuna ลำตัวค่อนข้างกลมและส่วนหางยาว มีสีน้ำเงินเข้มเกือบดำ พื้นท้องด้านล่างสีขาวปนน้ำเงิน มีจุดกลมสีขาวจางๆ เรียงไปตามด้านล่างของลำตัวยาวเกือบจรดหาง ครีบก้นสีเทาเหลือง ส่วนครีบบางสีดำ

2. ปลาโอลาย (*Euthynnus affinis*) มีชื่อสามัญว่า Kawakawa ลำตัวด้านหลังมีสีน้ำเงินปนดำ มีจุดดำรูปไข่อยู่บริเวณครีบอกและครีบท้อง ด้านพื้นท้องมีสีเทาเงิน ลักษณะเด่นคือมีเส้นดำลากพาดจากแนวท้องไปจรดเส้นข้างลำตัว

3. ปลาโอแกลบ (*Auxis thazard*) มีชื่อสามัญว่า Frigate tuna มีรูปร่างคล้ายปลาโอลาย แต่ลำตัวค่อนข้างกลม ความยาวลำตัวประมาณ 40-55 ซม. และครีบท้องทั้งสองครีบแยกห่างกัน มีเส้นดำเป็นรอยประมากมายพาดจากแนวท้องไปจรดเส้นข้างลำตัว เนื้อเส้นข้างลำตัวมีสีน้ำเงินเข้มเกือบดำ บริเวณท้องออกสีเงิน

4. ปลาโอหลอด (*Auxis rochei*) มีชื่อสามัญว่า Bullet tuna เป็นปลาทูน่าขนาดเล็กความยาวลำตัวประมาณ 35-50 ซม. มีรูปร่างค่อนข้างกลมยาวคล้ายปลาโอแถบ แต่รอบลำตัวกลมมากกว่า ครีบหลังทั้งสองครีบห่างกันมาก มีแถบสีเข้มพาดเฉียงลำตัวเล็กน้อยประมาณ 12-16 แถบ ลำตัวด้านบนมีสีเข้ม ด้านท้องสีขาว ด้านในครีบอกสีดำ

5. ปลาทูน่าทองแถบ (*Katsuwonus pelamis*) มีชื่อสามัญว่า Skipjack tuna เป็นปลาทูน่าที่มีความยาวลำตัวประมาณ 80-100 ซม. มีรูปร่างกลมกว้างและเรียวคล้ายปลาโอลายครีบอกสั้นมาก ลำตัวมีสีดำปนเทา ด้านท้องมีสีเงินและแถบสีเข้มจำนวน 4-6 แถวขนานลำตัว

6. ปลาทูน่าครีบลีง (*Thunnus albacares*) มีชื่อสามัญว่า Yellowfin tuna เป็นปลาทูน่าที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ความยาวลำตัวประมาณ 150-200 ซม. ลำตัวกว้าง ส่วนที่กว้างที่สุดของลำตัวอยู่ที่ตำแหน่งกึ่งกลางครีบอกที่ 1 และมีสีน้ำเงินเข้มเป็นเงา ด้านท้องมีระดับสีอยู่ระหว่างสีน้ำเงินถึงเหลือง มีจุดสีขาวขีดเรียงตัวกันเป็นเส้นตรงพาดขวางลำตัว ครีบอกมีความยาวปานกลาง ครีบท้องและครีบหลังที่ 2 มีก้านยาวสังเกตเห็นได้ชัดเจน ครีบหลัง ครีบหาง และครีบกันมีสีเหลือง

7. ปลาทูน่าตาโต (*Thunnus obesus*) มีชื่อสามัญว่า Bigeye tuna เป็นปลาทูน่าที่มีขนาดใหญ่ ความยาวลำตัวประมาณ 180-236 ซม. มีสีและรูปร่างภายนอกคล้ายกับปลาทูน่าริบลีง เมื่อโตเต็มวัยมีรอบลำตัวกว้างและสั้นกว่า มีตาโต และมีเส้นสีขาวเรียงตัวกันเป็นเส้นตรงพาดขวางลำตัว

8. ปลาทูน่าครีบบาว (*Thunnus alalunga*) มีชื่อสามัญว่า Albacore tuna เป็นปลาทูน่าที่มีขนาดใหญ่ ความยาวลำตัวประมาณ 100-130 ซม. ส่วนที่กว้างที่สุดของลำตัวอยู่ตรงครีบหลังที่ 2 ลำตัวด้านบนมีสีน้ำเงินเข้มเกือบดำ มีลักษณะเด่นที่ ครีบอกยาวเลยตำแหน่งของครีบหลังที่ 2 และครีบหางสีดำมีเส้นตัดขอบสีขาว

9. ปลาทูน่าครีบน้ำเงิน (*Thunnus thynnus*) มีชื่อสามัญว่า Bluefin tuna เป็นสายพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ความยาวลำตัวประมาณ ความยาวลำตัวประมาณ 250-325 ซม. มีสีและรูปร่างลักษณะภายนอกคล้ายปลาทูน่าครีบลีง แต่มีครีบอกสั้น และครีบหลังที่ 2 สูงกว่า ครีบหลังที่ 1

10. ปลาทูน่าครีบบดำ (*Thunnus atlanticus*) มีชื่อสามัญว่า Blackfin tuna ความยาวลำตัวประมาณ 72-95 ซม. มีสีและรูปร่างลักษณะภายนอกคล้ายปลาทูน่าครีบลีง และมีครีบหลัง ครีบกัน ครีบหางสีดำ

### 7.1 องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้อปลาทูน่า

ปลาทูน่าเป็นปลาที่มีไขมันต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 5) มีปริมาณโปรตีนสูง (มากกว่าร้อยละ 15) ปริมาณของไขมัน โปรตีน และสารอื่นๆ ในปลาทูน่ามีความแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 5

**Table 5** Chemical compositions of some tuna species

Compositions	Tuna species			
	(%)	Albacore	Skipjack	Yellowfin
Protein		25.82	22.61	23.38
Fat		4.91	1.85	0.84
Carbohydrate		-	4.18	3.98
Ash		1.48	1.30	1.34

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kinsella (1987)

หมายเหตุ: - ไม่มีข้อมูล

## 7.2 อุตสาหกรรมการแปรรูปปลาทูน่า

ปลาทูน่าเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากปลาทูน่าเป็นอาหารที่สามารถทดแทนเนื้อสัตว์ประเภทอื่น ราคาไม่แพงและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น มีกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย และกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า-3 ซึ่งสามารถช่วยลดคอเลสเตอรอล อุตสาหกรรมการแปรรูปทูน่าของไทยสามารถนำรายได้เข้าสู่ประเทศปีละไม่ต่ำกว่า 10,000 ล้านบาท โดยส่วนใหญ่ส่งออกในรูปแบบผลิตภัณฑ์ปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง

### 7.2.1 ขั้นตอนการผลิตปลาทูน่ากระป๋อง (สุมาลัย ศรีกำไลทอง และคณะ, 2538)

1. วัตถุดิบและการรับวัตถุดิบ (Raw material and receiving) จะต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของปลาทางกายภาพคือ เหงือก ตา ผิวหนังและความยืดหยุ่นของปลา ต้องอยู่ในลักษณะดี หากเสื่อมเสียให้คัดแยกออก
2. การละลายน้ำแข็ง (Thawing) วัตถุดิบที่รับมาส่วนใหญ่อยู่ในรูปการแช่เยือกแข็ง ดังนั้นจึงต้องทำละลายน้ำแข็งก่อนโดยนำปลาไปละลายในถังละลายปลาใช้เวลาประมาณ 2-3 ชม. เพื่อต้องการให้อุณหภูมิภายในตัวปลาไม่เกิน 5°C
3. การผ่าท้องและแยกเครื่องใน (Butchering) โดยใช้มีดกรีดบริเวณท้องปลา และนำเครื่องในออก และหลังนำเครื่องในออกควรมีการล้างปลาเพื่อกำจัดสิ่งสกปรก ลดปริมาณจุลินทรีย์ โดยการแยกเครื่องในปลาทำให้สูญเสียน้ำหนักร้อยละ 3 -6
4. การนึ่งปลา (Pre-cooking) การนึ่งปลาต้องใช้ความร้อนจากไอน้ำ เพื่อให้โปรตีนในเนื้อปลาดกตะกอน ลดปริมาณจุลินทรีย์ เพื่อความสะดวกในขั้นตอนการขูดผิวหนังและการแยกกระดูกออกจากกล้ามเนื้อ การนึ่งปลาจะให้ความร้อนในหม้อหนึ่งที่อุณหภูมิ 95°C ทั้งนี้ระยะเวลาการให้ความร้อนขึ้นกับขนาดและชนิดของปลา การนึ่งมีผลทำให้น้ำหนักของปลาลดลงเนื่องจากการสูญเสียของเหลวออกจากตัวปลา

5. การลดอุณหภูมิ (Cooling) หลังจากนึ่งปลาจนได้อุณหภูมิแกนกลางตัวปลาตามความต้องการแล้ว จะลดอุณหภูมิของปลาลงโดยใช้น้ำฉีดพ่นลงไปบนตัวปลา เพื่อให้ปลามีอุณหภูมิลดลงและน้ำมันในตัวปลามารวมบริเวณผิวหนังปลา

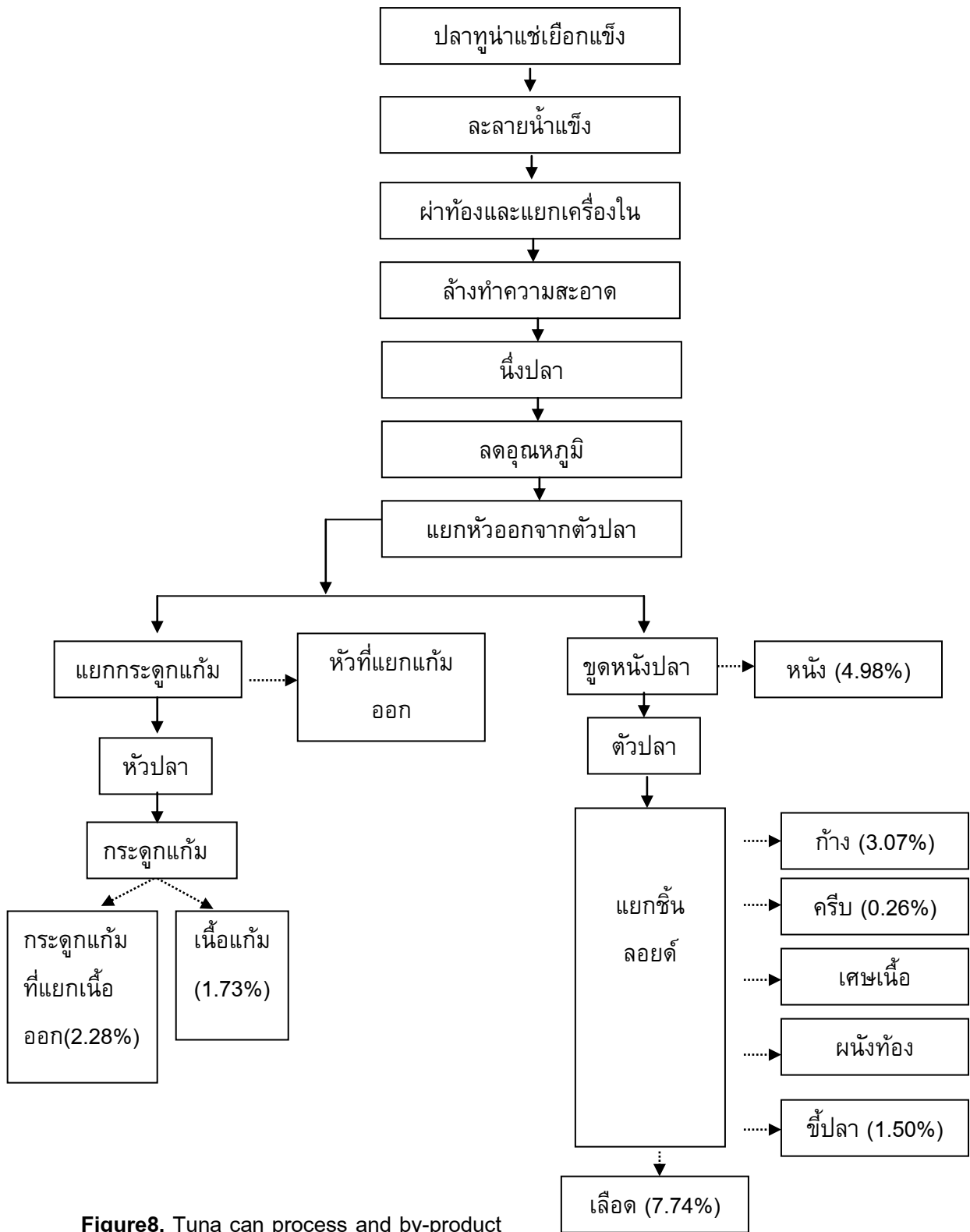
6. การขูดปลา (Cleaning) เพื่อแยกเอาสิ่งที่ไม่ต้องการออกเช่น หนัง ก้าง เนื้อดำ เพื่อให้เหลือเฉพาะเนื้อที่ผ่านการขูดสะอาด โดยลักษณะเนื้อจะเป็นชิ้น (Loin) ชิ้นเนื้อแตก (Flake) เศษเนื้อฝอย (Shredded)

7. การบรรจุกระป๋อง (Packing) เป็นการบรรจุเนื้อปลาด้วยเครื่องจักรหรือด้วยคนลงในกระป๋องขนาดต่างๆและบรรจุส่วนที่เป็นของเหลว (Media) เช่น น้ำมันหรือน้ำเกลือลงไป

8. การปิดผนึก (Seaming) กระป๋องที่ผ่านการบรรจุแล้ว จะผ่านการไล่อากาศออกจากช่องว่างในกระป๋องก่อนโดยใช้ไอน้ำ จากนั้นจึงผ่านการปิดผนึก ซึ่งจะทำให้เกิดสภาวะสุญญากาศในกระป๋อง

9. การฆ่าเชื้อ (Retorting) เป็นขั้นตอนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ความดันของไอน้ำอย่างน้อย 15 ปอนด์ต่อตร.นิ้ว อุณหภูมิ 121°C

10. การหล่อเย็นและการทำให้แห้ง (Cooling and Drying) หลังจากการฆ่าเชื้อต้องทำให้กระป๋องเย็นลงโดยทันทีด้วยน้ำที่ผสมคลอรีนอย่างน้อย 2 ppm. กระป๋องที่เย็นได้ที่แล้ว ทำให้แห้งทันทีโดยเป่าด้วยพัดลมเพื่อป้องกันการเกิดสนิมของกระป๋อง แล้วเก็บปลาทูน่ากระป๋องในห้องเก็บ กระบวนการแยกเนื้อปลาทูน่าและเศษเหลือที่เกิดขึ้นดังแสดงในภาพที่ 8



**Figure8.** Tuna can process and by-product

ที่มา: บริษัทสงขลาแคนนิ่ง จำกัด มหาชน

## 7.2.2 วัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาทุ่น้ำบรรจุกระป๋อง

ในกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำทุกขั้นตอนจะมีเศษเหลือเกิดขึ้น ทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลว ซึ่งจากแนวโน้มการขยายตัวของอุตสาหกรรมที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีปริมาณวัสดุเศษเหลือเพิ่มขึ้นตามลำดับ ได้แก่ หัวและเครื่องในปลา ปริมาณร้อยละ 10 (คิดจากน้ำหนักปลาทั้งตัว) เลือดและน้ำนึ่งปลา ปริมาณร้อยละ 35 กระดูกและหนังปลา ปริมาณร้อยละ 5 เศษเนื้อขาวและเศษเนื้อดำประมาณร้อยละ 20 ของน้ำหนักวัตถุดิบเริ่มต้น (อารยา เชาวน์เรืองฤทธิ์, 2536) สำหรับเศษเหลือที่ได้จากการผลิตปลาทุ่น้ำบรรจุกระป๋องได้แก่ เศษหัว หนังและก้าง เศษเนื้อดำและ เนื้อขาว มีปริมาณร้อยละ 17.65, 14.44 และ 17.21 ตามลำดับ (เจริญ ชิวไมตรวงศ์ และ ธวัช วงศ์สุริยะ, 2540)

ในปัจจุบันมีการนำวัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์หลายประเภท เช่น โปนตินสกัดเข้มข้นจากน้ำนึ่งปลา น้ำมันปลา เจลาติน อาหารแมวและอาหารสุนัขบรรจุกระป๋อง เป็นต้น (สุภาพร มหันต์กิจ, 2549)

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพของหนังปลาทุ่น้ำ และสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทุ่น้ำที่เก็บเกี่ยวในฤดูกาลที่แตกต่างกัน
2. เพื่อศึกษาอุณหภูมิ ระยะเวลา และอัตราส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย ที่เหมาะสมในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทุ่น้ำ
3. เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทุ่น้ำที่ผ่านการทำแห้งต่อ
4. เพื่อศึกษาการเพิ่มความแข็งแรงของสารสกัดหยาบเจลาตินเจลจากหนังปลาทุ่น้ำโดยใช้สารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล และ วิธี Annealing
5. เพื่อศึกษาการใช้สารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทุ่น้ำผสมกับสารก่อเจลในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เลี้ยง



## บทที่ 2

### วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

#### 1. วัสดุ

- 2.1 หม้อสแตนเลสพร้อมฝา ขนาด 6 ลิตร สำหรับต้มสกัดหนังปลา
- 2.2 ถังน้ำพลาสติกขนาด 16 ลิตร สำหรับบรรจุสารสกัดหยาบเจลาติน
- 2.3 ตะแกรงพลาสติก สำหรับกรองแยกหนังปลาออกจากสารสกัด
- 2.4 ผ้าขาวบางเนื้อหยาบ และเนื้อละเอียด สำหรับกรองสารสกัดหยาบเจลาติน
- 2.5 เครื่องบดเนื้อ
- 2.6 เจลาตินทางการค้าที่ผลิตจากวัว บริษัท นอร์แลนด์ (Norland Co., Ltd.) ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 2.7 แชนแทนกัม บริษัท นอร์แลนด์ (Norland Co., Ltd.) ประเทศสหรัฐอเมริกา

#### 2. สารเคมี

- 3.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี (เกรตวิเคราะห์)
- 3.3 กรดแอสคอร์บิก บริษัท ซิกมา-อัลดริช (Sigma-Aldrich Chemical Co., St Louis, MO.) ประเทศ สวิสเซอร์แลนด์
- 3.4 กลูโคโนเดลตาแลคโตน บริษัท (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO.) ประเทศ สวิสเซอร์แลนด์

#### 3. อุปกรณ์

1. Texture analyzer (TA-XT2i, Stable Micro System, Surrey, England)
2. pH meter (CG842, SCHOTT, Deutschland, Germany)
3. Magnetic stirrer (BIG SQUID, IKA LABORTECHNIK, Stanfen, Germany)
4. Oil bath (B-490, BUCHI, Flawil, Switzerland)
5. Water bath (W350, Memmert, Schwabach, Germany)
6. Vortex mixer (G-560E, NY, USA)
7. Microcentrifuge (MIKRO20, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany)
8. Refrigerated centrifuge (Avanti J-E, Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)
9. Compact-PAGE apparatus (PAGEL<sup>®</sup>-Compact, Atto Co., Tokyo, Japan)
10. Electrophoresis apparatus (Mini-Protean II, Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)
11. Autoclave (SX-500, TOMY, Digital Biology, Tokyo, Japan)
12. Differential scanning calorimeter (DSC, Pyris series-Diamond DSC, Perkin-Elmer, Norwalk, USA)

13. Spray dryer (Model B-191, Bushi, Flawil, Switzerland)

14. Air dryer (Moder ED115, Binder, Germany)

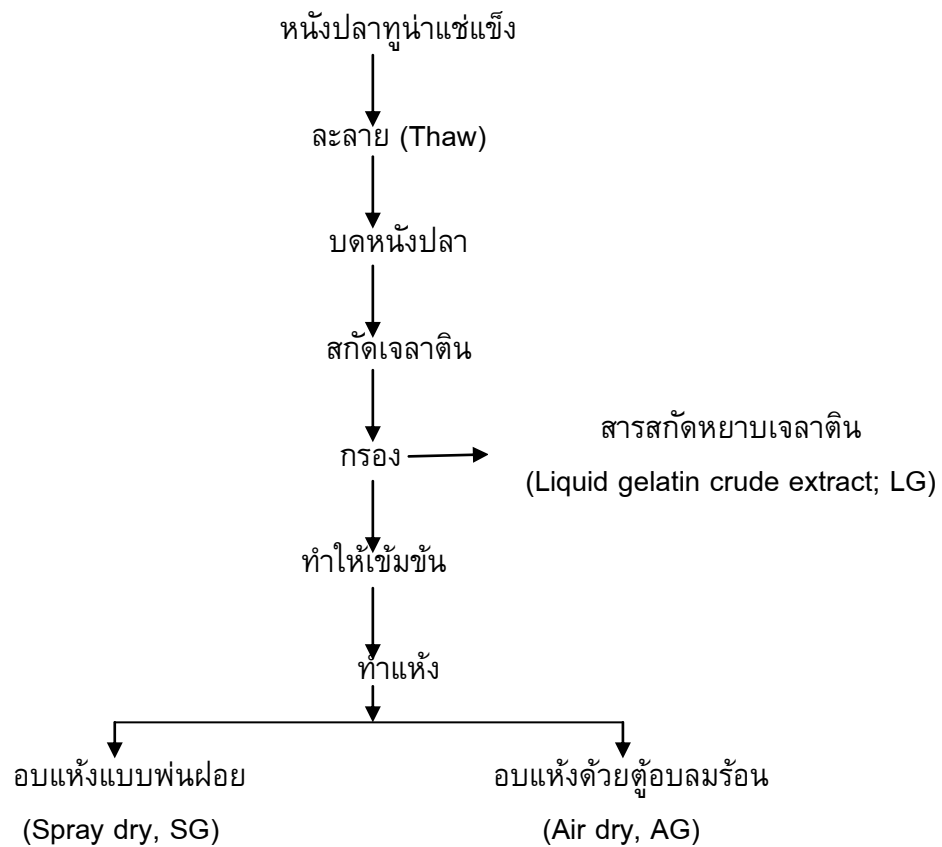
#### 4. วัตถุดิบ

หนังปลาทูน่า skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) จากขั้นตอนการชุบน้ำแข็งผ่านการให้ความร้อน รับจากบริษัทสงขลาแคนนิ่ง จำกัด มหาชน จังหวัดสงขลา ใช้ปลาทูน่าขนาด 2.5-3.5 กิโลกรัมต่อตัว (ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 65-75°C เป็นเวลาประมาณ 45-55 นาที) แบ่งการเก็บตัวอย่างเป็น 2 ช่วง คือฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2553) และฤดูใบไม้ร่วง (เดือนมีนาคม 2554) เดือนละ 2 ครั้ง (Batch) โดยตัวอย่างหนังปลาจะมีระยะเวลาเก็บรักษาที่โรงงานไม่เกิน 24 ชม. บรรจุใส่กล่องโฟม ปิดฝาให้สนิท จากนั้นขนส่งมายัง ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C

#### วิธีดำเนินการ

##### 1. การสกัดเจลาตินและการเตรียมเจลาตินผงจากหนังปลาทูน่า

การสกัดเจลาตินและการเตรียมเจลาตินผงจากหนังปลาทูน่ามีขั้นตอนดำเนินการดังแสดงในภาพที่ 9 ดำเนินการสกัดเจลาตินโดย นำตัวอย่างหนังปลาทูน่ามาละลายที่อุณหภูมิห้อง (Thaw) บนหนังปลาด้วยเครื่องบดเนื้อ ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเพลท (plate) ประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ต้มสกัดเจลาตินด้วยน้ำตามสภาวะที่กำหนด โดยให้ความร้อนโดยตรงแก่ภาชนะที่ใช้สกัด และติดตั้งเทอร์มอมิเตอร์เพื่อวัดระดับอุณหภูมิในตำแหน่งกึ่งกลางของภาชนะ คนผสมทุกๆ 5 นาที ตลอดระยะเวลาการต้มสกัด ต่อจากนั้นกรองด้วยตะแกรงพลาสติกเพื่อแยกเศษเนื้อและหนังที่มีขนาดใหญ่ แล้วกรองด้วยผ้าขาวบางตาห่าง 1 ครั้ง นำสารสกัดไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ระยะเวลา 10-12 ชม. สารสกัดจะแยก เป็น 3 ชั้น แยกเอาส่วนชั้นบนซึ่งเป็นส่วนของไขมันและเศษหนัง และชั้นล่าง เป็นส่วนของเนื้อปลาออกไป นำชั้นกลางซึ่งเป็นสารสกัดหยาบเจลาตินมากรองซ้ำด้วยผ้าขาวตาถี่ที่ซ้อนกัน 3 ชั้น จำนวน 3 ครั้ง จะได้สารสกัดหยาบ เจลาติน (LG) จากนั้นทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 60°C ความดัน 40 มม.ปรอท จนสารสกัดมีความเข้มข้นของเจลาตินตามต้องการ นำสารสกัดส่วนที่จะศึกษาการทำแห้ง ไปทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dry) ที่อุณหภูมิขาเข้า 180°C อุณหภูมิขาออก 100°C หรืออบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55°C นาน 36 ชม. รวบรวมเจลาตินผงเพื่อใช้ศึกษาต่อไป



**Figure9.** Extracting procedure of crude gelatin from Skipjack tuna

ที่มา: ดัดแปลงจากวรวิศรา สุวรรณ (2545), Kittiphattanabawon (2004), ฉัตรบวร ศุภกรชูวงศ์ และชาวิต แซ่กอ (2547)

## 2 ศึกษาองค์ประกอบเคมีในหนังปลาทูน่าที่มีฤดูกาลจับปลาแตกต่างกัน

ดำเนินการศึกษาโดยสุ่มตัวอย่างหนังปลาทูน่า จากตัวอย่างที่เก็บในแต่ละฤดูกาล ฤดูกาลละ 2 ครั้ง (Batch) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี-กายภาพ ตามวิธีดังต่อไปนี้

- ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเกลือทั้งหมด ตามวิธี A.O.A.C. (2000) (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ก1-5)
- ปริมาณเจลาติน (คำนวณจากปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน; Bergman and Loxley, 1963) (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ก6)

คัดเลือกตัวอย่างหนังปลาทูน่ามา 1 Batch โดยคัดเลือกจากฤดูกาลที่มีปริมาณโปรตีนสูง มีความแปรปรวนของปริมาณไขมัน เถ้า และเกลือต่ำ และเป็น Batch ที่มีปริมาณเจลาตินสูง เมื่อเปรียบเทียบในฤดูกาลเดียวกัน ศึกษาต่อข้อ 3

## 3 ศึกษาผลของสภาวะการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่า

### 3.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่า

ศึกษาผลของปัจจัย 2 ประการคือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาหูน้ำ 3 ระดับ (60, 75 และ 90 °ซ) และระยะเวลาในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาหูน้ำ 4 ระดับ (30, 60, 90 และ 120 นาที) ดำเนินการสกัดโดยสุ่มตัวอย่างหนังปลาหูน้ำที่คัดเลือกจากข้อ 2 ต้มสกัดหนังปลาหูน้ำโดยใช้อัตราส่วนวัตถุดิบ (หนัง) ต่อตัวทำละลาย (น้ำ) เท่ากับ 1:3 น้ำหนักโดยปริมาตร (w/v) นำสารสกัดหยาบเจลาติน (LG) ที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี-กายภาพ ดังนี้

- ปริมาณเจลาตินใน LG ตามวิธีในข้อ 2
- ร้อยละผลผลิต (%Yield) (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ข6)

คัดเลือกสภาวะที่ให้ปริมาณเจลาติน และมีร้อยละผลผลิตสูงสุด ศึกษาต่อข้อ 3.2

### 3.2 ศึกษาผลของอัตราส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาหูน้ำ

ศึกษาผลของอัตราส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 5 ระดับคือ 1:0.25, 1:0.50, 1:1, 1:3 และ 1:6 (w/v) ดำเนินการศึกษโดยสุ่มตัวอย่างหนังปลาหูน้ำที่คัดเลือกจากข้อ 2 ต้มสกัดหนังปลาหูน้ำใช้ อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดที่คัดเลือกจากข้อ 3.1 นำสารสกัดหยาบเจลาตินที่ได้มาวิเคราะห์ สมบัติทางเคมีกายภาพ ดังนี้

- ปริมาณเจลาตินใน LG ตามวิธีในข้อ 2
- ร้อยละผลผลิต (%Yield) ตามวิธีในข้อ 3.1
- ค่าความแข็งของเจล (Breaking strength) (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ข2)

คัดเลือกสภาวะที่ให้ปริมาณเจลาตินสูง และมีค่าความแข็งของเจลสูงสุด ใช้ในการศึกษาข้อ 4

### 4 ศึกษาสมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาหูน้ำ

ดำเนินการศึกษาโดยสุ่มตัวอย่างหนังปลาหูน้ำ จากตัวอย่างที่เก็บในช่วง ฤดูหนาว (เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2553) และ ฤดูใบไม้ร่วง (เดือนมีนาคม 2554) เดือนละ 2 ครั้ง (Batch) ต้มสกัดเจลาตินโดยใช้สภาวะที่คัดเลือกจากการศึกษาข้อ 3.1 และ 3.2 เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีดังต่อไปนี้

- ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเกลือทั้งหมด ตามวิธีในข้อ 2
- ปริมาณเจลาติน ตามวิธีในข้อ 2

คัดเลือกตัวอย่างหนังปลาหูน้ำมา 1 Batch โดยคัดเลือกจากฤดูกาลที่มีปริมาณโปรตีนสูง มีความแปรปรวนของปริมาณไขมัน เถ้า และเกลือน้อย และเป็น Batch ที่มีปริมาณเจลาตินสูง เมื่อเปรียบเทียบในฤดูกาลเดียวกัน ศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาหูน้ำ (LG)

## สมบัติทางเคมี

- องค์ประกอบของกรดอะมิโน ด้วย Amino acid analyzer (Karim and Bhat, 2009)
- การละลายของโปรตีน (Montero *et al.*, 1991) (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ก8)

## สมบัติทางกายภาพ

- อุณหภูมิหลอมเหลวของ LG เจล (ความเข้มข้นของเจลาตินร้อยละ 6, 12 และ 20) ด้วยเทคนิค DSC (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ข1)
- ค่าความแข็งของเจล (Breaking strength) ตามวิธีในข้อ 3.2

### - ศึกษาผลของค่ากรด-ด่างต่อค่าความแข็งของเจล (Breaking strength)

ดำเนินการศึกษาผลของค่ากรด-ด่างต่อค่าความแข็งของเจล โดย นำ LG (ปริมาณเจลาตินร้อยละ 6) ปริมาตร 9 มล. และปรับค่ากรด-ด่าง ให้มีค่าเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 10 มล. ด้วย LG จากนั้นคนเบาๆ อย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้อง ( $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้บรรจุในภาชนะสำหรับวิเคราะห์ ค่า Breaking strength นำไปเก็บที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชม. เมื่อครบระยะเวลานำมาวิเคราะห์ค่า Breaking strength

### - ศึกษาผลของชนิดและปริมาณเกลือต่อค่าความแข็งของเจล

ศึกษาผลของปริมาณเกลือแคลเซียมคลอไรด์ และ โซเดียมคลอไรด์ 4 ระดับ (0, 10, 50 หรือ 100 มิลลิโมลาร์) ต่อสมบัติของเจลจากสารสกัดหยาบเจลาติน เตรียมสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่าโดยใช้ความเข้มข้นของเจลาตินร้อยละ 6 บ่มเจลที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  โดยใช้ระยะเวลาบ่มเจล 24 ชม. วิเคราะห์ความแข็งแรงของเจล (Breaking strength)

## 5 ศึกษาสมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่าที่ผ่านการ ทำแห้ง

ศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพของเจลาตินผงที่ผลิตจากสารสกัดหยาบเจลาติน (LG, เจลาตินร้อยละ 6) ที่คัดเลือกรวมจากฤดูกาล และ Batch ในข้อ 4 ผ่านการทำแห้ง 2 วิธี คือ อบแห้งที่อุณหภูมิ  $55^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 36 ชม. นำไปบดละเอียด แล้วร่อนด้วยตะแกรงร่อน (Sieve) ขนาด 40 เมช และทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิเข้าเท่ากับ  $180^{\circ}\text{C}$  และ อุณหภูมิขาออกเท่ากับ  $100^{\circ}\text{C}$  แล้วร่อนด้วย Sieve ขนาด 100 เมช รวบรวมสารสกัดเจลาตินผง นำไปศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพ ดังนี้

### สมบัติทางเคมี

- ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเกลือทั้งหมด ตามวิธีในข้อ 2
- ปริมาณเฆลาติน ตามวิธีในข้อ 2
- รูปแบบขนาดโมเลกุลโปรตีน ด้วย SDS-PAGE (Laemmli, 1970) ศึกษาเปรียบเทียบกับ รูปแบบขนาดโมเลกุลโปรตีนของ LG (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ก7)
- การละลายของโปรตีน ตามวิธีในข้อ 4

### สมบัติทางกายภาพ

- ร้อยละผลผลิต (%Yield) ตามวิธีในข้อ 3.1
- ความหนาแน่นของตัวอย่างผง (Bulk density) (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ข3)
- การไหลของอนุภาค (Flow ability) (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ข4)
- ค่าสี ( $L^* a^* b^*$ ) (Hunter Lab) (แสดงรายละเอียดตามภาคผนวก ข5)
- ค่าความแข็งของเจลในสารสกัดหยาบเฆลาตินผง ตามวิธีในข้อ 3.2

#### - Bloom strength

- Breaking strength ของสารสกัดหยาบเฆลาตินผงที่ความเข้มข้น แตกต่างกัน ศึกษาผลของปัจจัย 2 ประการคือ วิธีการทำแห้งสารสกัด เฆลาติน 2 วิธีคือ การอบแห้ง และการทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่ความเข้มข้นของเฆลาติน 3 ระดับคือ ร้อยละ 6, 12 และ 20 ดำเนินการศึกษาโดยนำ LG (ความเข้มข้นเฆลาตินร้อยละ 6) ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 55°ซ จนมีความเข้มข้นของ เฆลาตินเท่ากับร้อยละ 6, 12 และ 20 (วิเคราะห์ความเข้มข้นของ เฆลาตินจากการวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน; แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก6) เตรียมสารสกัดหยาบเฆลาตินผงที่ผ่านการอบแห้ง (AG) และพ่นฝอย (SG) โดยนำสารสกัดผงมาละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 มล. คำนวณให้มีความเข้มข้นเฆลาตินในสารละลายเท่ากับ 6, 12 และ 20 กรัม ให้ความร้อนแก่ส่วนผสมที่อุณหภูมิ 60°ซ เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้ (LG, AG และ SG) บรรจุในภาชนะสำหรับวิเคราะห์ Breaking strength นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°ซ วิเคราะห์ ค่า Breaking strength ทุกๆ 0.5, 1, 2, 4, 6, 12 และ 24 ชม.

### 6 ศึกษาผลของการใช้สารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจลในสารสกัดหยาบเฆลาตินจากหนังปลาหูเต้าต่อค่าความแข็งของเจล

ศึกษาผลของสารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล 2 ชนิด (L-ascorbic acid หรือ Glucono delta lactone) ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ (0, 0.25, 0.5 และ 1.0 มล. โมลาร์) ต่อค่า Breaking strength ของเจลจากสารสกัดหยาบเฆลาติน

ดำเนินการศึกษาโดย นำ LG (เจลาตินร้อยละ 6; จากการศึกษาข้อ 3) มาเติมสารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจลตามชุดทดลอง แล้วให้ความร้อนแก่สารละลาย ที่อุณหภูมิ และระยะเวลา เท่ากับค่า F0 ของผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เลี้ยง หลังจากนั้นบรรจุสารละลายในภาชนะขณะร้อน แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารละลายไปบ่มให้เกิดเจลที่อุณหภูมิ 4 °ซ โดยใช้ระยะเวลาบ่มเจล 24 ชม. แล้วนำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจล (Breaking strength) โดยศึกษาเปรียบเทียบค่า Breaking strength กับ LG เจล ที่ไม่เติมสารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล

### 7 ศึกษาผลการ Annealing ต่อค่าความแข็งแรงของสารสกัดหยาบเจลาตินเจล

ศึกษาผลของการ Anneal LG เจล ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิหลอมเหลวของเจล (To) อยู่ 10 °ซ ที่มีค่ากรด-ด่างตั้งแต่ 1 ถึง 10 ต่อค่า Breaking strength ของ LG โดยเปรียบเทียบกับ LG เจล ที่ไม่ Anneal ดำเนินการโดยนำสารละลายเจลาตินจากหนังปลาทูน่า (LG) (จากการศึกษาข้อ 3) ปรับค่ากรด-ด่างตามชุดการทดลอง แล้วให้ความร้อนแก่สารละลาย ที่อุณหภูมิ 122 °ซ และระยะเวลา 30 นาที (ค่า F0 ของผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เลี้ยง) บรรจุสารละลายในภาชนะขณะร้อน แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นแบ่งตัวอย่างเป็น 2 ชุด ชุดแรกนำสารละลายไปบ่มให้เกิดเจลที่อุณหภูมิ 4 °ซ โดยใช้ระยะเวลาบ่มเจล 44 ชม. ชุดที่สอง นำสารละลายไปบ่มให้เกิดเจลที่อุณหภูมิ 4 °ซ ใช้ระยะเวลา 24 ชม. แล้วนำมาบ่มต่อที่อุณหภูมิต่ำกว่า To อยู่ 10 °ซ เป็นระยะเวลา 10 ชม. จากนั้นนำกลับมาบ่มที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 10 ชม. (Annealing) นำเจลทั้ง 2 ส่วน มาวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจล (Breaking strength)

### 8 ศึกษาการใช้สารสกัดหยาบเจลาตินทดแทนสารที่ทำให้เกิดเจลทางการค้าในผลิตภัณฑ์อาหารแมวแบบเปียก

#### 8.1 ศึกษาสมบัติของเจลจากสารสกัดหยาบเจลาตินที่ผสมแซนแทนกัมและคาร์ราจีแนน

ศึกษาสมบัติของเจลที่มีส่วนประกอบของ LG, คาร์ราจีแนน และแซนแทนกัม ดังแสดงในตารางที่ 6 ให้ความร้อนแก่ส่วนผสมที่อุณหภูมิ และระยะเวลา เท่ากับค่า F0 ของผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เลี้ยง บรรจุสารละลายในภาชนะขณะร้อน บ่มเจลที่อุณหภูมิ 4 °ซ และ อุณหภูมิห้อง (26± 2 °ซ) ใช้ระยะเวลาบ่มเจล 24 ชม. นำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจล (Breaking strength) และปริมาณงานที่ใช้ในการทำลายโครงข่ายเจล (Relative work) เปรียบเทียบกับสมบัติของ เจลจากแซนแทนกัม และคาร์ราจีแนน ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 และ 0.71 ตามลำดับ (สารก่อเจลที่ใช้ในอาหารแมว) คัดเลือกชุดการทดลองที่มีค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุดที่อุณหภูมิห้องศึกษาต่อข้อ 8.2

**Table 6** Concentrations of gelatin carrageenan and xanthan gum on gel mixture

LG (% gelatin)	Carrageenan (%)	Xanthan gum (%)
0	0	0
0	0	0.4
0	0.71	0
0	0.71	0.4
6	0	0
6	0	0.4
6	0.71	0
6	0.71	0.4
12	0	0
12	0	0.4
12	0.71	0
12	0.71	0.4
20	0	0
20	0	0.4
20	0.71	0
20	0.71	0.4
Control (no gelatin)	0.71	0.8

## 8.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของแซนแทนกัมต่อสมบัติการเกิดเจลของสาร

### ผสมแซนแทนกัม สารสกัดหยาบเจลาติน และคาร์ราจีแนน

ศึกษาสมบัติของเจลที่ความเข้มข้นของแซนแทนกัม 5 ร้อยละ (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8) โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเจลาตินและคาร์ราจีแนนที่คัดเลือกจากข้อ 8.1 ที่โดยบ่มเจลที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ และ อุณหภูมิห้อง (26± 2<sup>o</sup>ซ) วิเคราะห์ค่า Breaking strength และปริมาณงานที่ใช้ในการทำลายโครงข่ายเจล (Relative work) เปรียบเทียบกับสมบัติของเจลจากแซนแทนกัมและคาร์ราจีแนน (สารก่อเจลที่ใช้ในอาหารแมว) คัดเลือกชุดการทดลองที่มีค่าความแข็งของ เจลสูงสุดที่อุณหภูมิห้อง ศึกษาต่อในข้อ 8.3



### 8.3 ศึกษาการใช้สารสกัดหยาบเจลาตินทดแทนแซนแทนกัมในการผลิต

#### อาหารแมวแบบเปียกสภาวะที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม

ดำเนินการโดยการเตรียมสารละลายที่ใช้ในการเกิดเจลตามสภาวะที่คัดเลือกจากข้อ 8.2 เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแมวแบบเปียกที่ผลิตโดยใช้เนื้อดำของปลาทูน่า บรรจุนในถุง เพอร์วิส และให้ความร้อนในระยะเวลา และอุณหภูมิเดียวกับสภาวะฆ่าเชื้อของผลิตภัณฑ์ของโรงงาน อุตสาหกรรม (FO) วิเคราะห์องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

- ปริมาณ โปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า และเกลือ ตามวิธีในข้อ 2
- ปริมาณจุลินทรีย์
- ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการทดสอบความแตกต่างจากชุดควบคุม (Triangle test และ Difference-from-control test) ทดสอบความแตกต่างด้านสี ความแข็ง (Hardness) ความหนืด (Viscosity) กลิ่นคาวปลา (Fishy) โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน (Watt, 1989)
- ทดสอบในแมว (Palatability) ด้วยวิธี 2 pan- และ 2-day test .ศึกษาในแมว 6 ตัว ที่มีอายุประมาณ 1 ปี (Adult cat) (Griffin, 2003)

ศึกษาเปรียบเทียบกับอาหารแมวแบบเปียกสูตรมาตรฐานของโรงงานอุตสาหกรรม

#### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์ข้อมูล โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's multiple rang test (DMRT) สำหรับข้อ 3, 5 (สมบัติทางกายภาพ) 6, 7 และ 8.1-8.2 และ T-test สำหรับข้อ 2, 4, 5 (องค์ประกอบทางเคมี) และ 8.3 จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 11.0 ที่ระดับความเชื่อมั่น เท่ากับร้อยละ 95

### บทที่ 3

#### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

##### 1. องค์ประกอบเคมีในหนังปลาทูน่าที่มีฤดูกาลจับปลาแตกต่างกัน

องค์ประกอบทางเคมีของหนังปลาทูน่าที่ผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำ จากฤดูกาลจับปลาในฤดูหนาว และฤดูใบไม้ร่วง แสดงในตารางที่ 7 หนังปลาทูน่าในฤดูหนาวมีประมาณ โปรตีน ไขมัน เถ้า เกลาติน และเกลือ อยู่ร้อยละ 80.04, 4.45, 17.12, 17.85 และ 14.74 (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ และ ฤดูใบไม้ร่วงมีประมาณ โปรตีน ไขมัน เถ้า เกลาติน และเกลือ ร้อยละ 85.09, 1.94, 13.58, 17.05 และ 13.48 (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ องค์ประกอบทั้งหมดยกเว้นโปรตีนมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง Batch ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมดยกเว้นโปรตีนยังมีค่าแตกต่างกันอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบในฤดูกาลที่แตกต่างกัน และในฤดูหนาวมีปริมาณมากกว่าในฤดูใบไม้ร่วง ปริมาณองค์ประกอบเหล่านี้ขึ้นอยู่กับ Batch ซึ่งกำหนดโดยบริษัทผู้ผลิตหลังจากขั้นตอนการคัดขนาดปลา นอกจากนี้อาจจะขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น ความแปรปรวนทางชีวภาพของปลา (อายุ เพศ ขนาด และลักษณะทางพันธุกรรม) โดยปลาที่จับได้จากน่านน้ำ หรือมีอุณหภูมิของน้ำในแหล่งที่อยู่อาศัยแตกต่างกันจะมีปริมาณคอลลาเจนในหนังปลาแตกต่างกัน (Muyonga *et al.*, 2004) สำหรับความแปรปรวนในระหว่างกระบวนการจับ และขนส่งปลา (ปัจจัยหลังการเก็บเกี่ยว) จะสัมพันธ์กับระยะเวลา อุณหภูมิ และการเก็บรักษาปลาหลังการเก็บเกี่ยวที่มีความแตกต่างกันระหว่างเรือจับ ตัวอย่างเช่น ความแตกต่างของปริมาณเกลือ และน้ำทะเลที่ใช้ในการเก็บรักษาปลาของเรือแต่ละลำ หรือแต่ละครั้งในการจับ จะส่งผลให้ปริมาณเกลือที่แพร่เข้าสู่ตัวปลามีความแตกต่างกันด้วยเช่นกัน จากการวิเคราะห์กระบวนการเก็บรักษาปลาในเรือจับปลาพบว่าการเติมเกลือและน้ำทะเลเพื่อเก็บรักษาปลาในระหว่างการจับ เทคนิคนี้อาจจะทำให้ปลาในหลายสายพันธุ์มีรสเค็มเพราะปริมาณเกลือที่สูงขึ้น (Shaw and Botta, 1975; and Reppond *et al.*, 1985) นอกจากนี้ในระหว่างกระบวนการนึ่งปลาด้วยไอน้ำ เกลาตินบางส่วนจะสูญเสียไป โดยการละลายไปกับน้ำนึ่งปลาทูน่า และการสูญเสียนี้อาจจะไม่คงที่ เนื่องจากกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม จากการสำรวจปริมาณเกลาตินในหนังปลาทูน่าพบว่ามีเกลาตินอยู่ประมาณร้อยละ 3.11-2.43 (กรัมต่อ 100 มล.) (นัฐฐา คเชนทร์ภักดี, 2549)

**Table 7** Chemical composition of precooked skipjack tuna skin

composition	Winter (March, 2012)			Autumn (November, 2011)		
	Batch 1	Batch 2	Average	Batch 1	Batch 2	Average
<i>Proximate analysis (g/100 g tuna skin, dry basis)</i>						
protein*	80.04±2.84 <sup>A</sup>	80.03±3.20 <sup>A</sup>	80.04±0.14 <sup>a</sup>	84.95±1.36 <sup>A</sup>	85.23±2.10 <sup>A</sup>	85.09±0.20 <sup>b</sup>
lipid	7.36±2.83 <sup>B</sup>	1.53±0.80 <sup>A</sup>	4.45±4.12 <sup>b</sup>	2.26±0.65 <sup>B</sup>	1.61±0.27 <sup>A</sup>	1.94±0.46 <sup>a</sup>
ash	12.6±0.33 <sup>A</sup>	21.64±0.51 <sup>B</sup>	17.12±6.39 <sup>b</sup>	13.19±0.67 <sup>A</sup>	13.96±0.37 <sup>A</sup>	13.58±0.54 <sup>a</sup>
<i>Chemical analysis (g/100 g tuna skin, dry basis)</i>						
Gelatin content						
- on dry basis	21.86±1.42 <sup>B</sup>	13.75±1.25 <sup>A</sup>	17.85±4.28 <sup>a</sup>	18.65±2.16 <sup>B</sup>	16.37±1.82 <sup>A</sup>	17.05±1.53 <sup>a</sup>
- on protein basis	27.31±2.37 <sup>B</sup>	17.18±3.28 <sup>A</sup>	22.24±7.16 <sup>b</sup>	22.03±1.27 <sup>B</sup>	19.21±2.38 <sup>A</sup>	20.60±1.97 <sup>a</sup>
Total salt	11.84±4.63 <sup>A</sup>	17.63±0.53 <sup>B</sup>	14.74±4.09 <sup>b</sup>	12.87±1.46 <sup>B</sup>	14.08±1.90 <sup>A</sup>	13.48±0.85 <sup>a</sup>

Note: \*N x 6.25

Values were given as mean  $\pm$  standard deviation. Values between batch 1 and batch 2 in the same season followed by different upper case super script are significantly different (P<0.05). Values in the same row with different season followed by different lower case super script are significantly different (P<0.05).

## 2. ผลของสภาวะการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่า

### 2.1 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่า

การสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่าที่ผ่านการให้ความร้อนในสภาวะที่มีอุณหภูมิ (60, 75 และ 90 °ซ) และระยะเวลาในการสกัด (30, 60, 90 และ 120 นาที) แตกต่างกัน โดยมีอัตราส่วนวัตถุดิบ (หนังปลาทูน่า) ต่อตัวทำละลาย (น้ำ) เท่ากับ 1:3 (กรัมต่อมล.) ในส่วนของเหลวที่ได้มีปริมาณเจลาตินอยู่ในช่วงร้อยละ 2.24-5.06 (กรัมต่อ 100 มล.) และมี Yield ของเจลาตินที่สกัดได้อยู่ในช่วงร้อยละ 3.67-8.29 (น้ำหนักแห้ง) ดังแสดงตารางที่ 8 จากการศึกษาพบว่า เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ปริมาณเจลาติน และ Yield ที่สกัดได้มีค่าสูงขึ้น ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดเจลาติน โดยที่ประสิทธิภาพในการสกัดเจลาติน จะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการเพิ่มขึ้น โดยสภาวะการสกัดที่มีปริมาณเจลาติน และ Yield สูงสุดคือสกัดที่อุณหภูมิ 90 °ซ เป็นเวลา 30 นาที (ร้อยละ 5.15 และ 8.43 ตามลำดับ) แต่ทั้งนี้สภาวะการสกัดดังกล่าว ยังไม่สามารถสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่าได้ทั้งหมด จากการศึกษาการสกัดเจลาตินจากหนังหมึกของ Muralidharan และคณะ (2012) ศึกษาการสกัดที่อุณหภูมิ 50-80 °ซ พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นผลผลิตของเจลาติน (Yield) จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะมีพลังงานในการทำละลายแรงยึดเหนี่ยวในโครงสร้างคอลลาเจน และพันธะเปปไทด์ของสายแอลฟาในโครงสร้างของคอลลาเจนเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณเจลาตินเพิ่มขึ้น โดยที่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของคอลลาเจนเป็นเจลาตินจะขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการผลิต (อุณหภูมิ เวลาการสกัด และค่ากรด-ด่าง) การเตรียมวัตถุดิบก่อนการสกัด สมบัติ และวิธีการเก็บรักษาวัตถุดิบ เริ่มต้น เป็นต้น (Karim and Bhat, 2009)

**Table 8** Effect of extraction temperature and extraction time on gelatin content of LG prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin

Extraction temperature (°C)	Extraction time (min)	Gelatin in water extraction (g/100 ml.)	Extraction yield (% dry skin)
60	30	2.24±0.12 <sup>g</sup>	3.67±1.44
	60	2.83±0.06 <sup>f</sup>	4.63±0.76
	90	3.08±0.04 <sup>e</sup>	5.05±0.44
	120	3.11±0.04 <sup>e</sup>	5.10±0.45
75	30	3.03±0.06 <sup>e</sup>	4.97±0.69
	60	3.48±0.14 <sup>d</sup>	5.71±1.79
	90	4.62±0.06 <sup>c</sup>	7.58±0.68
	120	4.92±0.13 <sup>b</sup>	8.07±1.58
90	30	5.15±0.09 <sup>a</sup>	8.43±1.13
	60	5.05±0.03 <sup>ab</sup>	8.28±0.38
	90	5.10±0.02 <sup>a</sup>	8.37±0.26
	120	5.06±0.07 <sup>ab</sup>	8.29±0.84
Gelatin content in skipjack tuna skin (db)		18.65±2.16	

Note: Extraction ratio (tuna skin: water) (g/ml.) = 1:3

## 2.2 ผลของอัตราส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่า

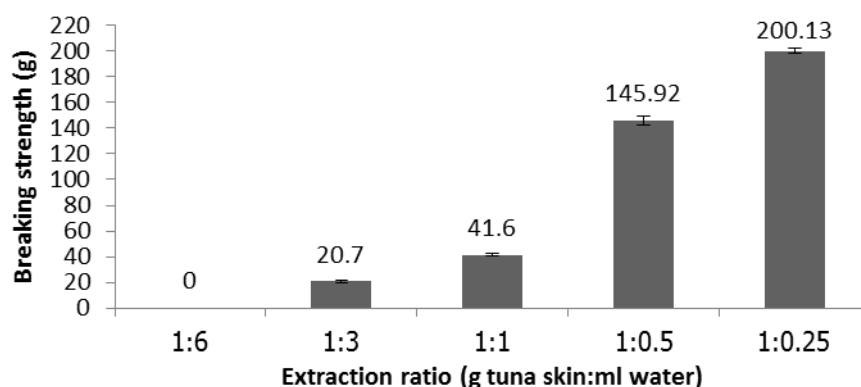
ผลของอัตราส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่าที่ผ่านการให้ความร้อน การสกัดที่อุณหภูมิ 90°ซ เป็นระยะเวลา 30 นาที แสดงผลดังตารางที่ 9 และภาพที่ 10 จากการศึกษาพบว่า เมื่ออัตราส่วนของน้ำที่ใช้ในการสกัดเจลาตินลดลงปริมาณเจลาติน ร้อยละผลผลิต (Yield) และค่าความแข็งของเจล (Breaking strength) จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และมีความเข้มข้นเจลาตินในสารสกัดหยาบอยู่ในช่วงร้อยละ 2.53-6.08 (กรัมต่อ 100 มล.) Yield อยู่ในช่วงร้อยละ 4.15-9.97 (น้ำหนักแห้ง) อัตราส่วนการสกัดที่ให้ Yield สูงสุด คืออัตราส่วนที่มีปริมาณน้ำน้อยที่สุด (1:0.25 กรัมต่อมล.) ทั้งนี้สภาวะการดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่าได้ประมาณร้อยละ 50 จึงควรมี

การศึกษาในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดให้ได้ปริมาณเจลาตินสูงขึ้น สำหรับค่า Breaking strength ของสารสกัด จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำที่ลดลง และการสกัดที่มีอัตราส่วนน้ำน้อยกว่า 1 จะมีค่า Breaking strength เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีค่าสูงที่สุด เมื่ออัตราส่วนของหนังปลา ทูน่าต่อปริมาณน้ำเท่ากับ 1: 0.25 (200.13 กรัม) (ภาพที่ 10) อาจจะเป็นเนื่องจาก ในการสกัดที่มี ปริมาณน้ำลดลง จะทำให้ความเข้มข้นของโปรตีน และปริมาณเกลือในสารสกัดสูงขึ้น ส่งผลให้ เกิดเจลที่มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น เพราะทั้งสององค์ประกอบเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดเจล นอกเหนือจากปริมาณเจลาตินในสารสกัด

**Table 9** Effect of water extraction ratio on gelatin content of LG prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin

Extraction ratio (tuna skin: water)(g/ml.)	Gelatin in water extraction (g/100 ml.)	Extraction yield (%, dry skin)
1:6	2.53±0.08 <sup>d</sup>	4.15±1.00
1:3	5.08±0.03 <sup>c</sup>	8.33±0.32
1:1	5.35±0.10 <sup>b</sup>	8.78±1.24
1:0.50	5.44±0.05 <sup>b</sup>	8.92±0.57
1:0.25	6.08±0.06 <sup>a</sup>	9.97±0.68
Gelatin content in skipjack tuna skin (db)		18.65±2.16

Note: Extraction temperature and extraction time = 90°C and 30 min



**Figure 10.** Effect of water extraction ratio on breaking strength of liquid gelatin crude extract (LG) gel

### 3. สมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่า

#### 3.1 องค์ประกอบเคมีในสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่าที่มี ฤดูกาลในการจับปลาแตกต่างกัน

องค์ประกอบทางเคมีของ LG ที่สกัดจากหนังปลาในฤดูหนาว และฤดูใบไม้ร่วง แสดงในตารางที่ 10 จากการศึกษาพบว่าปริมาณโปรตีนมีความแตกต่างกันระหว่างฤดูกาล แต่ไม่มีความแตกต่างกันในระหว่าง Batch และเป็นที่น่าสนใจว่าปริมาณไขมันระหว่าง Batch ในฤดูหนาว มีความแตกต่าง และมีความแปรปรวนสูง ทั้งยังมีความแตกต่างกับ Batch ในฤดูใบไม้ร่วง โดยจากสามในสี่ Batch (จากทั้งสองฤดูกาล) มีปริมาณไขมันประมาณร้อยละ 1-2 (น้ำหนักแห้ง) และใน Batch ที่ 1 ในฤดูหนาว มีปริมาณสูงกว่า Batch อื่น 4 เท่า ทั้งนี้ LG ยังมีความแตกต่างกันอย่างมากในปริมาณเถ้า โดยเฉพาะ Batch 2 ในฤดูหนาว (ร้อยละ 21.01, น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่มาตรฐานกำหนด (ร้อยละ 2.6, น้ำหนักแห้ง) (Jones, 1977) และจากสามในสี่ของ Batch ที่ศึกษา มีปริมาณเกลือใกล้เคียงกัน โดยมีค่าประมาณร้อยละ 12.0-13.5 (น้ำหนักแห้ง) ส่วนปริมาณเจลาตินของ LG จากฤดูหนาว มีปริมาณสูงกว่าฤดูใบไม้ร่วง (ประมาณร้อยละ 69 และ 52, น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) ความแปรปรวนของ เจลาตินระหว่าง Batch ในฤดูหนาวและฤดูใบไม้ร่วง เท่ากับร้อยละ 12 และ 17 (กรัมเจลาติน/100 กรัมหนังแห้ง) ตามลำดับ สำหรับความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีใน LG นั้นอาจจะมาจากความแปรปรวนขององค์ประกอบทางเคมีในหนังปลาทูน่าเริ่มต้น (ตารางที่ 1)

**Table 10** Chemical composition of liquid gelatin crude extracts (LG)

composition	Winter (March, 2012)			Autumn (November, 2011)		
	Batch 1	Batch 2	Average	Batch 1	Batch 2	Average
<i>Yield (% dry skin)</i>	20.04±3.16 <sup>B</sup>	12.29±2.34 <sup>A</sup>	16.17±4.92 <sup>a</sup>	9.88±1.92 <sup>A</sup>	14.84±1.28 <sup>B</sup>	12.36±3.08 <sup>a</sup>
<i>Proximate analysis (g/100 g tuna skin, dry basis)</i>						
protein*	80.03±1.07 <sup>A</sup>	80.60±0.72 <sup>A</sup>	80.32±0.88 <sup>a</sup>	85.01±1.56 <sup>A</sup>	85.15±0.62 <sup>A</sup>	85.08±1.06 <sup>b</sup>
lipid	7.71±1.96 <sup>B</sup>	1.09±0.36 <sup>A</sup>	4.40±3.84 <sup>a</sup>	1.81±0.39 <sup>B</sup>	1.06±0.04 <sup>A</sup>	1.44±0.48 <sup>b</sup>
ash	12.26±0.33 <sup>A</sup>	21.01±0.51 <sup>B</sup>	16.64±4.81 <sup>a</sup>	13.36±0.67 <sup>A</sup>	13.25±0.37 <sup>A</sup>	13.31±0.49 <sup>b</sup>
<i>Chemical analysis (g/100 g tuna skin, dry basis)</i>						
Gelatin content						
- on dry basis	75.39±4.30 <sup>B</sup>	62.48±5.06 <sup>A</sup>	68.93±8.23 <sup>a</sup>	59.62±3.63 <sup>B</sup>	44.51±3.73 <sup>A</sup>	52.06±8.91 <sup>b</sup>
- on protein basis	94.20±5.37 <sup>B</sup>	77.51±6.28 <sup>A</sup>	85.86±10.53 <sup>a</sup>	70.13±4.27 <sup>B</sup>	52.27±4.38 <sup>A</sup>	61.20±10.52 <sup>b</sup>
Total salt (g/100 g tuna skin, dry basis)	11.55±6.07 <sup>A</sup>	16.87±0.21 <sup>A</sup>	14.21±4.82 <sup>a</sup>	14.03±1.85 <sup>B</sup>	18.34±0.27 <sup>A</sup>	16.18±2.64 <sup>b</sup>

Note: \*N x 6.25

Values were given as mean ± standard deviation. Values between batch 1 and batch 2 in the same season followed by different upper case super script are significantly different (P<0.05). Values in the same row with different season followed by different lower case super script are significantly different (P<0.05).



### 3.2 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลา ทูน่า

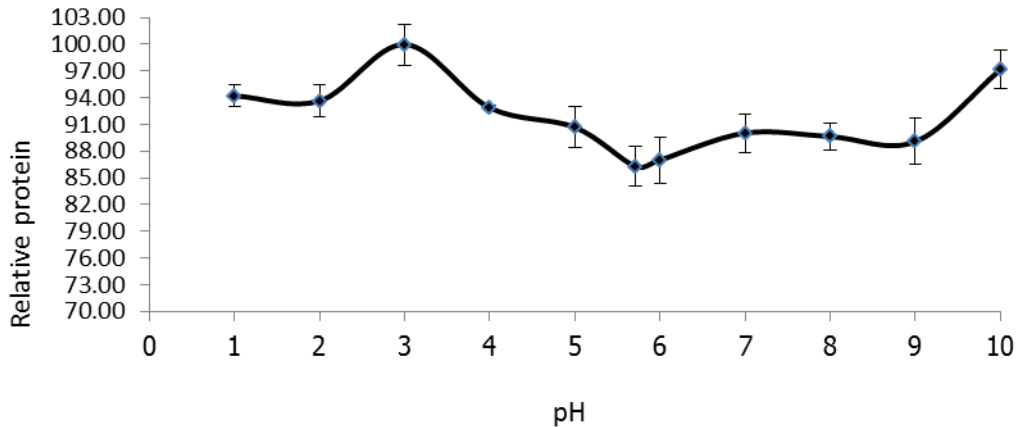
ปริมาณองค์ประกอบของกรดอะมิโนใน LG แสดงในตารางที่ 11 จากการศึกษาพบว่า LG มีไกลซีนเป็นองค์ประกอบหลักหลัก (ร้อยละ 16.24) มีปริมาณกรดอะมิโน (โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน) ร้อยละ 11.30 และ 7.19 ตามลำดับ ปริมาณโพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีนในเจลาตินมีความสำคัญต่อการเกิดพันธะสามสาย และความคงตัวของเจลาติน เนื่องจากสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนของ หมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลเจลาตินได้ (Ledwad, 1986) มีรายงานว่า เจลาตินที่ผลิตจากเนื้อเยื่อของสัตว์เลือดอุ่นนั้นมีปริมาณกรดอะมิโน (โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน) สูงกว่าเจลาตินที่ผลิตจากปลา (ร้อยละ 11.30 และ 7.19 ตามลำดับ) (Norland, 1990) ซึ่งปริมาณกรดอะมิโนใน LG มีปริมาณร้อยละ 18.49 ซึ่งน้อยกว่าเจลาตินจากหนังหมูที่มีร้อยละ 22.15 (Cho *et al.*, 2004) นอกจากนี้ เจลาตินจากปลาที่อาศัยในเขตน้ำอุ่น มีปริมาณกรดอะมิโน สูงกว่าปลาในเขตน้ำเย็น และมีปริมาณแตกต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Gilseman and Ross-Murphy, 2000) LG มีปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนค่อนข้างสูง (ร้อยละ 7.19) แต่มีปริมาณน้อยกว่าเจลาตินจากหมู ที่มีร้อยละ 10.79 (Cho *et al.*, 2004) และมีปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนใกล้เคียงกับปริมาณเจลาตินในครีบบปลาทูน่า (ร้อยละ 7.4) ที่ศึกษาโดย Aewsiri และคณะ (2008) ความคงตัวของโครงสร้างเจลาตินและคอลลาเจนยังขึ้นอยู่กับปริมาณกรดอะมิโน และไกลซีน (Lehniger *et al.*, 1993) LG มีไกลซีนร้อยละ 16.24 ซึ่งน้อยกว่าเจลาตินจากปลาชนิดอื่น เช่นปลาเสือเททา (ร้อยละ 28.9) และปลาค็อด (ร้อยละ 34.4) (Jellouli *et al.*, 2011) เพราะเหตุนี้อาจคาดการณ์ได้ว่า เจลาตินจาก LG จะไม่แข็งแรงเท่าเจลาตินเจลาตินจากหนังหมู และหนังปลาเสือเททา หรือ ปลาค็อด สำหรับซีสทินซึ่งโดยทั่วไปจะไม่พบในเจลาติน แต่กลับพบในตัวอย่างนี้ในปริมาณเล็กน้อย (ร้อยละ 2.51) อาจจะเนื่องมาจากมีเศษกล้ามเนื้อปลาปนอยู่ในสารสกัดหยาบนี้ประมาณร้อยละ 3 ส่วนไฮดรอกซีไกลซีนนั้นไม่พบในสารสกัดหยาบนี้

**Table 11** Amino acid composition of liquid gelatin crude extract (LG; 6% gelatin; wb) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin average of duplication among batch

Amino acid	Percent of total protein in LG	Amino acid	Percent of total protein in LG
alanine	12.17±0.21	phenylalanine	0.59±0.04
arginine	13.61±0.28	cystine	2.51±0.05
glutamic acid	9.17±0.14	aspartic acid	4.77±0.05
glycine	16.24±0.24	tyrosine	2.78±0.13
histidine	0.65±0.01	proline	11.30±0.42
isoleucine	0.78±0.04	hydroxy proline	7.19±0.03
leucine	4.60±0.19	serine	2.64±0.05
lysine	2.59±0.10	threonine	1.89±0.01
methionine	3.59±0.02	valine	2.89±0.01

### 3.3 การละลายของโปรตีนในสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่า

ผลของค่ากรด-ด่างต่อการละลายของโปรตีนใน LG แสดงในภาพที่ 11 LG มีค่าการละลายต่ำสุดที่ค่ากรด-ด่างประมาณ 6 ส่วนสูงสุดคือ 3 ซึ่งค่าการละลายต่ำสุดนั้นอธิบายได้ว่าโปรตีนเข้าใกล้จุด Isoelectric ทำให้มีแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสูง เนื่องจากประจุสุทธิเข้าใกล้ศูนย์ (Hall, 1996) ระดับการละลายของโปรตีนในน้ำเป็นผลมาจากแรงดึงดูดทางไฟฟ้า และอันตรกิริยาของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic interaction) ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน (Kinsella, 1976) โดยทั่วไป เจลาตินมีจุด Isoelectric ประมาณ 5-9 ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบและกระบวนการผลิต (Jonston-Banks, 1990; Poppe, 1997) ที่ระดับกรด-ด่าง ต่ำหรือสูงกว่าจุด Isoelectric โปรตีนมีแนวโน้มที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของประจุ จึงมีการดูดน้ำเพิ่มขึ้น (Kinsella, 1984) นอกจากนี้ จากปริมาณองค์ประกอบเคมีใน LG แสดงปริมาณเกลือที่ และจะส่งผลต่อสมบัติของ LG ด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ LG อาจจะมีการปนเปื้อนโปรตีนกล้ามเนื้อปลา ซึ่งโปรตีนชนิดนี้มีจุด Isoelectric ประมาณ 4.5 จึงอาจจะส่งผลให้จุด Isoelectric ของ LG มีค่าคลาดเคลื่อนและแตกต่างจากเจลาตินชนิดอื่น



**Figure11.** Effect of pH on protein solubility of LG prepared from batch 1 of autumn precooked Skipjack tuna skin

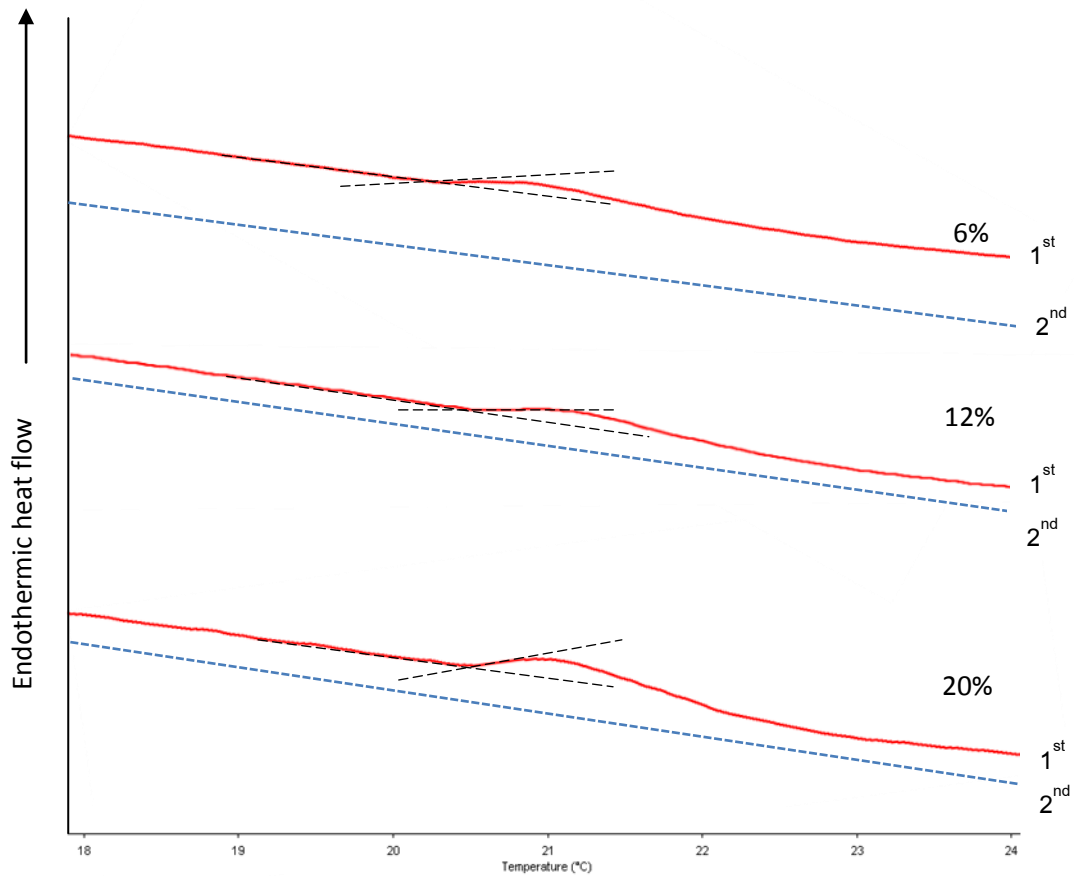
### 3.4 อุณหภูมิหลอมเหลวของสารสกัดหยาบเจลาตินเจลที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

การศึกษาอุณหภูมิหลอมเหลวของเจลจากสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่า ด้วยเทคนิค DSC (อุณหภูมิการวิเคราะห์ 0-130°C) ดังแสดงในตารางที่ 12 พบว่า เจลของ LG ที่ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6, 12 และ 20 มีอุณหภูมิการหลอมเหลวเฉลี่ย ( $T_m$ ) ไม่แตกต่างกันคือ ประมาณ  $20.86 \pm 0.06$ °ซ โดยเฉลี่ย และอุณหภูมิการหลอมเหลวเริ่มต้น ( $T_0$ ) เท่ากันคือ ประมาณ  $20.59 \pm 0.05$ °ซ โดยเฉลี่ย อุณหภูมิหลอมเหลวโดยภาพรวม ไม่สูงขึ้นตามความเข้มข้นของเจลาตินที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นที่ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 20 มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก Badii และ Howell (2006) กล่าวว่าความเข้มข้นของเจลาตินจะส่งผลต่ออุณหภูมิการหลอมเหลวของเจลาตินไม่มากนัก โดยที่อุณหภูมิหลอมเหลวของ LG มีค่าสูงกว่า เจลาตินจากหนังปลาค็อด (8-10°ซ) (Gudmundsson and Hafsteinsson, 1997) โดยทั่วไปแล้วเจลาตินที่สกัดจากปลาจะมีอุณหภูมิหลอมเหลวต่ำกว่า เจลาตินที่สกัดจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Norland, 1990) สำหรับพลังงานเอนทาลปี ( $\Delta H$ ) ที่ความเข้มข้นของเจลาตินร้อยละ 6, 12 และ 20 เท่ากับ 0.0193 0.0222 และ 0.0196 จูลต่อกรัม ตามลำดับ และไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \geq 0.05$ ) จาก Thermogram ของ 1<sup>st</sup> (ภาพที่12) แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของพลังงาน (Heat flow) ในตัวอย่างที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่ามี Endothermic melting ที่ประมาณ 20.5-22°ซ ลักษณะ Thermogram ของ LG แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงกว้างซึ่งมีลักษณะคล้ายกันทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ลักษณะดังกล่าวแสดงถึงลักษณะของสารที่มีหลายองค์ประกอบ ส่วน Thermogram ของ 2<sup>nd</sup> ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง แสดงให้เห็นว่า LG ทุกความเข้มข้นไม่เกิดการผันกลับของเจล (Reversibility) แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ค่า Breaking strength จาก LG เจลที่อุณหภูมิ 4°ซ นาน 24 ชม. ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น สามารถเกิดเจลได้ ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากเจล

ที่เกิดขึ้นเป็นชนิด Particle gel ไม่ใช่ Microcrystallinity gel จึงไม่สามารถวัดค่าได้ด้วยเทคนิค DSC (Alting, 2004) และการวัดค่า Tm รอบที่ 2 (2<sup>nd</sup>) อาจจะมีระยะเวลาไม่เพียงพอในการทำให้โมเลกุลของเจลาตินเกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงข่ายสามมิติของเจล

**Table 12** Melting temperature (Tm) and enthalpy change ( $\Delta H$ ) value of different concentrations of liquid gelatin crude extract prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin

Gelatin (%) (g/ 100 ml.)	To (°C)	Tm (°C)	$\Delta H^{ns}$ (J/g)
6	20.42±0.03 <sup>a</sup>	20.82±0.01 <sup>b</sup>	0.0193±0.0053
12	20.48±0.07 <sup>a</sup>	20.83±0.04 <sup>b</sup>	0.0222±0.0023
20	20.57±0.02 <sup>b</sup>	20.93±0.05 <sup>a</sup>	0.0196±0.0029



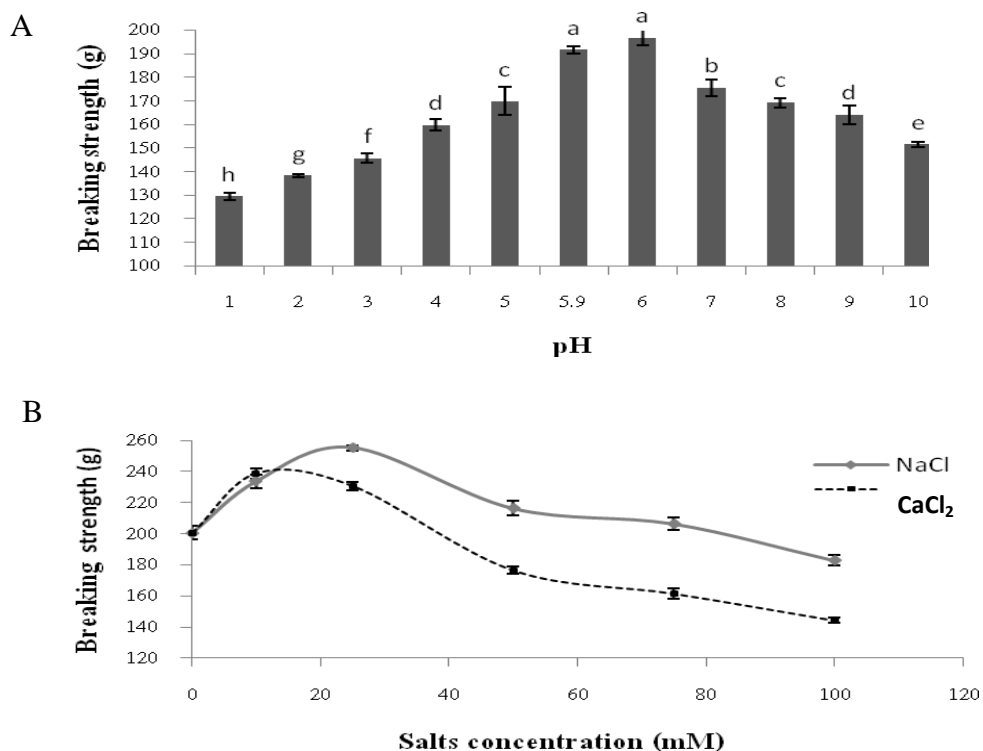
**Figure12.** DSC thermogram of different concentrations of liquid gelatin crude extract from skipjack tuna skin

### 3.5 ผลของค่ากรด-ด่างต่อค่าความแข็งของเจล (Breaking strength)

ภาพที่ 13A แสดงผลของค่ากรด-ด่างต่อค่า Breaking strength ของ LG เจล (เจลาตินร้อยละ 6) จากการศึกษาพบว่า ที่มีค่ากรด-ด่าง 5.9-6.0 มีค่า Breaking strength สูงสุด ซึ่งเป็น ค่ากรด-ด่างที่เข้าใกล้ จุด Isoelectric ทำให้ประจุของเจลาตินเกิดความสมดุลมากขึ้น และสามารถเกิดเจลที่แข็งแรง (Gudmunsson and Hafternsson, 1997) ที่ค่ากรด-ด่างในช่วง 1-5 ค่า Breaking strength จะลดลงอย่างรวดเร็ว เป็นผลมาจากการที่มีประจุบวกเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดแรงผลักกันระหว่างโมเลกุล จากการศึกษาของ Choi และ Regenstein (2000) รายงานว่าค่าความแข็งของเจล (Bloom strength) จากปลา และหมู มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อมีค่ากรด-ด่าง น้อยกว่า 4 และลดลงอย่างช้าๆ เมื่อมีค่ากรด-ด่าง มากกว่า 8 เนื่องจากความสมดุลของแรงดึงดูดทางไฟฟ้า (Electrostatic interaction) ในโครงสร้างของโปรตีนมีส่วนสำคัญในการเกิดโครงข่ายของโปรตีนเจล (Hall, 1996)

### 3.6 ผลของชนิดและปริมาณเกลือต่อค่าความแข็งเจล

ผลของชนิดและปริมาณเกลือต่อค่า Breaking strength ของ LG ในสภาวะที่มีประมาณ NaCl และ CaCl<sub>2</sub> แตกต่างกัน (ภาพที่ 13B) จากการศึกษพบว่า ค่า Breaking strength ของ LG จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณเกลือขึ้นเล็กน้อย (น้อยกว่า 25 และ 10 มิลลิโมลาร์ สำหรับ NaCl และ CaCl<sub>2</sub> ตามลำดับ) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ NaCl มากกว่า 25 มิลลิโมลาร์ และ CaCl<sub>2</sub> มากกว่า 10 มิลลิโมลาร์ ค่า Breaking strength จะลดลง ( $p < 0.05$ ) โดย LG ที่มีการเติม NaCl มีค่า Breaking strength สูงกว่า CaCl<sub>2</sub> ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้เกลือในปริมาณเล็กน้อยจะทำให้แรงผลักระหว่างโมเลกุลลดลง ส่งผลให้เกิดเจลได้ดีขึ้น แต่หากมีปริมาณเกลือสูงเกินไปจะทำให้เกิด Salting out effect (Finch *et al.*, 1974) ในปริมาณที่เท่ากัน Na<sup>+</sup> มี Binding affinity สูงกว่า Ca<sup>++</sup> (Foegeding, 1992 and Burbur, 1995) Na<sup>+</sup> จึงละลายน้ำและจับกับโมเลกุลโปรตีนได้ดี และจากผลการทดลองนี้ไม่แสดงการเกิด Crosslinking ระหว่างโมเลกุลโปรตีนกับ Ca<sup>++</sup> ส่งผลให้เจลที่เติม CaCl<sub>2</sub> มี Breaking strength ต่ำกว่า NaCl



**Figure13.** Breaking strength of liquid gelatin crude extract (LG, 6% gelatin; wb) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin in the pH range of 1-10 (A) and different concentrations of salts (B).

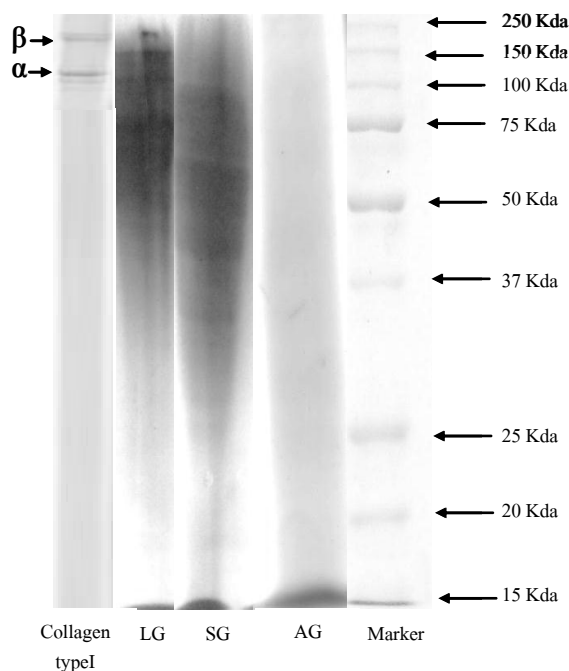
#### 4. สมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่าที่ผ่านการทำแห้ง

##### 4.1 องค์ประกอบเคมีของสกัดหยาบเจลาตินผง

องค์ประกอบเคมีของสารสกัดหยาบเจลาตินผง แสดงในตารางที่ 13 จากการศึกษาพบว่า สารสกัดเจลาตินผงที่ได้จากการทำแห้งทั้งวิธีอบแห้ง (AG) และการพ่นฝอย (SG) นั้นมีโปรตีนร้อยละ 85.6 ไขมัน ร้อยละ 1.4 และ เถ้า ร้อยละ 13.8 (น้ำหนักแห้ง) ได้ผลผลิตเจลาตินผง ร้อยละ 2.99 และ 2.53 กรัมผงต่อ 100 กรัมหนัง (น้ำหนักเปียก) ตามลำดับ หรือประมาณ ร้อยละ 6 ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณเจลาตินในสารสกัดจะขึ้นอยู่กับชนิดของปลา โดยปริมาณเจลาตินที่สกัดได้จากปลาโซล ปลาค็อด ปลาเฮก ทั้งชนิดสีแดงและดำ เมื่อคิดในปริมาณกรัมของเจลาติน ต่อ 100 กรัมหนัง (น้ำหนักแห้ง) มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 5-8 (Gomez-Guilla *et al.*, 2000)

##### 4.2 รูปแบบขนาดโมเลกุลโปรตีนของสารสกัดหยาบเจลาตินผง

รูปแบบขนาดโมเลกุลโปรตีน (Molecular weight profile) ของ LG จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี SDS-PAGE แสดงในภาพที่ 14 แถบโปรตีนมาตรฐานที่ใช้มีน้ำหนักโมเลกุล 1,500-250,000 ดาลตัน สำหรับแถบโปรตีนที่มีน้ำหนัก 200,000 และ 116,000 ดาลตัน เป็นแถบโปรตีนที่แสดงถึงสาย เบตา และ แอลฟา ตามลำดับ ซึ่งเป็นสายโปรตีนหลักในคอลลาเจน type I เมื่อเปรียบเทียบกับ Marker แถบโปรตีนของ LG แสดงแถบโปรตีนในตำแหน่งที่มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 20,000-200,000 ดาลตัน และ LG ยังแสดงลักษณะการกระจายของโมเลกุลโปรตีนในช่วงกว้าง ทั้งนี้ LG ไม่แสดงแถบโปรตีนในตำแหน่งแอลฟา I, แอลฟา II และ เบตา แสดงถึงการเปลี่ยนแปลง หรือ การเสียสภาพธรรมชาติของคอลลาเจนในหนังปลาทูน่าระหว่างการนึ่งด้วยไอน้ำ ก่อนสกัดเจลาติน (100°C, 30 นาที) นอกจากนี้ยังมีผลจากปัจจัยอื่น เช่น การย่อยสลายของคอลลาเจน ในระหว่างการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวแบบแช่เย็น (Monteron and Mackie, 1992) และเมื่อเปรียบเทียบรูปแบบโมเลกุลโปรตีนของ LG กับ เจลาตินผง (AG และ SG) ดังแสดงในภาพที่ 14 พบว่ารูปแบบขนาดโมเลกุลของ LG มีความเข้มข้นมากในช่วงโมเลกุลใหญ่ (มากกว่า 20,000 ดาลตัน) ในขณะที่ SG มีลักษณะการกระจายตัวของขนาดโมเลกุลโปรตีนในทำนองเดียวกับ LG แต่มีส่วนประกอบของโมเลกุลขนาดใหญ่น้อยกว่า (ภาพที่ 14) สำหรับ AG แถบโมเลกุลโปรตีนจะกระจายทั่วทั้ง well แสดงผลของการเกิด Hydrolysis และการเสียสภาพด้วยความร้อนของโมเลกุลโปรตีน



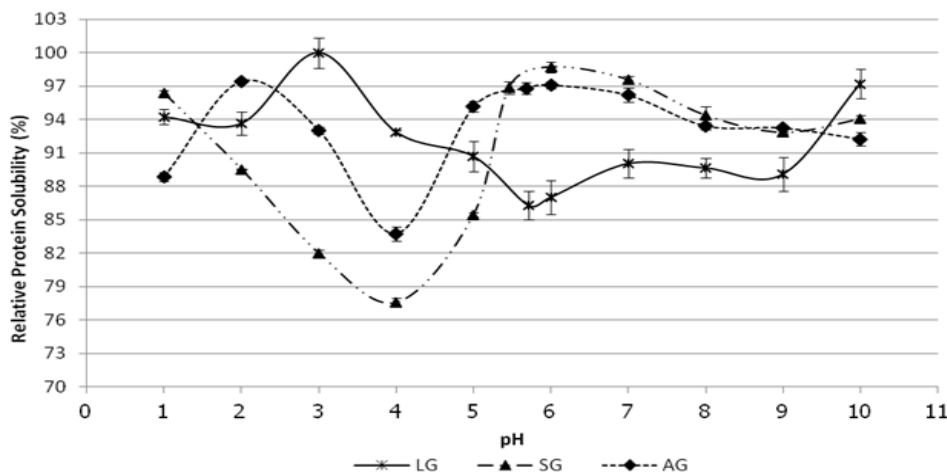
**Figure14.** SDS-PAGE pattern of liquid gelatin crude extracted spray dry gelatin crude extracted (SG) and air dry gelatin crude extracted (AG) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin

#### 4.3 ค่าการละลายของโปรตีนในสารสกัดหยาบเจลาตินผง

จากการศึกษาการละลายของโปรตีนในสารสกัดหยาบเจลาตินที่ผ่านการทำแห้ง (ภาพที่15; เส้นประ) พบว่าหลังผ่านกระบวนการทำแห้ง สารสกัดหยาบเจลาตินผงมีการละลายของโปรตีนแตกต่างจาก LG ซึ่งมีค่าการละลายสูงสุด และต่ำสุดที่ค่ากรด-ด่างเท่ากับ 3 และ 5.9 ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบเจลาตินผง (AG และ SG) มีค่าการละลายสูงสุดที่ค่ากรด-ด่างประมาณ 6 และมีค่าการละลายต่ำสุดที่ค่ากรด-ด่างเท่ากับ 4 เนื่องจากความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพ สำหรับที่ค่ากรด-ด่างในช่วง 6-9 การละลายของ LG และสารสกัดหยาบเจลาตินผง (AG และ SG) มีลักษณะใกล้เคียงกัน และเจลาตินผงทั้งสองแบบมีค่าการละลายสูงกว่า LG (ภาพที่15) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าประจุบนโปรตีนมีอิทธิพลต่อจุด Isoelectric ซึ่งคลาดเคลื่อนจาก 5.9 ไปสู่ 4 เมื่อผ่านการทำแห้ง อาจจะเป็นเนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการทำแห้งทำให้องค์ประกอบของกรดอะมิโนใน LG เกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งส่งผลต่อประจุสุทธิในสายโมเลกุลโปรตีน จากการศึกษาความคงตัวต่ออุณหภูมิของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในตะกอนก้นทะเล (Sea-floor sediment) ที่อุณหภูมิ 100, 120, และ 200<sup>o</sup>ซ พบว่า ความร้อนส่งผลให้สัดส่วนของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในตะกอนก้นทะเลเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยสัดส่วนของกรดอะมิโนกลุ่มที่มีสมบัติเป็นด่าง (ฮิสติดีน ไลซีน และอาร์จินีน) และเป็นกลาง (เช่น ไกลซีน อะลานีน วาลีน ) ลดลงตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น ส่วนกรดอะมิโนกลุ่มที่เป็นกรด โดยเฉพาะกรดกลูตามิก จะมีสัดส่วนเพิ่มขึ้น จากร้อยละ 7.5 เป็นร้อยละ 12 เมื่อได้รับอุณหภูมิ 120<sup>o</sup>ซ และจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 33 เมื่อได้รับอุณหภูมิ 200<sup>o</sup>ซ (Ito *et al.*,



2006) จากการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนกรดอะมิโนดังกล่าว อาจส่งผลให้ประจุสุทธิบนโมเลกุลโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป



**Figure15.**  
Effect of  
pH on  
protein  
solubility  
prepared  
from batch  
1 of

autumn precooked skipjack tuna skin

#### 4.4 Bulk density และ Flow ability ของสารสกัดหยาบเจลาตินผง

Bulk density และ Flow ability ของสารสกัดเจลาตินผง แสดงในตารางที่13 สารสกัดเจลาตินผงที่ผ่านการอบแห้ง (AG) มี Bulk density เท่ากับ  $714.78 \pm 15.25$  (กก.ต่อลบ.ม.) สูงกว่าแบบพ่นฝอย (SG) ( $315.78 \pm 34.18$ ; กก.ต่อลบ.ม.) ( $p < 0.05$ ) เช่นเดียวกับจากการศึกษาของ Rege และคณะ (2003) และ Vandruscola และคณะ (2009) รายงานว่า Bulk density ของเจลาตินผงที่ผ่านการอบแห้งแบบถาดและแบบสูญญากาศมีค่าสูงกว่าแบบพ่นฝอย เนื่องจากมีความหนาแน่นและการเกาะตัวกันของอนุภาคสูงกว่า สำหรับ Flow ability นั้นสารสกัดเจลาตินผงที่ผ่านการอบแห้งมีค่าเท่ากับ  $42.33 \pm 3.79$  (องศา) มีลักษณะการไหลดีกว่าการพ่นฝอย ( $51.33 \pm 3.06$  องศา) ( $p < 0.05$ ) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของ Carr (1965 and 1970) และ Raymus (1980) แต่แตกต่างจากการศึกษาของ Rege และคณะ (2003) รายงานว่าการการอบแห้งแบบถาดจะมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าการพ่นฝอย ขนาดอนุภาคของสารที่มีขนาดใหญ่กว่า 200 ไมครอนจะมีการไหลที่ดี ในขณะที่สารที่มีอนุภาคขนาดเล็กจะเกิดการเกาะติดกันทำให้การไหลเกิดได้ยากขึ้น (Teunou *et al.*, 1999) ในการศึกษาที่มีการเตรียมวัตถุดิบโดยการร่อน AG และ SG ด้วย Sieve ขนาด 40 และ 100 เมช ตามลำดับ SG จึงมีขนาดอนุภาคเล็กกว่า AG ทำให้ SG เกิดการเกาะติดสูงกว่า AG

#### 4.5 สีของสารสกัดหยาบเจลาตินเจล

ค่าสีของสารสกัดหยาบเจลาตินเจลที่เตรียมจาก สารสกัดหยาบเจลาตินเหลว (LG), สารสกัดหยาบเจลาตินผงที่ผ่านการอบแห้ง (AG) และสารสกัดหยาบเจลาตินผงที่ผ่านการพ่นฝอย (SG) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่13) โดยที่เจลจากสารสกัดหยาบเจลาตินมีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) เท่ากับ  $12.48 \pm 0.22$  ซึ่งเป็นค่าสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเจลาตินผงที่

ผ่านการอบแห้ง ( $9.14 \pm 0.44$ ) และสารสกัดหยาบเจลาตินผงที่ผ่านการพ่นฝอย ( $11.65 \pm 0.27$ ) ( $p < 0.05$ ) ในทางกลับกัน เจลจากสารสกัดหยาบเจลาตินผงที่ผ่านการอบแห้ง และพ่นฝอย มีค่า  $a^*$  ( $2.48 \pm 0.26$  และ  $1.88 \pm 0.38$ )  $b^*$  ( $10.75 \pm 0.20$  และ  $12.16 \pm 0.34$ ) สูงกว่า LG เจลจากสารสกัดหยาบเจลาตินผงมีสีเข้มกว่า LG สีน้ำตาลของเจลาตินผงนั้น เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด ของโปรตีน นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างการผลิตเจลาตินผงทั้ง 2 วิธี ( $p < 0.05$ ) โดยที่สารสกัดที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีความสว่าง ( $L^*$ ) มากกว่าสารสกัดที่ผ่านการอบแห้ง เนื่องจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะทำให้เกิดปฏิกิริยา สีน้ำตาลน้อยกว่าการอบแห้ง

**Table 13** Physical and chemical properties of gelatin crude extract prepared from batch 1 of November 2011 skipjack tuna skin

Parameters	gelatin crude extracts		
	Liquid gelatin crude extracts (LG)	Air-dried powder (AG)	Spray-dried powder (SG)
<i>Proximate analysis (g/100 g, dry basis)</i>			
protein*	85.01±1.56 <sup>a</sup>	85.66±0.57 <sup>a</sup>	85.46±0.80 <sup>a</sup>
lipid	1.81±0.39 <sup>a</sup>	1.38±0.15 <sup>a</sup>	1.26±0.14 <sup>a</sup>
ash	13.36±0.67 <sup>uv</sup>	13.65±0.46 <sup>uv</sup>	13.89±0.39 <sup>uv</sup>
<i>Chemical properties</i>			
Gelatin content			
- on dry basis	59.62±3.63 <sup>b</sup>	49.08±1.72 <sup>a</sup>	49.36±1.55 <sup>a</sup>
- on protein basis	70.13±4.27 <sup>b</sup>	57.30±2.35 <sup>a</sup>	57.76±2.05 <sup>a</sup>
Total salt (g/100 g, dry basis)	14.03±1.85 <sup>a</sup>	13.46±0.27 <sup>a</sup>	13.54±0.30 <sup>a</sup>
<i>Physical properties</i>			
Flowability (degree angle of repose)	-	42.33±3.79 <sup>a</sup>	51.33±3.06 <sup>b</sup>
Bulk density (kg/m <sup>3</sup> )	-	714.78±15.25 <sup>b</sup>	315.78±34.18 <sup>a</sup>
Bloom strength (g)	115.50±1.03 <sup>a</sup>	102.07±3.88 <sup>a</sup>	95.07±2.86 <sup>a</sup>
Color of gel	Mild-yellow	Dark-yellow	Light-yellow
- L*	12.48±0.22 <sup>c</sup>	9.41±0.44 <sup>a</sup>	11.65±0.27 <sup>b</sup>
- a*	0.41±0.22 <sup>a</sup>	2.48±0.26 <sup>c</sup>	1.88±0.38 <sup>b</sup>
- b*	10.77±0.18 <sup>a</sup>	10.75±0.20 <sup>a</sup>	12.16±0.34 <sup>c</sup>

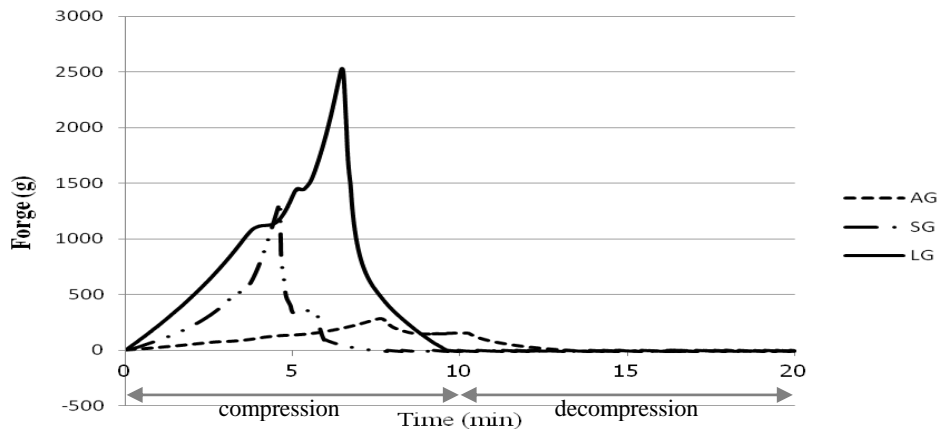
Note: \*N x 6.25 Values were given as mean±standard deviation. Values in the same row followed by different letters are significantly different (P<0.05).

#### 4.6 ค่าความแข็งแรงของสารสกัดหยาบเจลาตินผง

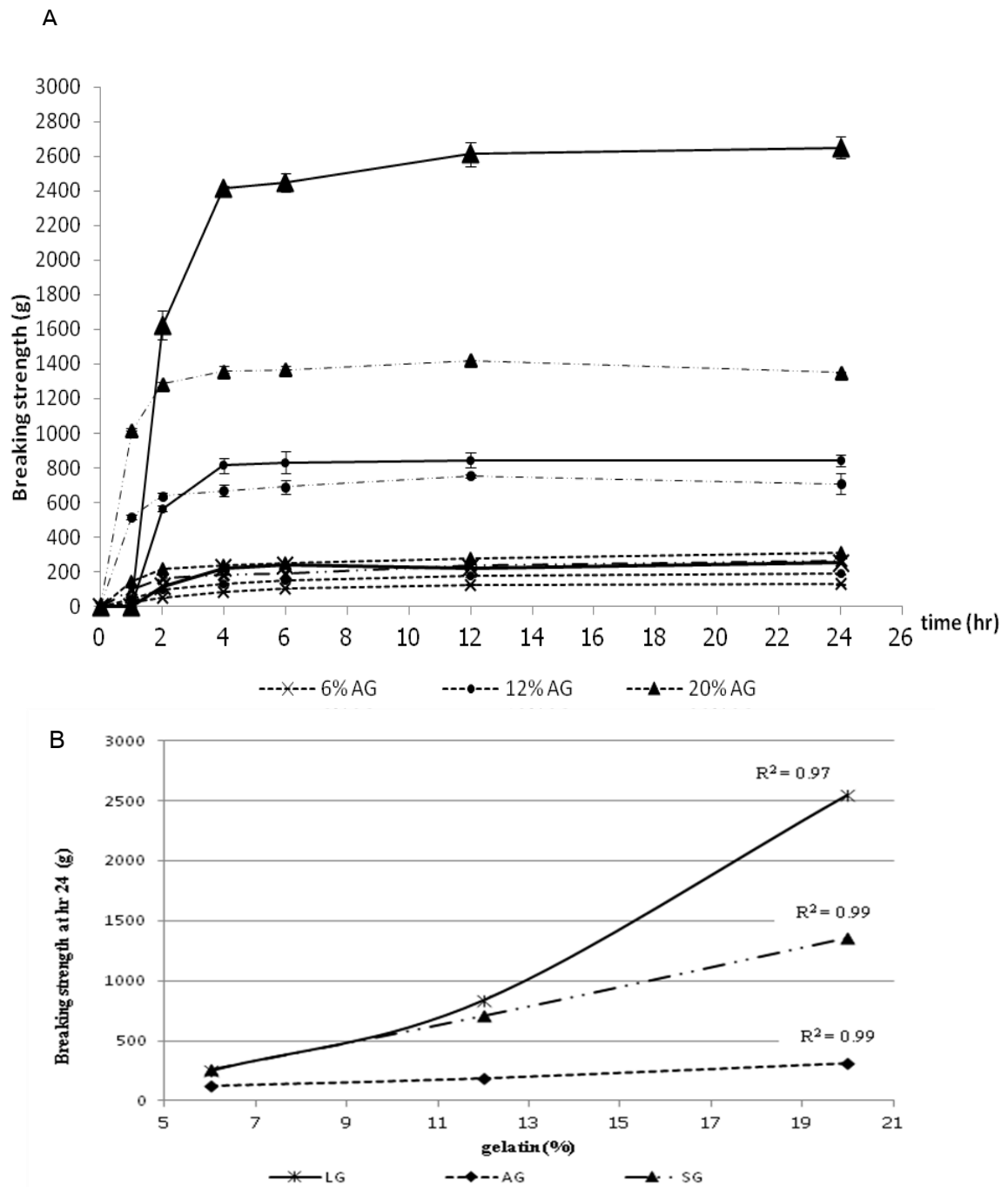
การเกิดเจลเป็นหนึ่งในสมบัติที่สำคัญของเจลาติน ในการวัดคุณภาพของเจล โดยทั่วไปจะใช้ค่า Bloom value เป็นค่ามาตรฐานอุตสาหกรรม จากการศึกษาค่า Bloom strength ของ LG, AG และ SG มีค่าเท่ากับ 115.50, 102.07 และ 95.70 (ความเข้มข้นของ เจลาตินร้อยละ 6.67) ตามลำดับ (ตารางที่13) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \geq 0.05$ ) อย่างไรก็ตาม ค่า Bloom ของตัวอย่างทั้งสามชนิดนี้มีค่าลดลงเมื่อผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย และการอบแห้งด้วยลมร้อน ตามลำดับ การเสถียรภาพของเจลาตินเนื่องจากความร้อนในการทำแห้ง SG และ AG อาจส่งผลให้เจลินีมล่ง ทำให้วัดค่า Bloom ได้น้อยลง จากการรายงานค่า Bloom ของเจลาตินจากปลาหลายชนิด เช่น ปลาทูน่าครีบน้ำเงิน (426 กรัม) (Cho *et al.*, 2005) ปลาแซลมอน (180 กรัม) (Arneso and Gildberg, 2007) ปลาค็อด (90 กรัม) (Gomez-Guillen *et al.*, 2002) ปลาแมว (252 กรัม) (Yang *et al.*, 2007) โดยที่การเปลี่ยนแปลงความแข็งแรงของเจล ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น องค์ประกอบของกรดอะมิโน โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณกรด อิมิโน (โพรลีน และ "ฮดรอกซีโพรลีน) ความเข้มข้นของเจลาติน และขนาดโมเลกุลโปรตีนในเจลาติน (Muyonga *et al.*, 2004; (Gomez-Guillen *et al.*, 2002)

การศึกษาลักษณะเจลของ LG และสารสกัดหยาบเจลาตินผง (AG และ SG) แสดงในภาพที่ 16 ลักษณะโพรไฟล์แสดงการเปลี่ยนแปลงของของแรงกดบนเจลที่อุณหภูมิ 4 °ซ ซึ่งจะให้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับโครงสร้างธรรมชาติของเจล จากการศึกษพบว่า LG มีค่าแรงในการกดเจลสูงสุด แต่มีระยะเวลาการแตกหักของเจลต่ำกว่าเจลจาก AG ส่วน SG นั้นมีเวลาการแตกของเจลิน้อยที่สุด และจากผลของความเข้มข้นของเจลาตินและระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดเจลต่อค่า Breaking strength ของสารสกัดหยาบเจลาตินผง (SG และ AG) และ LG แสดงในภาพที่ 17 พบว่าค่า Breaking strength เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องใน 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นค่า Breaking strength จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง และที่ระดับความเข้มข้นของเจลาตินเท่ากัน LG จะมี ค่า Breaking strength สูงสุด ตามด้วย SG และ AG ตามลำดับ ใน ชมการบ่มเจลที่ 24 แสดงค่าความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงระหว่าง ค่า Breaking strength กับ ความเข้มข้นของเจลาติน ค่า Breaking strength จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเจลาติน ( $p < 0.05$ ) เรียงลำดับจาก LG มากกว่า SG และมากกว่า AG ที่ระยะเวลาการเกิดเจล 24 ชม. ความเข้มข้นของเจลาตินร้อยละ 6, 12 และ 20 LG จะมีค่า Breaking strength เพิ่มขึ้นจากประมาณ 250 ถึง 2500 กรัม SG จะมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 250 ถึง 1400 กรัม และ AG จะเพิ่มขึ้นจากประมาณ 150 ถึง 300 กรัม (ภาพ 17A) แสดงให้เห็นว่า SG และ AG เกิดเจลที่อ่อนกว่า LG อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากสมบัติทางเคมี-กายภาพก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างเจล ทำให้เกิดเจลินีมล่ง การเสถียรภาพของเจลาตินเนื่องจากความร้อน ซึ่งคาดว่าจะมีความรุนแรงมากขึ้นเมื่อผ่านการอบแห้งด้วยลมร้อน และมีขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่ส่งผลต่อการคั่นตัวของสารสกัด ผงในสารละลายไม่สมบูรณ์ ทำให้การเกิด Fringe micelle (Helical) ลดลง ในกรณีของ SG ที่ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 12 ค่า Breaking strength ของเจล มีความคล้ายคลึงกับเจลของ LG แต่หากความเข้มข้นสูงขึ้น ค่า Breaking strength จะลดลง (ภาพ 17B) ซึ่งอาจจะเกิดจากการคั่นตัวไม่

สมบรูณ์ในขณะที่ละลายสารสกัดผง โดยอัตราการเพิ่มขึ้นของ ค่า Breaking strength จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น ( $p < 0.05$ ) เรียงลำดับจาก LG มากกว่า SG และมากกว่า AG (ภาพ 17B)



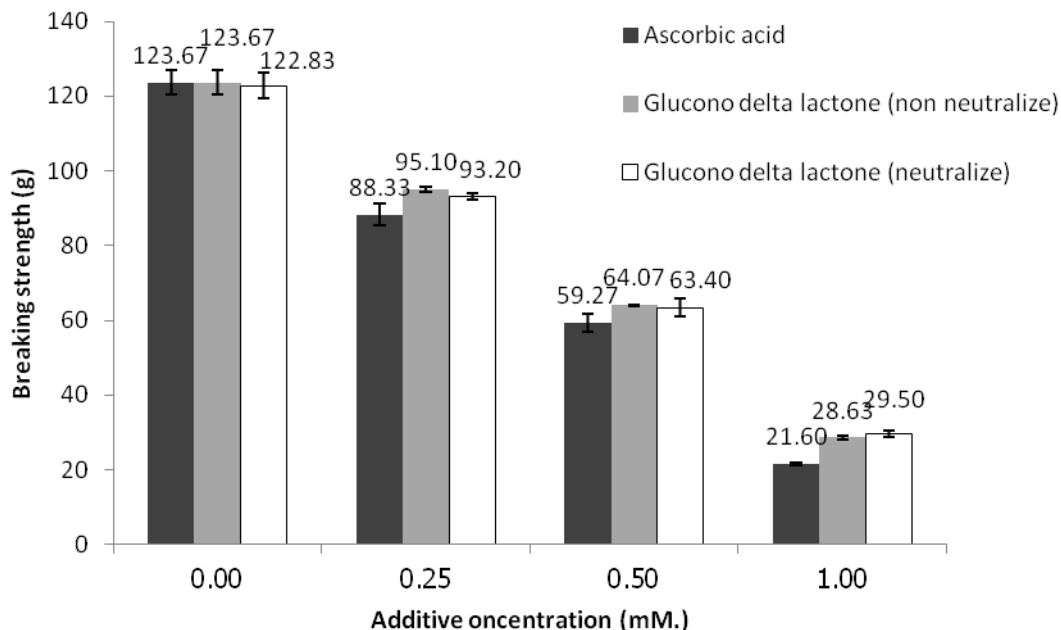
**Figure 16.** Texture profile of skipjack tuna skin gelatins at 20% concentration liquid crude extract (LG, pH 5.9), air-dried (AG, pH 6) and spray-dried (SG pH 6) and gelling temperature at 4°C



**Figure17.** (A) Effects of gelling time and concentrations on gel strength of liquid crude extract (LG, 6% gelatin; wb, pH 5.9), air-dried (AG, pH 6) and spray-dried (SG, pH 6) (B) The relationship between gel strength and concentrations of LG, AG and SG, at 4°C

## 5. ผลของการใช้สารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจลในสารสกัดหยาบเจลาตินจาก ห นั ง ปลาหูน้ำต่อค่าความแข็งแรง

ศึกษาผลของสารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล 2 ชนิดคือ Glucono delta lactone และ Ascorbic acid ที่ความเข้มข้น (0, 0.25, 0.5 และ 1.0 มล.โมลาร์) พบว่า การเติม Glucono delta lactone และ Ascorbic acid ใน LG ที่ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6 ส่งผลให้ค่า Breaking strength ลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ( $p < 0.05$ ) จาก 123.67 กรัม (ไม่มีสารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล) เป็น 28.63 และ 21.6 กรัม (Glucono delta lactone และ Ascorbic acid ความเข้มข้น 1.0 มล.โมลาร์ ตามลำดับ) (ภาพที่ 18) โดยการเติม Glucono delta lactone จะมีการลดลงของค่า Breaking strength น้อยกว่า Ascorbic acid ( $p < 0.05$ ) อาจจะเป็นเนื่องจากสารทั้ง 2 ชนิดเป็นสารที่แสดงความเป็นกรดเมื่ออยู่ในสารละลาย จึงทำให้สารสกัดหยาบเจลาตินมีการเปลี่ยนแปลงของกรด-ด่างให้ลดลง ทำให้มีค่าการละลายของโปรตีนสูงขึ้น การเกิดเจลจึงลดลง และเมื่อนำตัวอย่างที่เติม Glucono delta lactone (Non neutralize, pH 4-5) มาปรับค่ากรด-ด่างให้เท่ากับค่ากรด-ด่างเริ่มต้น (Neutralize, pH 5.9) พบว่า ค่า Breaking strength ไม่แตกต่างจากการไม่ปรับค่ากรด-ด่าง ( $p < 0.05$ ) การใช้กรดเพื่อชักนำให้เกิดเจลนั้นจะส่งผลต่อ อันตรกิริยาทางไฟฟ้า (Electrostatic interaction) ของเจล เนื่องจากกรดจะลดแรงผลักระหว่างโมเลกุลของโปรตีน Glucono delta lactone เมื่อไฮโดรไลซ์ด้วยความร้อนจะเปลี่ยนเป็น กรดกลูโคนิกอย่างช้าๆ (Totosaus *et al.*, 2002) ทำให้ค่ากรด-ด่างของเจล เป็นกรดมากขึ้น ไกลจากจุด Isoelectric (pI) มากขึ้น (ละลายน้ำสูงขึ้น) แต่จากค่าการละลายของโปรตีนใน LG (ภาพที่ 15) LG ที่ไม่ปรับค่ากรด-ด่างมีค่าเท่ากับ 5.9 (ละลายต่ำสุด) ดังนั้นการใช้สารที่แสดงสมบัติเป็นกรดในสารละลายจึงทำให้ค่ากรด-ด่างของ LG ห่างจาก จุด Isoelectric มากขึ้นส่งผลให้เกิดการละลายสูงขึ้นและการเกิดเจลลดลง นอกจากนี้ Ascorbic acid สามารถชักนำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์ของกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เช่น ซีสเตอีน (cysteine) และ เมทไธโอนีน (Methionene) ส่งผลให้เจลจากโปรตีนมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น (Grosch, 1986) เนื่องจาก LG มี เมทไธโอนีน เป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณน้อย (ร้อยละ 3.59) และไม่พบซีสเตอีนใน LG จึงทำให้ Ascorbic acid ไม่สามารถชักนำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มขึ้น



**Figure18.** Effect of additives on breaking strength at 4°C of liquid gelatin crude extract (LG, 6% gelatin; wb, pH 5.9) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin

## 6. ผลของการ Annealing ต่อค่าความแข็งของสารสกัดหยาดเจลาตินเจล

ศึกษาผลของการ Annealing LG ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6 มีค่ากรด-ด่างแตกต่างกัน ต่อค่า Breaking strength แสดงผลการศึกษาในตารางที่ 14 โดย 4°C คือ การบ่มเจลที่อุณหภูมิ 4°C นาน 44 ชม. เพียงขั้นตอนเดียว และ 4-10°C คือ การ Annealing โดยบ่มเจลที่อุณหภูมิ 4°C นาน 24 ชม. แล้ว Annealing เจลที่อุณหภูมิ 10°C (ต่ำกว่า Onset melting temperature (To) 10°C) นาน 10 ชม. แล้วนำเจลกลับไปบ่มอีกครั้งที่อุณหภูมิ 4°C ระยะเวลา 10 ชม. พบว่าอุณหภูมิการเกิดเจลที่อุณหภูมิ 4°C เพียงขั้นตอนเดียวนั้น LG สามารถเกิดเจลได้ในทุกระดับค่ากรด-ด่าง โดยมีค่า Breaking strength สูงสุด (125.67 กรัม) ที่ค่ากรด-ด่าง เท่ากับ 6 ( $p < 0.05$ ) มีค่าไม่แตกต่างจากการไม่ปรับค่ากรด-ด่าง (ค่ากรด-ด่าง 5.9) และมีค่าต่ำสุดที่ค่ากรด-ด่างเท่ากับ 1 (29.53 กรัม) ( $p < 0.05$ ) ค่ากรด-ด่างที่อยู่ในช่วงความเป็นด่างจะมีค่า Breaking strength สูงกว่ากรด ให้ผลที่มีแนวโน้มใกล้เคียงกับการใช้วิธี Annealing มีค่า Breaking strength สูงสุด (51.63 กรัม) ที่ค่ากรด-ด่างเท่ากับ 6 และที่ค่ากรด-ด่างเท่ากับ 1-3 ไม่สามารถวัดค่า Breaking strength ของเจลได้ แต่การใช้วิธีนี้จะมีค่า Breaking strength ต่ำกว่าการบ่มเจลที่อุณหภูมิ 4°C เพียงขั้นตอนเดียว Annealing คือการบ่มสารพอลิเมอร์ภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า Onset melting temperature (To) (Jacob and Delcour, 1998) หลังจากผ่าน Annealing แล้วโครงสร้างของ พอลิเมอร์จะเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้บางส่วนเกิดโครงสร้างที่เป็นผลึก (กล้านรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2546) Annealing มีผลทำให้ค่า To และ Tm สูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจาก Annealing ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในชั้นผลึก ภายในชั้นผลึกอาจมีการจัดเรียงตัวกันใหม่ของพันธะไฮโดรเจนภายใน



เกลียวคู่ขึ้น (Yost and Hose-ney, 1986; Stute, 1992 and Jacobs *et al.*, 1998) ในการศึกษาที่ Annealing เจล ที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $T_0$  อยู่  $10^{\circ}\text{C}$  ( $T_0-10$ ) ไม่สามารถช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจลได้อาจจะเนื่องมาจากเกลียวที่มีในระบบมีปริมาณสูงจนถึงจุดอิ่มตัว (อัตราส่วนของเกลียวต่อน้ำมากกว่า 1:18) (Chinachoti, 1985) ที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  การละลายของเกลียวดีกว่าที่  $4^{\circ}\text{C}$  เกลียวจึงแย่งจับน้ำกับโปรตีน การละลายของโปรตีนจึงลดลง (Dehydrate) เนื่องจากโปรตีนไม่เกิดการคลายสาย จึงส่งผลให้เกิดพันธะไฮโดรเจนลดลง การเกิดเจลจึงลดลง ค่าความแข็งแรงของเจลที่อุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  จึงต่ำกว่าที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  นอกจากนี้ที่ค่ากรด-ด่างต่ำกว่า 7 จะมีค่าความแข็งแรงของเจลต่ำกว่าที่สูงกว่า 7 อาจจะเนื่องมาจากสายโมเลกุลโปรตีนใน LG มีความเป็นประจุบวกสูงจึงเกิดแรงดึงดูดระหว่างประจุทำให้โมเลกุลโปรตีนเข้าใกล้กันได้ดีเมื่อค่ากรด-ด่างสูง จึงเกิดเจลได้ดีกว่าที่ค่ากรด-ด่างต่ำ (น้อยกว่า 4) ให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษา Annealing เจลาตินที่ผลิตจากหนังวัว ศึกษาโดย Dranca และ Vyazovkin, (2009) โดยใช้ขั้นตอนการ Anneal แตกต่างกันคือ การบ่มเจลอุณหภูมิระดับเดียว คือ 15 หรือ  $25^{\circ}\text{C}$  นาน 2 ชั่วโมง การบ่มเจลที่อุณหภูมิสองระดับ คือ  $25^{\circ}\text{C}$  นาน 30 นาที แล้วบ่มที่อุณหภูมิ  $15^{\circ}\text{C}$  นาน 2 ชั่วโมง และการบ่มเจลที่อุณหภูมิสามระดับ คือ  $27^{\circ}\text{C}$  และ  $20^{\circ}\text{C}$  ขั้นตอนละ 30 นาที แล้วบ่มที่อุณหภูมิ  $13^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า การ Anneal จะเพิ่มอุณหภูมิการหลอมเหลวของเจล การบ่มเจลที่อุณหภูมิ  $15^{\circ}\text{C}$  เพียงขั้นตอนเดียว จะมีอุณหภูมิการหลอมเหลวของเจลสูงที่สุด ( $35.7^{\circ}\text{C}$ ) ซึ่งไม่แตกต่างจากการ Annealing สองขั้นตอน (25-15) และสูงกว่าที่อุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  เพียงขั้นตอนเดียว ( $30.2^{\circ}\text{C}$ ) สำหรับการบ่มเจลที่อุณหภูมิ สามระดับ (27-20-13) มีอุณหภูมิการหลอมเหลวของเจลด้อยที่สุด

**Table 14** Effect of pH and temperature step on breaking strength of liquid gelatin crude extract (LG, 6% gelatin; wb) prepared from batch 1 of autumn precooked skipjack tuna skin

pH	Breaking strength (g)	
	4°C	4-10°C
1	29.53±1.53 <sup>h</sup>	0.00±0.00 <sup>G</sup>
2	38.33±0.76 <sup>g</sup>	0.00±0.00 <sup>G</sup>
3	45.73±1.96 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>G</sup>
4	95.87±2.57 <sup>d</sup>	22.03±2.5 <sup>F</sup>
5	107.00±6.09 <sup>c</sup>	33.53±2.9 <sup>E</sup>
5.9	125.67±1.46 <sup>a</sup>	48.17±0.76 <sup>B</sup>
6	128.23±3.25 <sup>a</sup>	51.63±2.70 <sup>A</sup>
7	115.60±3.65 <sup>b</sup>	46.50±2.18 <sup>C</sup>
8	97.27±1.94 <sup>c</sup>	45.00±2.93 <sup>C</sup>
9	74.00±3.93 <sup>d</sup>	45.17±3.12 <sup>C</sup>
10	41.60±1.23 <sup>e</sup>	38.07±0.70 <sup>D</sup>

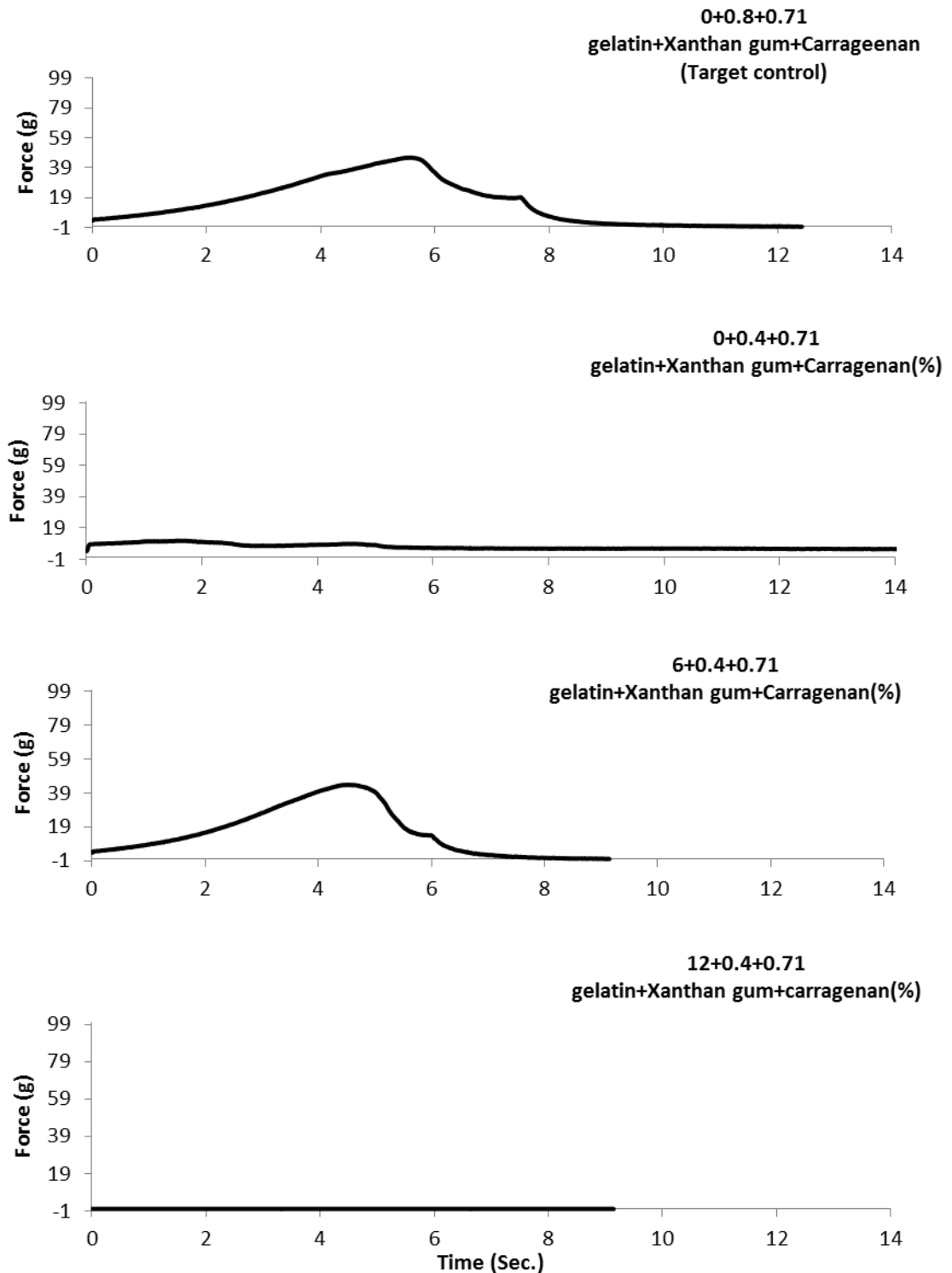
Note: 4-10°C setting condition is incubate at 4°C for 24 hr, then at 10°C for 10 hr and cool to 4°C for 10 hr

## 7. ผลของการใช้สารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่าทดแทนสารที่ทำให้เกิดเจลทางการค้าในผลิตภัณฑ์อาหารแมวแบบเปียก

### 7.1 สมบัติของเจลจากสารสกัดหยาบเจลาตินที่ผสมแซนแทนกัมและ คาร์ราจีแนน

การผลิตอาหารแมวแบบเปียกมักจะผสมสารที่ทำให้เกิดเจลเพื่อเพิ่มความหนืดให้แก่ผลิตภัณฑ์ เมื่อผ่านการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์จะถูกทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมินี้จะทำให้เกิดการเซ็ตตัวของสารก่อเจล สารที่ใช้ในการเกิดเจลสำหรับผลิตภัณฑ์นี้คือ แซนแทนกัม และคาร์ราจีแนน ในสัดส่วนร้อยละ 0.8 และ 0.71 ตามลำดับ ระบบเจลนี้มีความแข็งของเจล (Breaking strength) เท่ากับ 55.4 กรัม และมีระยะเวลาการก่อกำเนิด 5.5 วินาที สำหรับส่วนผสมที่มีแซนแทนกัมหรือ คาร์ราจีแนน เพียงชนิดเดียวจะไม่เกิดเจลในสภาวะดังกล่าว แต่จะเกิดเจลได้ในระบบผสม จากการศึกษาผลของการเติมสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่า (LG) ในระบบเจลที่ผสมแซนแทนกัม และ คาร์ราจีแนน (ร้อยละ 0.4+0.71) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ และระยะเวลา เท่ากับ F0 ของผลิตภัณฑ์ แล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม. พบว่าระบบเจลที่มีแซนแทนกัมและคาร์ราจีแนน (ร้อยละ 0.4+0.71) โดยไม่มี LG มีค่าแรงกดต่ำมาก (ประมาณ 5-10 กรัม) แสดงถึงลักษณะเจลที่อ่อนมาก และเมื่อมี LG (เจลาตินร้อยละ 6) เจล ดังกล่าว มีความแข็งแรงขึ้น โดยมีค่าแรงสูงสุดประมาณ 40 กรัม ระยะเวลาการก่อกำเนิดที่ 4.5 วินาที (ภาพที่ 19) แสดงให้เห็นว่าการ

ผสม LG ในระบบเจลนี้สามารถเพิ่มความแข็งของเจลได้ แต่เมื่อผสม LG ที่มีเจลาตินร้อยละ 12 และ 20 จะไม่สามารถช่วยเพิ่มความแข็งของเจลได้ และยังไม่เกิดเจลขึ้นอีกด้วย

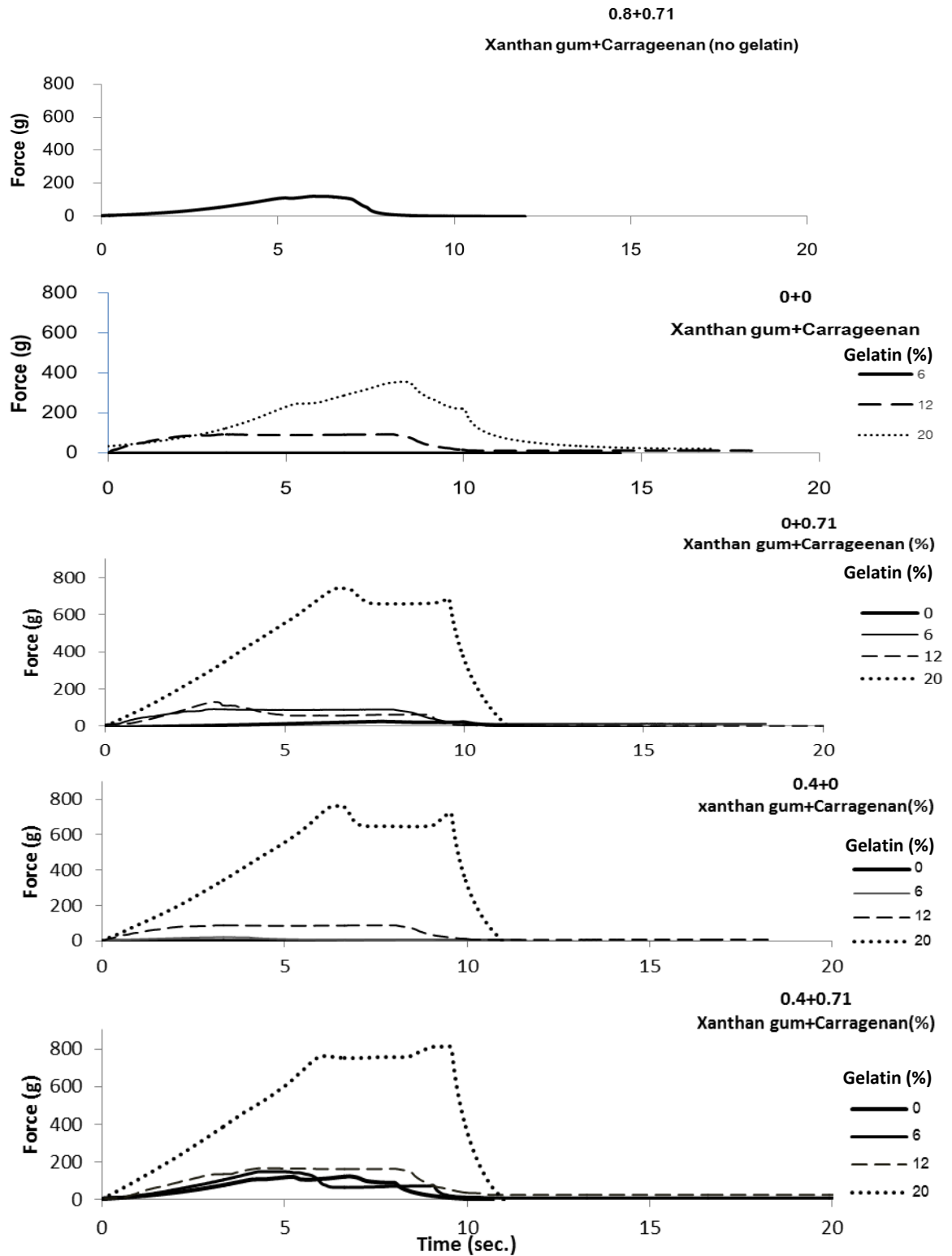


**Figure19.** Texture profile of mixed gel from 0.4% xanthan gum, 0.71% carrageenan and different concentrations of gelatin with gelling temperature at room temperature

การศึกษาการเกิดเจลระบบผสมดังกล่าวที่อุณหภูมิ 4°C โดยมีแซนแทนกัม และคาร์ราจีแนน ร้อยละ 0+0, 0+0.71, 0.4+0 และ 0.4+0.71 ตามลำดับ และในแต่ละระบบมีการเติม LG ที่มีความเข้มข้นของเจลาติน ร้อยละ 0, 6, 12 และ 20 โดยแสดงค่าความแข็งของเจลที่เวลาการตก

แตกต่างกัน ดังภาพที่ 20 พบว่าใน LG เจล (ไม่มีแซนแทนกัม และ/หรือ คาร์ราจีแนน) ที่ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6 ไม่สามารถวัดค่าแรงกดได้ นั่นคือไม่มีการเกิดเจลขึ้น ส่วนเจลาตินร้อยละ 12 และ 20 มีค่าแรงกดสูงสุดประมาณ 85 และ 370 กรัม ตามลำดับ โดยทั้งสองความเข้มข้น มีระยะเวลาการกดถึงจุดสูงสุดใกล้เคียงกันคือประมาณ 8 วินาที ส่วนระบบเจลที่มีคาร์ราจีแนนร้อยละ 0.71 หากมีเฉพาะคาร์ราจีแนนเพียงอย่างเดียวจะเกิดเจลอ่อนมาก (ค่าแรงกดสูงสุดประมาณ 20 กรัม) และเมื่อผสม LG ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 20 จะมีค่าแรงกดสูง (ประมาณ 750 กรัม) รองลงมาคือเจลาตินร้อยละ 12 และ 6 (ประมาณ 130 และ 90 กรัม) ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 มีระยะเวลาที่กดถึงจุดสูงสุดประมาณ 6.5 วินาที ส่วนที่ความเข้มข้นร้อยละ 12 และ 6 มีระยะเวลาที่กดถึงจุดสูงสุดใกล้เคียงกันคือประมาณ 5 วินาที สำหรับระบบเจลที่มีแซนแทนกัมร้อยละ 0.4 เพียงอย่างเดียวให้ผลที่มีแนวโน้มเช่นเดียวกัน แต่มีค่าแรงกดต่ำกว่าเจลที่มีเฉพาะคาร์ราจีแนน และเมื่อผสมแซนแทนกัมร่วมกับคาร์ราจีแนน พบว่าการเพิ่ม LG ทั้ง 3 ความเข้มข้น จะส่งผลให้ค่าแรงกดเพิ่มขึ้น โดย LG ความเข้มข้น เจลาตินร้อยละ 20 มีค่าแรงกดของเจลสูงสุด (ประมาณ 800 กรัม) และมีระยะเวลาการกดสูงสุดใกล้เคียงกับระบบเจลที่มีเฉพาะแซนแทนกัม หรือ คาร์ราจีแนน ส่วนที่ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 0, 6 และ 12 นั้นมีค่าแรงกดเท่ากับ 125, 145 และ 160 ตามลำดับ มีระยะเวลาการกดถึงจุดสูงสุด 6.5, 5 และ 8 วินาที

จากภาพโพรไฟล์จะเห็นได้ว่าเจลที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะ LG ที่มีความเข้มข้นของเจลาตินร้อยละ 20 (ภาพที่ 16) แสดงลักษณะของกราฟที่มียอด 2-3 ยอด คือมีค่า Breaking strength 2-3 ค่า เนื่องจากเจลอาจจะเกิดการแยกเฟสภายในโครงสร้างของเจล ทำให้เกิดความไม่เป็นเนื้อเดียวกัน เรียกว่า Heterogeneous (ความหลากหลาย) ของเจล ซึ่งอาจจะเกิดมาจากการปฏิสัมพันธ์ของโมเลกุลหลายชนิดในระบบเจลผสมนี้ เช่น การเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลเจลาตินและคาร์ราจีแนน เป็นการเกิดอันตรกิริยาดึงดูดทางไฟฟ้า (Electrostatic interaction) เช่นเดียวกับการเกิดอันตรกิริยาของเจลาตินกับแซนแทนกัม ส่วนโมเลกุลเจลาตินกับเจลาติน นั้นเกิดพันธะไฮโดรเจน ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อการเกิดโครงข่ายที่ต่อเนื่อง ทำให้เจลมีความเสถียร (Michon *et al.*, 1996)

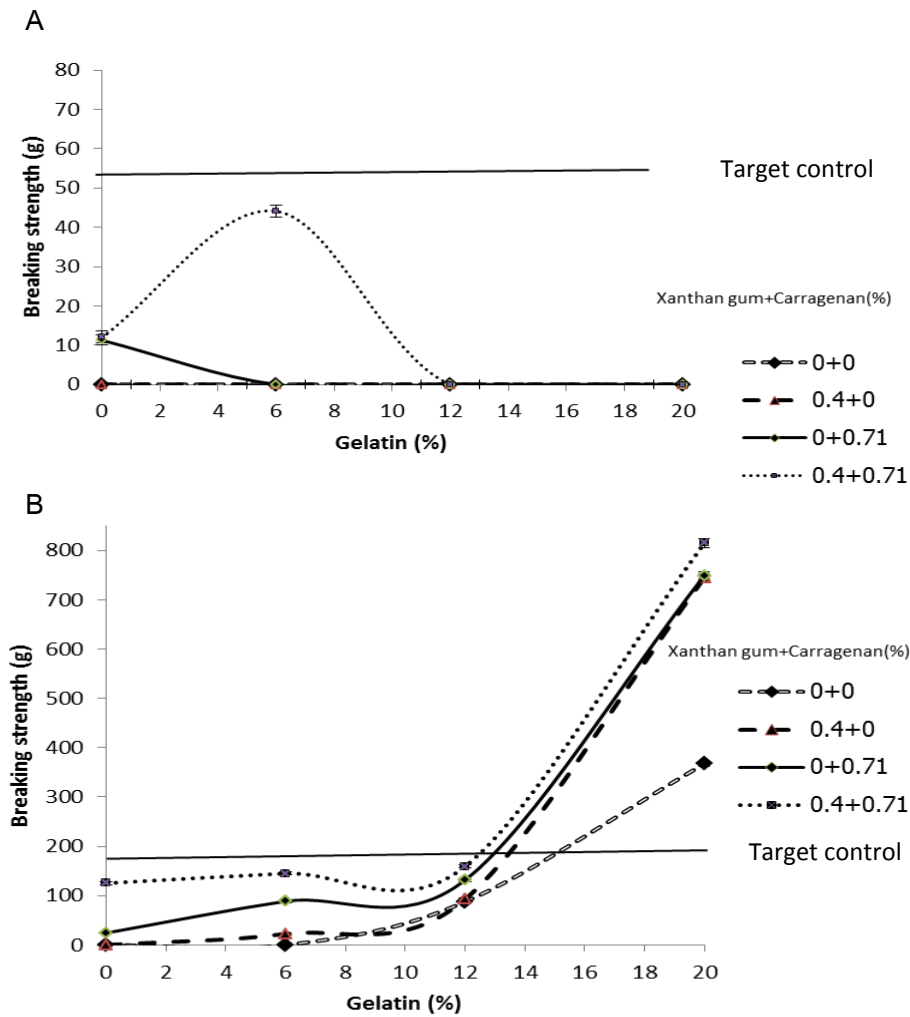


**Fig20.** Texture profile of mixed gel xanthan gum, carrageenan and different concentrations of gelatin with gelling temperature at 4°C

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแข็งของเจลกับความเข้มข้นของเจลาติน แซนแทนกัม และ คาร์ราจีแนน ที่อุณหภูมิห้อง แสดงในภาพที่ 21A เจลแซนแทนกัมผสมคาร์ราจีแนน และเจลที่มี

เฉพาะคาร์ราจีแนนร้อยละ 0.71 เพียงอย่างเดียว มีค่า Breaking strength ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อผสม LG ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6 เจลที่ได้มีค่า Breaking strength สูงสุด และเมื่อความเข้มข้นของเจลาตินเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 12 และ 20 จะไม่เกิดเจลที่อุณหภูมิห้อง ทั้งนี้ปริมาณเกลือในระบบเจลมีความสำคัญ เนื่องจากแคลป์ลา-คาร์ราจีแนนจำเป็นต้องมีเกลือที่มีไอออนประจุบวก (แคตไอออน) เช่น ไอออนโพแทสเซียม ( $K^+$ ) หรือไอออนแคลเซียม ( $Ca^{++}$ ) เพื่อลบผลของประจุลบบนสายโซ่ ทำให้สายโมเลกุลเข้าใกล้กัน และเกิดการพันเกลียว โดยแคลป์ลา-คาร์ราจีแนน ให้เจลที่มีความแข็งแรงของเจล (Gel strength) สูงถ้ามี  $K^+$  ส่วน ไอออนดา-คาร์ราจีแนน จะเกิดเจลได้ดีถ้ามีไอออน  $Ca^{++}$  การมีไอออนประจุบวกในระบบทำให้การรวมตัวระหว่างเกลียวคู่เกิดขึ้นได้ดี ส่งเสริมให้เกิดโครงข่ายสามมิติในโครงสร้างเจล (วรรณดา ตูลยธัญ, 2549) ในระบบเจลของคาร์ราจีแนนควรมีเกลือไม่เกิน 0.2 โมลาร์ เพราะปริมาณเกลือที่สูงเกินไปก็จะทำให้เกิด Salting-out effect (Haung *et al.*, 2003) ส่งผลให้ค่าความแข็ง และอุณหภูมิหลอมเหลวของเจลลดลง ทั้งนี้อาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เจลที่ผสม LG ที่มี เจลาตินร้อยละ 12 และ 20 ไม่เกิดเจลที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากมีเกลือละลายอยู่ประมาณ 0.3 และ 0.5 โมลาร์ ตามลำดับ

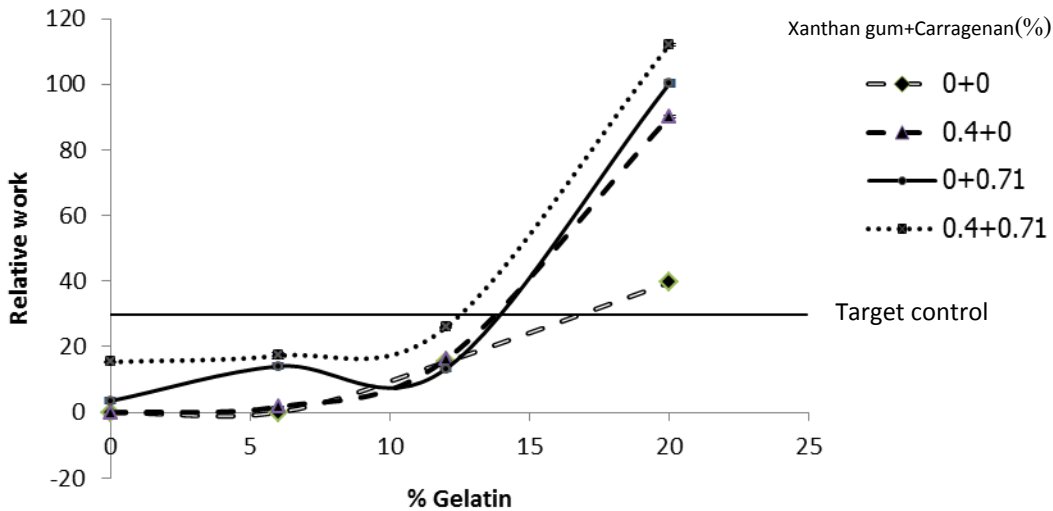
การศึกษาการเกิดเจลดังกล่าวที่อุณหภูมิ 4°C จากภาพที่ 21B แสดงให้เห็นว่า ระบบเจลที่มีเฉพาะ LG มีค่า Breaking strength ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเจลที่ผสมแซนแทนกัม และ/หรือคาร์ราจีแนน ส่วนเจลแซนแทนกัมผสมคาร์ราจีแนน (ร้อยละ 0.4+0.71) มีค่า Breaking strength สูงสุด และสูงกว่าเจลที่มี แซนแทนกัม หรือ คาร์ราจีแนน เพียงอย่างเดียว ซึ่งเจลดังกล่าว มีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อมีเจลาตินร้อยละ 20 ( $p < 0.05$ ) ค่า Breaking strength ของเจลแต่ละระบบจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเจลาติน โดยที่ค่า Breaking strength มีอัตราเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อมีเจลาตินร้อยละ 0 ถึง ร้อยละ 12 และมีอัตราเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อผสมเจลาตินร้อยละ 20 อาจจะเป็นเนื่องจาก ที่ระดับความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 12-20 นั้นความเข้มข้นของเจลาตินน่าจะผ่านค่าความเข้มข้นวิกฤต (Critical concentration) ในการเกิดเจลของ LG ทำให้มีความเข้มข้นของเจลาตินเพียงพอที่จะเกิดพันธะไฮโดรเจนอย่างต่อเนื่อง แล้วเกิดเป็นโครงข่ายของเจลที่แข็งแรงขึ้นโดยทั่วไปแล้วค่าความเข้มข้นวิกฤตของเจลาตินเจลที่สกัดจากปลา (อุณหภูมิการเกิดเจล 4°C) มีค่าประมาณร้อยละ 2-5 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา และวิธีการสกัด (Glicksman, 1982) แต่เนื่องจาก LG สกัดจากหนังปลาที่ผ่านความร้อน และผ่านการสกัดด้วยความร้อนสูง ทั้งยังมีสารอื่น (Impurity) ปะปนอยู่ด้วยจึงอาจทำให้ค่าความเข้มข้นวิกฤตของสารสกัดหยาบเจลาตินจากปลาหนาเกิดการคลาดเคลื่อน



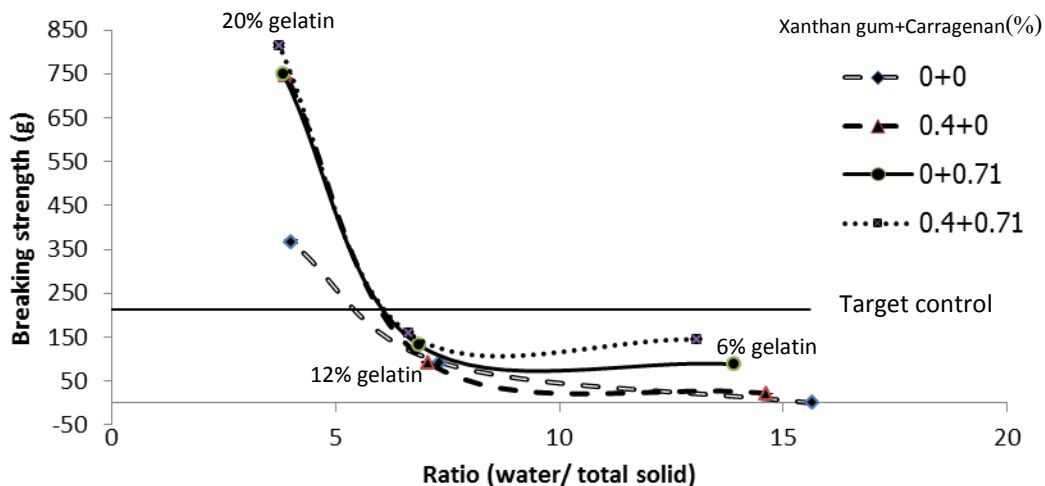
**Figure 21.** Breaking strength of mixed gel from different concentration of gelatin, xanthan gum and carrageenan and (A) gelling temperature at room temperature (B) gelling temperature at 4°C

ค่าแรงในการกตเจล (Force) ต่อระยะทางการกตเจล (Distance) สามารถคำนวณออกมาในรูปของปริมาณงานทั้งหมดที่ใช้ในการทำลายโครงสร้างของเจล (Relative work) ดังแสดงในภาพที่ 22 ค่าแรงที่ได้มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับค่า Breaking strength ซึ่งทั้งสองค่านี้แปรผกผันกับอัตราส่วนของน้ำในระบบเจล (ภาพที่ 23) โดยในระบบที่มีอัตราส่วนน้ำในช่วง 13-15 มีค่า Breaking strength แตกต่างกัน และมีค่าไปในทิศทางเดียวกับปริมาณงานที่ใช้ในการทำลายโครงสร้างเจล แต่เมื่ออัตราส่วนน้ำลดลงมาที่ประมาณ 6-7 ค่า Breaking strength จะมีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่ออัตราส่วนน้ำลดลงมาอยู่ที่ประมาณ 4 ระบบเจลที่มีเฉพาะ LG มีค่า Breaking strength ต่ำที่สุด ในขณะที่ระบบเจลที่มีแซนแทนกัม และ/หรือ คาร์ราจีแนนจะมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งค่าความแข็งของเจลจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำในระบบเจลที่ลดลง นั่นคือค่าความแข็งของเจลจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้น





**Figure22.** Relative work of gel with different concentration of gelatin and xanthan gum in gelatin-xanthan gum-carrageenan system of gelling temperature at 4°C



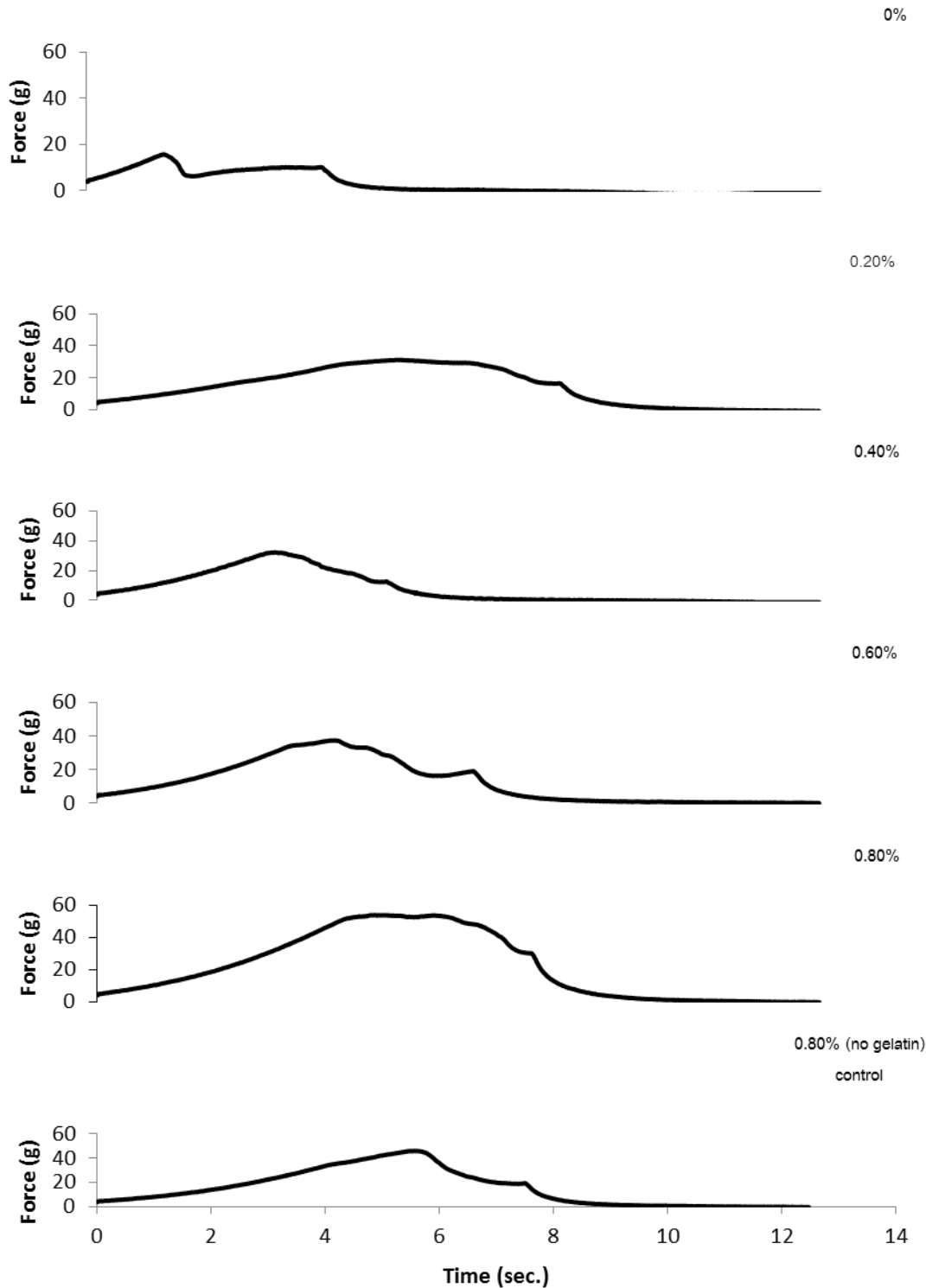
**Figure23** Relationship between maximum breaking strength and water ratio of gelling temperature at 4°C

**7.2** ศึกษาผลของความเข้มข้นของแซนแทนกัมต่อสมบัติการเกิดเจลของสารผสมแซนแทนกัม สารสกัดหยาบเจลาติน และคาร์ราจีแนน

ระบบเจลของอาหารแมวชนิดนี้จำเป็นต้องมีคาร์ราจีแนน เนื่องจากเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดเจลของระบบ ส่วนการผสมแซนแทนกัมปะเจลาติน จะทำให้เจลมีความเสถียรมากขึ้น (Haug *et al.*, 2004; Norland, 1990) ภาพที่ 24A แสดงลักษณะโพรไฟล์ของเจลที่อุณหภูมิห้อง จะเห็นได้ว่าเจลที่ไม่มีแซนแทนกัม มีแรงกดต่ำสุด (ประมาณ 20 กรัม) มีเวลาการกด

ถึงจุดสูงสุดประมาณ 2 วินาที ส่วนที่ความเข้มข้นของแซนแทนกัมร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 มีค่าแรงกดสูงสุดใกล้เคียงกัน (ประมาณ 30 กรัม) และมีค่าแรงกดใกล้เคียงกับ Control (แซนแทนกัมร้อยละ 0.8 ผสมกับคาร์ราจีแนนร้อยละ 0.71) แต่มีระยะเวลาการกดต่างกัน (ประมาณ 4-6 วินาที) เมื่อเปรียบเทียบโพรไฟล์ของเจลในภาพรวมพบว่า เมื่อผสม LG (เจลาติน ร้อยละ 6) และคาร์ราจีแนน (ร้อยละ 0.71) ร่วมกับแซนแทนกัม (ร้อยละ 0.8) ให้เจลที่มีความแข็งกว่า Control สำหรับการทดแทนแซนแทนกัมทั้งหมดด้วย LG จะเกิดเจลที่ไม่แข็งแรง แต่หากคงปริมาณแซนแทนกัมไว้ที่ร้อยละ 0.4 ผสม LG (เจลาตินร้อยละ 6) และคาร์ราจีแนนร้อยละ 0.71 จะได้เจลที่มีค่าความแข็งของเจลสูงใกล้เคียงกับ Control (ภาพที่ 19) จากภาพที่ 19 และ 24A สรุปได้ว่า การเกิดเจลที่อุณหภูมิห้องจำเป็นจะต้องมีแซนแทนกัมอยู่จำนวนหนึ่ง และการเสริมเจลด้วย LG ๖เจลาตินร้อยละ 6) จะให้เจลที่มีค่าความแข็งขึ้นใกล้เคียงกับ Control

## Xanthan gum



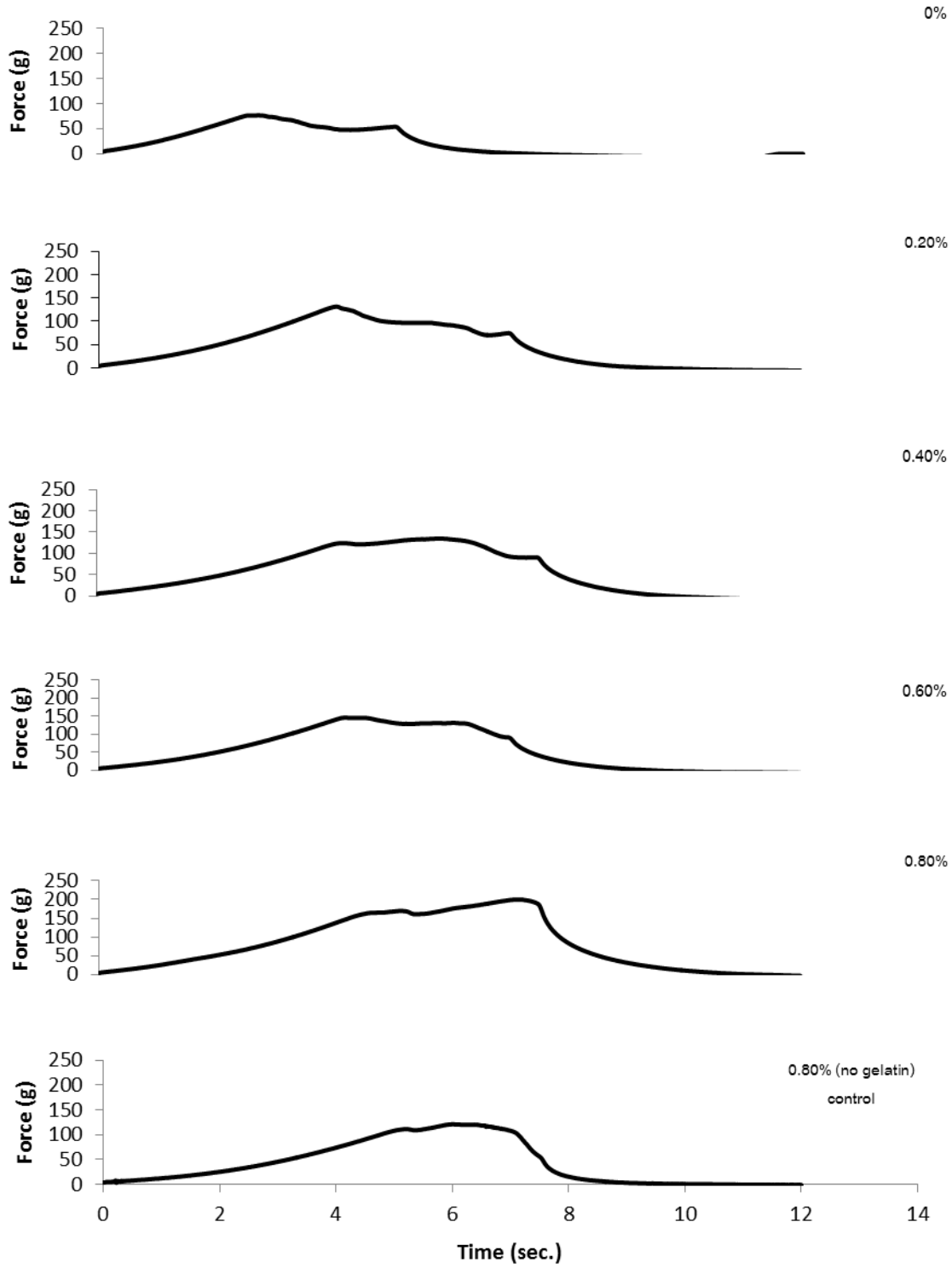
Figu

**re24A.** Texture profile of mixed gel containing 6% gelatin (wb), 0.71% carrageenan and different concentration of xanthan gum (except last graph with no gelatin added) at gelling temperature of room temperature

การศึกษาการเกิดเจลที่อุณหภูมิ 4°C แสดงในภาพที่ 24B พบว่า ระบบเจลที่มีแซนแทนกัมร้อยละ 0.8 มีค่าแรงกดสูงสุด (ประมาณ 200 กรัม) ส่วนที่ความเข้มข้นของแซนแทนกัมร้อยละ 0.2,

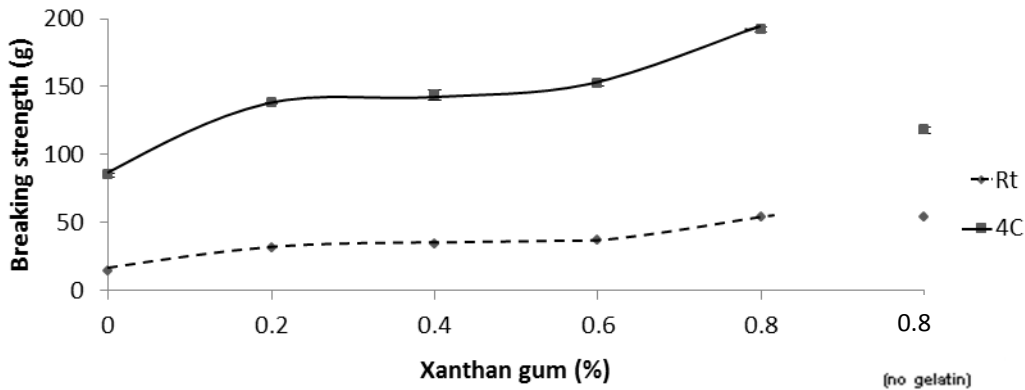
0.4 และ 0.6 มีค่าแรงกดใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 125 145 และ 150 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ Control (130 กรัม) เจลที่มีความเข้มข้นของแซนแทนกัมร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 มีระยะเวลาการกดยืดสูงสุดประมาณ 4 วินาที ส่วนที่ความเข้มข้น ร้อยละ 0.8 มีระยะเวลาการกดยืดสูงสุดประมาณ 8 วินาที และมีค่าสูงสุด จะเห็นได้ว่าเจลที่เกิดขึ้นยังคงแสดงลักษณะ ของกราฟที่มียอด 2-3 ยอด แสดงว่าเจลในระบบนี้มีลักษณะของเจลที่มีความหลากหลาย และไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (Heterogeneous) ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อการทำให้ผลิตภัณฑ์คงตัวเมื่ออยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิไม่คงที่ในขณะที่ขนส่งหรือเก็บรักษา

Xanthan gum

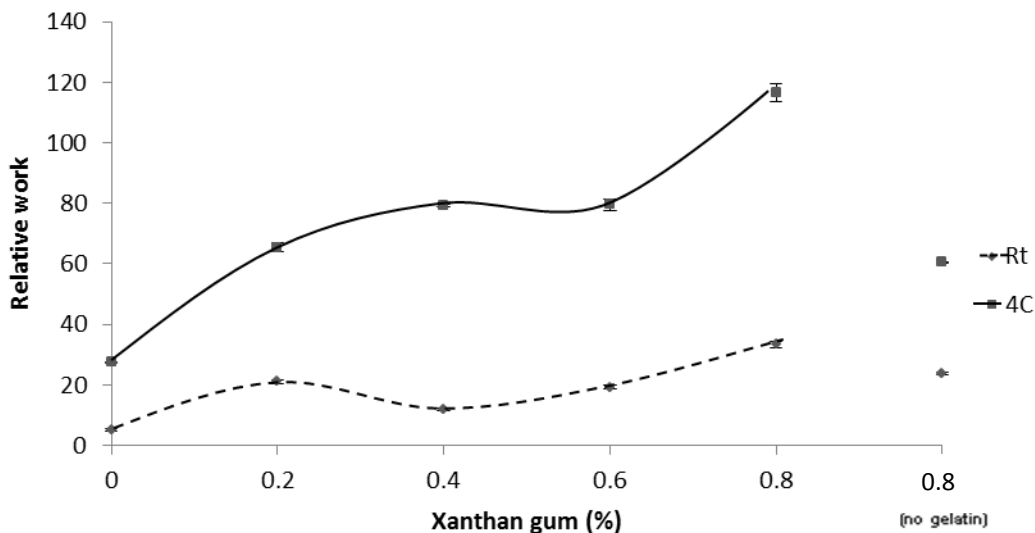


**Figure24B.** Texture profile of mixed gel containing 6% gelatin (wb), 0.71% carrageenan and different concentration of xanthan gum (except last graph with no gelatin added) at gelling temperature of 4°C

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า Breaking strength กับ ความเข้มข้นของแซนแทนกัมในระบบเจลคาร์ราจีแนน (ร้อยละ 0.71) ผสม LG (เจลาตินร้อยละ 6) บ่มเจลที่อุณหภูมิห้อง และ 4°C (ภาพ 25) แสดงให้เห็นว่า ที่ความเข้มข้นแซนแทนกัมร้อยละ 0.8 มีค่า Breaking strength สูงสุด และความเข้มข้นของแซนแทนกัมร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 มีค่าใกล้เคียงกัน ทั้งสองอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิ 4°C มีค่า Breaking strength สูงกว่าที่อุณหภูมิห้องประมาณร้อยละ 30 โดยเมื่ออุณหภูมิการบ่มเจลลดลง ค่าความแข็งของเจลจะเพิ่มขึ้น และลักษณะของเจลจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากเมื่ออุณหภูมิลดลงความยืดหยุ่นของสายโพลีเมอร์ในโครงข่ายจะลดลง ทำให้ความมีอิสระในการหมุน และการเคลื่อนที่ลดลง ส่งผลให้เกิดโครงข่ายที่มีความแข็งแรงขึ้น (Moe *et al.*, 1992) เมื่อพิจารณาปริมาณงานทั้งหมดที่ใช้ในการทำลายโครงสร้างของเจล (Relative work) ดังแสดงในภาพที่ 26 พบว่ามีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันกับค่า Breaking strength แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิการเกิดเจลแตกต่างกัน ลักษณะของเจลที่เกิดขึ้นจะมีความไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (Heterogeneous) และมีความแตกต่างกันในด้านของค่าความแข็งของเจล ระยะเวลาที่ใช้ในการกดเจล และปริมาณงานที่ใช้ทำลายโครงสร้างเจล แซนแทนกัมเป็นสารที่ช่วยส่งเสริมเสถียรภาพของระบบเจลผสมที่มีคาร์ราจีแนน และ LG โดยที่แซนแทนกัมความเข้มข้นร้อยละ 0.2-0.6 มีสมบัติของเจลที่อุณหภูมิ 4°C ใกล้เคียงกัน สำหรับที่ความเข้มข้นแซนแทนกัมร้อยละ 0.4 มีค่าความแข็ง และปริมาณงาน ใกล้เคียงกับ Control ส่วนการมีเกลือในระบบเจล เช่น โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0.1 ทำให้แซนแทนกัมมีความคงตัวต่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (วรรณ ตุลยธัญ, 2549) แซนแทนกัมเป็นสารที่มีบทบาทในการช่วยเพิ่มความเสถียรของโครงข่ายสามมิติในระบบเจลที่มีเจลาติน จากการศึกษาของ Altay และ Gunasekaran (2012) ที่ศึกษาระบบเจลผสมของเจลาตินและแซนแทนกัม พบว่าการมีแซนแทนกัมในระบบเจล ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหลอมเหลวของเจล แต่จะส่งผลต่อการลดอุณหภูมิการเกิดสถานะเหมือนแก้ว (Glass transition) ในระบบเจลผสมดังกล่าว



**Fig25.** Breaking strength of gel containing 0.71% carrageenan and 6% gelatin (wb) and different concentrations of xanthan gum gel compare with system used for cat food control (0.8% xanthan gum, 0% gelatin) set at gelling temperatures of room temperature and 4 °C



**Fig26.** Relative work obtain from area under force-deformation curve of gel containing 0.71% carrageenan and 6% gelatin (wb) and different concentrations of xanthan gum gel compare with system used for cat food control (0.8% xanthan gum, 0% gelatin) set at gelling temperatures of room temperature and 4 °C

### 7.3 ศึกษาการใช้สารสกัดหยาบเจลาตินทดแทนแซนแทนกัมในการผลิต

#### อาหารแมวแบบเปียกสภาวะที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม

##### 7.3.1 องค์ประกอบเคมีในอาหารแมวแบบเปียก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารแมวแบบเปียกทั้ง 2 สูตร แสดงในตารางที่ 15 สูตรอาหารที่ผสม LG มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสูตร Control ประมาณร้อยละ 3 ( $p < 0.5$ ) และมีปริมาณ ไขมัน (ร้อยละ 1.95) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.5$ ) กับสูตร Control (ร้อยละ 2.09) ทั้งนี้สูตรอาหารที่ผสมเจลาตินมีปริมาณเกลือสูงขึ้นจากร้อยละ 1.05 เป็น 3.70

(น้ำหนักแห้ง) โดยองค์ประกอบทางเคมีของทั้งสองสูตรนี้ มีปริมาณ โปรตีน ไขมัน และเกลือ มีค่าสูงกว่ามาตรฐาน AFFCO ที่กำหนดให้อาหารแมวชนิดเปียกมีส่วนประกอบของโปรตีน ไขมัน และเกลือ ประมาณร้อยละ 26-30, 9 และ 0.2 (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ (AAFCO, 2004) และปริมาณเกลียวยังมีค่าเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารแมวของไทย ที่กำหนดให้มีได้ไม่เกินร้อยละ 1 (มอก. 1017, 2533) ดังนั้นจึงควรศึกษาวิธีการลดปริมาณเกลือในสารสกัดเจลาตินก่อนการนำมาผสมในอาหารแมว เนื่องจากแมวจะมีความไวต่อปริมาณเกลือในอาหาร หากอาหารมีปริมาณเกลือสูง อาจส่งผลให้คะแนนการทดสอบความชอบในแมว (Palatability) ต่ำ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อสุขภาพของแมวทั้งในระยะสั้นและระยะยาว

### 7.3.2 ปริมาณจุลินทรีย์

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารแมวทั้ง 2 ชนิด พบว่าอาหารสูตรที่ผสม LG มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น เท่ากับ  $1.6 \times 10^6$  CFU/g ซึ่งมีค่าสูงกว่าสูตรมาตรฐาน ( $1.1 \times 10^6$  CFU/g) ปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้นนั้นน่าจะมาจากสารสกัดหยาบเจลาติน แต่เมื่อผ่านการฆ่าเชื้อแล้วอาหารแมวทั้งสองสูตรมีปริมาณเชื้ออยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารแมว (มอก.1017, 2533) แสดงให้เห็นว่าสภาวะการฆ่าเชื้ออาหารแมวแบบเปียกที่บรรจุในถุงเพาเวสที่อุณหภูมิ  $122^{\circ}\text{C}$  ระยะเวลา 30 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานได้ (ตาราง 16)

**Table 15** Chemical compositions of wet cat food with LG (6% gelatin; wb) added and no LG added

Parameter	No LG added (Control)		LG added (6% gelatin)	
	(%)		(%)	
	wb	db	wb	db
Moisture	81.86±1.67	-	78.94±0.79 <sup>s</sup>	-
Protein	13.57±0.43	74.81±1.87	16.71±0.28 <sup>s</sup>	79.34±1.28 <sup>s</sup>
Fat	2.09±0.79	11.52±0.73	1.95±0.84 <sup>ns</sup>	9.26±0.86 <sup>s</sup>
Ash	0.93±0.04	5.13±0.12	1.25±0.14 <sup>s</sup>	5.93±0.16 <sup>s</sup>
Salt	0.19±0.17	1.05±0.07	0.78±0.13 <sup>s</sup>	3.70±0.08 <sup>s</sup>
Carbohydrate	1.55±0.87	8.54±0.11	1.15±0.63 <sup>s</sup>	5.46±0.10 <sup>s</sup>



**Table 16** Microbial test of wet cat food with LG (6% gelatin; wb) added and no LG added

Parameter		No LG added (Control) (%)	LG added (6% gelatin) (%)
Pre sterilize	Total bacteria count	$1.1 \times 10^6$ CFU/g	$1.6 \times 10^6$ CFU/g
	Coliform bacteria	9.2 MPN/g	9.2 MPN/g
After sterilize	Total bacteria count	<10 CFU/g	CFU/g
	Coliform bacteria	<3 MPN/g	<3 MPN/g
	Aerobic bacteria 37°C	<10 CFU/g	<10 CFU/g
	Aerobic bacteria 55°C	<10 CFU/g	<10 CFU/g
	Anerobic bacteria 37°C	<10 CFU/g	<10 CFU/g
	Anerobic bacteria 55°C	<10 CFU/g	<10 CFU/g

### 7.3.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของอาหารแมวผสมเจลาติน เปรียบเทียบกับสูตรทางการค้า

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหารแมวแบบเปียกทั้งสองสูตร โดยใช้ผู้ทดสอบเป็นตัวแทนของผู้บริโภคที่จะเลือกซื้อสินค้าไปให้สัตว์เลี้ยงจำนวน 30 คน จากผลการศึกษาในตารางที่ 17 เป็นการทดสอบตัวอย่างโดยใช้วิธีทดสอบแบบ Triangle test โดยใช้สูตรมาตรฐานจากโรงงานเป็นชุดควบคุม (Control) จากการทดสอบพบว่าค่า Chi square ( $X^2$ ) ของตัวอย่างที่ทดสอบ (6.40) มีค่ามากกว่าค่า Chi square ( $X^2$ ) จากตาราง (3.84) อาหารแมวผสมสารสกัดหยาบเจลาติน (LG) จึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับสูตร Control แต่เนื่องจากวิธีการทดสอบแบบ Triangle test นี้ไม่สามารถบอกลักษณะความแตกต่างของตัวอย่างได้จึงใช้วิธี Difference from control test เพื่อบอกลักษณะของความแตกต่างซึ่งวิธีนี้จะจำแนกความแตกต่างของแต่ละลักษณะโดยใช้ค่า t ซึ่งถ้าค่า t จากตารางมีค่าน้อยกว่าค่า t ของตัวอย่าง จะแสดงผลความแตกต่างจากสูตร Control (สูตรมาตรฐานจากโรงงาน) และสัญลักษณ์หน้าค่า t บอกระดับทิศทางของลักษณะ โดยแสดงผลการทดสอบในตารางที่ 18 พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนลักษณะที่มีความแตกต่างจากชุด Control เพียงลักษณะเดียวคือสี โดยสีของอาหารแมวที่ผสมสารสกัดเจลาตินจะมีสีเข้มกว่าสูตรที่ไม่ผสมเจลาติน ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดเจลาตินนั้นเมื่อผ่านความร้อน เช่น การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จะมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น ส่วนค่าความแข็ง (Hardness) และความหนืด มีค่าเท่ากับ -0.88 และ -1.72 ตามลำดับ แสดงว่าสูตรที่ผสมสารสกัดหยาบที่มีเจลาตินร้อยละ 6 มีลักษณะความแข็งและความหนืดของอาหารเมวน้อยกว่าสูตรมาตรฐาน แต่ไม่มีความแตกต่างกัน ( $p \geq 0.05$ ) จากข้อคิดเห็นของผู้ทดสอบบางส่วนมีความคิดเห็นว่าสูตรอาหารที่ผสมเจลาตินมีลักษณะเหมือน meat sauce มากกว่าสูตร Control ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากมีสีน้ำตาลที่เข้มกว่าสูตรมาตรฐาน

**Table 17** Triangle test of wet cat food compare with commercial formula

Frequency		Chi square ( $X^2$ ) (df=1)	
Right	Wrong	sample	Table
12	8	6.40	3.84

หมายเหตุ \* Chi square ( $X^2$ ) of sample > Chi square ( $X^2$ ) from table = difference, N= 30

**Table 18** Difference from control test of guest panelist

Parameters	t (sample)	t (table)	Result	SD
Color	3.95	2.06	difference	1.12
Texture (hardness)	-0.88	2.06	Not difference	1.75
Viscosity	-1.72	2.06	Not difference	1.14
Odor (fishy)	1.23	2.06	Not difference	1.72

Note: \*t (s ample) >t (table) = Difference from control, N=30

#### 7.3.4 การทดสอบ Palatability ของอาหารแมว

ทดสอบ Palatability โดยวิธี 2 pan- และ 2-day test (Griffin, 2003) ในอาหารแมวที่มีส่วนผสมของเจลาตินจากหนังปลาทูน่าเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม (Control) ยังไม่สามารถสรุปอย่างชัดเจนได้เนื่องจากการทดสอบยังมีจำนวนแมวไม่เพียงพอ โดยทั่วไปวิธีนี้จะทดสอบกับแมวประมาณ 16- 20 ตัว หรือมากกว่า โดยใช้ค่า Intake raio (IR) เป็นเกณฑ์ในการแปรผล (Intake raio (IR)=0.4-0.6= Parity, IR<0.4 คือ Loss และ IR >0.6 คือ Win) (Griffin, 2003) จากการศึกษาเบื้องต้นในแมว 6 ตัว (ตาราง 19) พบว่าอาหารที่ผสมเจลาติน มีค่า Intake ratio เฉลี่ยเท่ากับ 0.35 และแมวทุกตัวเลือกที่จะกินสูตรควบคุมเป็นอันดับแรก ซึ่งสาเหตุอย่างหนึ่งที่ทำให้ค่า Intake ratio ต่ำเนื่องจากอาหารสูตรที่ผสมเจลาตินจากหนังปลาทูน่ามีปริมาณเกลือที่สูง ดังนั้นจึงต้องมีวิธีการกำจัดเกลือจากในวัตถุดิบหลักก่อนที่จะนำมาใช้

**Table 19** palatability of wet cat food compare with commercial formula

<b>Cat</b>	<b>First choice</b>	<b>Intake Ratio</b>	<b>Result</b>
1	Control	0.21	loss
2	Control	0.28	loss
3	Control	0.46	parity
4	Control	0.31	loss
5	Control	0.34	loss
6	Control	0.50	parity

## บทที่ 4

### บทสรุป

1. การสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่าที่ผ่านการให้ความร้อน ที่  $90^{\circ}\text{C}$  ระยะเวลา 30 นาที และอัตราส่วนหนังปลาต่อน้ำเท่ากับ 4:1 มีปริมาณเจลาติน และร้อยละของผลผลิต (% Yield) สูงสุด และค่าความแข็งของเจลจากสารสกัดหยาบเจลาตินเพิ่มขึ้นตามระดับอุณหภูมิการสกัดที่เพิ่มขึ้น (ปริมาณเจลาตินที่สกัดได้เพิ่มขึ้น) เมื่ออัตราส่วนน้ำที่ใช้ในการสกัดลดลง

2. องค์ประกอบทางเคมีในหนังปลาทูน่า และสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่า (LG) มีความแปรปรวนคล้ายคลึงกันระหว่าง Batch ที่ศึกษาในฤดูกาลที่แตกต่างกัน (ฤดูหนาว และฤดูใบไม้ร่วง) โดยเฉพาะปริมาณไขมัน เกลือ และเจลาติน ความแปรปรวนขององค์ประกอบทางเคมีในหนังปลาทูน่าเริ่มต้นที่มีระหว่าง Batch ทำให้เกิดความแตกต่างขององค์ประกอบใน LG

3. องค์ประกอบของกรดอะมิโนใน LG มีโพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีนค่อนข้างสูง แต่ยังมีปริมาณน้อยกว่าเจลาตินที่สกัดจากหนังหมู และมีปริมาณไกลซีนน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาชนิดอื่น เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เจลจาก LG ไม่แข็งแรงเท่ากับเจลาตินเจลจากแหล่งอื่นที่มีการศึกษามาก่อนหน้า

4. สารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่า (LG) มีน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนสูงสุด ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับปลาชนิดอื่นที่มีการศึกษาก่อนหน้า ในขณะที่ SG มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับ LG แต่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่ลดลง และส่วนที่น้ำหนักโมเลกุลขนาดเล็กเพิ่มขึ้น สำหรับ AG มีโมเลกุลขนาดใหญ่เพียงเล็กน้อย

5. สารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่ามีค่าการละลายต่ำสุด (pI) ที่ค่ากรด-ด่างเท่ากับ 6 สูงสุดที่ 3 ส่วนเจลาตินผงที่ผ่านการอบแห้ง (AG) และฟอนฝอย (SG) มีค่าการละลายใกล้เคียงกันคือต่ำสุดที่ ค่ากรด-ด่าง เท่ากับ 4 สูงสุดที่ 6 การเสถียรภาพด้วยความร้อนทำให้ประจุบนโมเลกุลโปรตีนเปลี่ยนแปลง

6. อุณหภูมิการหลอมเหลว ( $T_m$ ) ของ LG มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น แต่มีความแตกต่างกันน้อย มีค่าระหว่าง  $20-21^{\circ}\text{C}$  และเจลไม่เกิด การผันกลับ (Reversibility) เมื่อศึกษาด้วยเทคนิค DSC ภายในระยะเวลาที่กำหนด แต่สามารถวัดค่าความแข็งของเจลได้อีกครั้งเมื่อนำ LG กลับไปต้มที่อุณหภูมิการเกิดเจลที่  $4^{\circ}\text{C}$  นาน 24 ชม. และ Thermogram แสดงลักษณะของสารที่มีหลายองค์ประกอบ (Heterogeneous)

7. เจลาตินผงที่ผ่านการอบแห้ง (AG) มีค่า Bulk density และ Flow ability สูงกว่า การฟอนฝอย (SG) ค่า  $L^*$  ของเจลาตินผง (AG และ SG) มีต่ำกว่า LG เจลาตินผงมีสีน้ำตาลเข้มกว่า LG พฤติกรรมการเกิดเจลของ SG มีความใกล้เคียงกับ LG มากกว่า AG คาดว่า AG มีการเสถียรภาพด้วยความร้อนมากกว่า SG และ SG มีการคืนตัวดีกว่า AG อัตราการเกิดเจลจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเจลาติน โดย LG มีค่าสูงสุด รองลงมาคือ SG และ AG ตามลำดับ

8. ค่า Breaking strength และ ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของค่าแรงตามระยะเวลา (force deformation curves) ให้ข้อมูลลักษณะและสมบัติของเจลได้ดีกว่า Bloom strength

9. การเติมสารช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจล (Crosslinking agent) และ Annealing ไม่สามารถช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเจลจาก LG ได้ อาจจะเนื่องจากการมีเกลือสูงส่งผลต่อการแย่งจับน้ำ ทำให้โปรตีนไม่มีอิสระในการเกิดโครงข่าย (Helical structure) ได้

10. ในระบบเจลที่มีแซนแทนกัม และคาร์ราจีแนน ที่ใช้ในอาหารแมว หากมีแซนแทน กัม ปริมาณน้อย (ร้อยละ 0.4) และคาร์ราจีแนน (ร้อยละ 0.71) เกิดเจลอ่อนๆ ที่อุณหภูมิห้อง แต่เมื่อเติม LG (ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6) ทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น และใกล้เคียงกับอาหารแมว มาตรฐาน

11. ผลิตภัณฑ์อาหารแมวแบบเปียกที่ผสม LG ที่มีเจลาตินร้อยละ 6 มีค่าทางประสาทสัมผัส ทางด้านความแข็ง ความหนืด และกลิ่นปลา ไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม มีเพียงค่าสีลักษณะเดียวที่มีความเข้มกว่าสูตรควบคุมทำให้อาหารแมวที่ผสม LG มีลักษณะคล้ายกับเนื้อมัด (Ground meat sauce) มากกว่าสูตรควบคุม ทั้งนี้การทดสอบความชอบของแมว (Palatability) ยังไม่สามารถสรุปผลได้ชัดเจน แต่มีแนวโน้มว่าแมวชอบสูตรควบคุมมากกว่าเนื่องจากอาหารแมวที่ผสม LG มีปริมาณเกลือสูงกว่า สูตรควบคุม ประมาณร้อยละ 1.5 (น้ำหนักแห้ง)

สารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่ามีสมบัติเกิดเจลอ่อนๆ ได้ สามารถทำแห้งโดยการ ฟนผอมแล้วให้ลักษณะการเกิดเจลที่ใกล้เคียงกับสารสกัดเหลว ซึ่งทำให้ง่ายต่อการผลิต ปริมาณ เกลือที่สูงแตกต่างกันไปตามสภาวะ ฤดูกาล และความแตกต่างของบริเวณที่อยู่อาศัย (น้ำจืด น้ำเค็ม) ของ ปลาทูน่า การลดเกลือน่าจะเป็นกระบวนการสำคัญในการผลิตเจลาตินจากหนังปลาทูน่าสำหรับ อาหารแมวได้ดีขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ สูตรผสมของ เจลาติน แซนแทนกัม และคาร์ราจีแนน สามารถ เกิดเจลที่อุณหภูมิห้องได้ โดยสมบัติของอาหารนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ และมีสี เข้ม คล้ายเนื้อมัดมากกว่า ผลของ Palatability test ในแมว ยังไม่สามารถสรุปได้แต่มีแนวโน้มว่ายัง ต้องพัฒนาด้านรสชาติ และลดความเค็มของเกลือลง สมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดหยาบเจลาตินมีความสัมพันธ์กับสมบัติด้านประจุ (Electrostatic properties) และการดูดน้ำ (Hydration) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ตามค่ากรด-ด่าง ปริมาณและชนิดของเกลือ อุณหภูมิการเกิดเจล เป็นต้น ทั้งนี้ขนาดโมเลกุลมีแนวโน้มเล็กลง เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนและอบแห้ง ดังนั้นการ สกัด และกระบวนการผลิตเจลาตินจากหนังปลาทูน่า ควรระมัดระวังในการให้ความร้อน การปรับค่า กรด-ด่าง และปริมาณเกลือ

### ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษานี้พบว่าในวัตถุดิบหนังปลาทูน่าและสารสกัดหยาบเจลาตินจากหนังปลาทูน่า(LG) มีปริมาณเกลือสูงกว่ามาตรฐานกำหนด ซึ่งจะส่งผลต่อการนำไปประยุกต์ในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นในอนาคตจึงควรมีการศึกษากระบวนการลดปริมาณเกลือทั้งในหนังปลาทูน่า และสารสกัดหยาบเจลาติน (LG)

2. การทดสอบความชอบในแมว Palatability ของการศึกษานี้ยังไม่สามารถสรุปผลได้ เนื่องจาก ในขณะที่ทำการศึกษาในแมวจำนวน 6 ตัว มีแมวจำนวน 2 ตัวมีอาการท้องเสีย หลังจากกินอาหารสูตรที่ผสมเจลาติน อาจจะเนื่องมาจากสูตรอาหารดังกล่าวมีปริมาณเกลือสูง จึงต้องหยุดการศึกษา และควรมีการศึกษาการลดปริมาณเกลือในสารสกัดหยาบเจลาติน จากหนึ่งปลาทูนาก่อนที่จะศึกษา Palatability ในแมวเพิ่มเติม

## เอกสารอ้างอิง

- กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- กรมส่งเสริมการส่งออก. 2545. บทสรุปสำหรับผู้บริหารโครงการศึกษาอุปทานสินค้าประเภทอาหารและ อุปกรณ์สัตว์ เลี้ยง. กรุงเทพฯ.
- กรุงเทพธุรกิจออนไลน์. 2552. ปลาทูนากะป๋องปี 2552. (ออนไลน์). สืบค้นจาก [www.bangkokbiznews.com](http://www.bangkokbiznews.com) (1 กันยายน 2552).
- เจริญ ชิวไมตรีวงศ์ และ ธวัช วงศ์สุริยะ. 2540. การสูญเสียในกระบวนการผลิตปลาทูนากะป๋อง. ครงงานนักศึกษ. วิทยาศาสตร์บัณฑิต. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.
- ฉัตรบวร ศุภกรชวงศ์ และ ธาวิต แซ่กอ. 2547. ใช้เอนไซม์โปรตีนเอส และการทำแห้งแบบพ่นฝอยผลิตเจลาตินจากเท้าไก่. ครงงานนักศึกษ. วิทยาศาสตร์บัณฑิต. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.
- ณรงค์ นิยมวิทย์. 2538. องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- นริศรา ขำชื่น. 2551. การวิเคราะห์ศักยภาพการส่งออกอาหารสุนัขและแมวของประเทศไทยไปยังประเทศญี่ปุ่น. วิทยานิพนธ์เศรษฐศาสตร์มหาบัณฑิต. คณะเศรษฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพฯ.
- นัฐฐา คเชนทร์ภักดี. 2549. การผลิตเจลาตินจากน้ำบีบปลาทูน่า. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. ผลิตภัณ์ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- พิสิฐฐ์ ประพันธ์วัฒนา. 2549. กรดอะมิโนและโปรตีน ใน เซลล์ ชิววิทยาทางการแพทย์. สิทธิศักดิ์ ธรรมชาติ. บรรณาธิการ. หน้า 130-135. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- พิศมัย เจนวนฉิมปัญจกุล และปาริชาติ หลายชูไทย. 2535. กรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด w-3 จากผลพลอยได้ของ อุตสาหกรรมปลากระป๋องและปลาแช่แข็ง. ว.สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 24:1-11.
- พรรณพิพย์ สุวรรณสาครกุล. 2530. การศึกษาคุณภาพของสิ่งเหลือทิ้งจากการแปรรูปสัตว์น้ำเพื่อใช้ในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรส. กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ. กรมประมง. กรุงเทพฯ.
- สุกัญญา สุนทรส และ วิเชียร ริมพณชัยกิจ. 2547. ชิวโมเลกุล. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- สุภาพร มหันต์กิจ. 2549. การใช้วัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมการแปรรูปสัตว์น้ำเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว. วิทยานิพนธ์. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

- สุมาลัย ศรีกำไลทอง, วิไลวรรณ พิทยานุกุล, วุฒิภุช จิรภัทรสุนทร และ ศรีศักดิ์ ตรีงวัชรกุล. 2540. ซุปปลาสกัดเข้มข้นและพร้อมดื่มจากน้ำนิ่งปลาของอุตสาหกรรมปลาทูน่ากระป๋อง. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 4-7 กุมภาพันธ์ 2545.
- ส่วนมาตรฐานด้านการปศุสัตว์. 2551. เรื่องหน้ารู้เกี่ยวกับอาหารสุนัขและแมว. กรมปศุสัตว์. <http://www.dld.go.th/inform/article25.html>. (สืบค้นเมื่อ 10 กันยายน 2553).
- วรรณดา ตุลยธัญ. 2549. เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- วิศรดา สุวรรณ. 2545. การผลิตเจลาตินจากกระดูกปลากะพงแดง. วิทยานิพนธ์. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาผลิตภัณฑ์ประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิมล เหมะจันทร์. 2528. ชีววิทยาปลา. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรรณวิบูลย์ กาญจนกฤษกร. 2549. เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. พิมพ์ครั้งที่ 5, ภาควิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 300-333.
- มอก.1017. 2533. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมอาหารแมว. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2536. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- อมรา ชื่นพันธุ์ และ ไพโรจน์ ชัยเกลี้ยง. 2534. การประมงปลาทูน่าของประเทศไทย. วารสารการประมง. 44(4): 343-362.
- AAFCO. 2004. Official Publication. Association of American Feed Control Officials. West Lafayette. ID. U.S.A.
- Aewsiri, T., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Tanaka, M. 2008. Chemical compositions and functional properties of gelatin from pre-cooked tuna fin. International Journal of Food Science and Technology. 43: 685-693.
- Alting, A. C., Weijers, M., De-Hook, E. H. A., Pupekamp, A. M. and Stuart, M. A. C. 2004. Acid-induce cold gelation of globular proteins: Effect of protein aggregate characteristics and disulfide bonding on rheological properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 623-631.
- Altay, F. and Gunasekaran, S. 2012. Rheological evaluation of gelatin-xanthan gum system with high levels of co-solute in the rubber to glass transition regions. Food Hydrocolloids. 28: 141-150.
- Annon. 1996. A natural material with many applications. Food Ingredient and Analysis International 18: 26-27



- AOAC. 2000. Official Method of Analysis, 17<sup>th</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- Arnesen, J. A. and Gildberg, A. 2007. Preparation and characterization of gelatin from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. *Bioresource Technology*. 98: 53-57.
- Badii, F. and Howell, N. K. 2006. Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. *Food Hydrocolloids*. 20: 630–640.
- Balian, G. and Bowes, J.H. 1977. The structure and properties of collagen. *In* The Science and Technology of Gelatin. (Ward, A.G. and Courts, A., eds.). p.1-31. Academic Press, Inc. London.
- Bailey, A.J. and Light, N.D. 1989. *Connective Tissue in Meat and Meat Product*. Elsevier Sciences Publishers. London.
- Baziwane, D. and He, Q. 2003. Gelatin: the paramount food additive. *Food Review International*. 19 : 423-435.
- Benjakul, S., Oungbho, K., Visessanguan, W., Thiansilakul, Y. and Roytrakul, S. 2009. Characteristics of gelatin from the skin of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthu macracanthus*. *Food Chemistry*. 116: 445-451.
- Bensi, P. K., Shamasundar, B. A., Dileep, A. O., Badii, F. and Howell, N. K. 2009. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming of fish mince. *Food Hydrocolloids*. 23: 132-145.
- Bell, L. N. and Labuza, T. P. 1994. Influence of the low-moisture state on pH and its implication for reaction kinetics. *Journal of Food Engineering*. 22: 291-312.
- Bergman, I. and Loxley, R. 1963. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Analytical Chemistry*. 35: 1961-1965.
- BSI (British Standards Institution). 1975. *Methods for Sampling and Testing Gelatin (physical and chemical methods)*. BSI. United Kingdom. London.
- Burbut, S. 1995. Effect of sodium level on the microstructure and texture of whey protein isolate gels. *Food Research International*. 28: 437-443.
- Bot, A., Amerongen, I. A. V., Robert, D. G., Niko, L. H. and Agterof, W. G. M. 1996. Large deformation rheology of gelatin gels. *Polymer Gels and Networks*. 4: 189-227.
- Brody, J. 1965. *Fishery by-product Technology*. The Avi- Publishing Company, Inc. Westport.

- Bronson, W.F. 1950. Technology and utilization of gelatin. *Food Technology*. 5: 55-58
- Burghagen, L. 1999. Collagen. *In Food Chemistry 2<sup>nd</sup>* (Belitz.H.D. and Grosch, W., eds.). p. 540-547. Springer-Verlag. Berlin.
- Carr, R. L. 1965. Classifying flow properties of solids. *Chemical Engineering Journal*. 1:69-72.
- Carr, R. L. 1970. Particle behaviour, storage and flow. *British Chemical Engineering*. 15: 1541-1549.
- Chinachoti, P. and Steinberg, P. M. 1985. Interaction of sodium chloride with raw starch in freeze-dried mixtures as shown by water sorption. *Journal of Food Science*. 50: 825–828.
- Cho, S-H., Jahncke, M.L., Chin, K-B. and Eun, J-B. 2006. The effect of processing conditions on the properties of gelatin from skate (*Raja Kenojei*) skins. *Food Hydrocolloids*. 20: 810–816.
- Choi, S. S. and Regenstein, J. M. 2000. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. *Journal of Science and Agricultural Food Chemistry*. 65: 194-199.
- Cole, B. 2002. Gelatin. *In Encyclopedia of Food Science and Technology 2<sup>nd</sup>*. (Francis, F. J., ed.). p. 1183-1188. Wiley. New York.
- D'Cruz, N.M. and Bell, L.N. 2005. Thermal unfolding of gelatin in solids as affected by the glass transition. *Journal of Food Science*. 70 : E64-E68.
- Dranca, I. and Vyazovkin, S. 2009. Thermal stability of gelatin gels: Effect of preparation conditionson the activation energy barrier to melting. *Polymer*. 50: 4859–4867.
- Eysturskard, J., Haug, I.J., Elharfaoui, N., Djabourov, M. and Draget, K.I. 2009. Structural and mechanical properties of fish gelatin as a function of extraction conditions. *Food Hydrocolloids*. 23: 1702-1711.
- Ferry, J. D. 1984. Mechanical properties of substances of high molecular weight. Rigidities of gelatin gel: Dependence on concentration, temperature and molecular weight. *Journal of the American Chemical Society*. 70: 2244-2249.
- Finch, A., Gardener, P. J., Ledward, D. A. and Menashi, S. 1974. The thermal denaturation of collagen fibers swollen in aqueous solution of urea, hexamethylenetetramine, P-benzoquinone and tetra-alkylammonium salts. *Biochimica Biophysica Acta*. 365: 400-407.

- Foegeding, E. A., Kuhn, P. R. and Hardin, C. C. 1992. Specific divalent cation-induced changes during gelation of  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 2092-2097
- Fonteneau, A. and Marcille, J. 1993. Resource fishing and biology of the tropical tunas of the Eastern central Atlantic. *FAO Fisheries Technical Paper*. 292: 1-9.
- Friess, W. 1998. Collagen-biomaterial for drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 45: 113-136
- Grosch, W. 1986. Redox system in dough. *In Chemistry and Physics of Baking*. (Balanshard, J. M. V. Frazier, P. J. and Galliard. T., eds.). p. 155-169. Royal society of chemistry. London.
- Gilsenan P.M. and Ross-Murphy S.B. 2000. Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. *Food Hydrocolloids*. 14: 191-195.
- Glicksman, M. 1982. *Food Hydrocolloids vol1*. CRC Press, Inc. Florida.
- Griffin, R. 2003. Palatability testing methods: Parameters and analyses that influence test conditions. *In Petfood Technology*, (Kvamme, J. L. and Phillips, T. D., eds.). p. 187-193. Watt Publishing Co., Mt. Morris, IL.
- Grosch, W. 1986. Redox System in Dough. *In Chemistry and physics of baking*. (Balanshard, J. M. V. Frazier, P. J. and Galliard. T., eds.). p. 155-169. Royal society of chemistry. London.
- Gómez-Estaca, J., Montero, P., Fernández-Martín, F. and Gómez-Guillén, M. C. 2009. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. *Journal of Food Engineering*. 90: 480-486.
- Gómez-Guillén, M. C., Turnay, J., Fernández-Díaz, M. D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A. and Montero, P. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*. 6: 25-34.
- Gudmunsson, M. and Hafsteinsson, H. 1997. Gelatin from cod skin as affected by chemical treatments. *Journal of Food Science*. 62: 37-39.
- Goula, A. M. and Adamopoulos, K. G., 2004. Spray drying of tomato pulp: effect of feed concentration. *Drying Technology*. 22: 2309-2330.
- Haug, J. I., Draget, I. K. and Smidsrød, O. 2004. Physical behavior of fish gelatin-K-carrageenan mixture. *Carbohydrate Polymer*. 56: 11-19.
- Hall, G. M. 1996. *Basic concepts in methods of testing protein functionality*. Blackie Academic and professional. London.
- Harris, P. 1990. *Food Gel: Gelatin*. Elsevier Applied Science. London.

- Igoe, R. S. 1983. Dictionary of Food Ingredients. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Ito, M., Gupta, L, P., Masuda, H. and Kawahata, H. 2006. Thermal stability of amino acid in seafloor sediment in aqueous solution at high temperature. *Organic Geochemistry*. 37: 177-188.
- Jacobs, H. and Delcour, J. A. 1998. Hydrothermal modification of granular starch, with retention of the granular structure: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 2895-2905.
- Japan External Trade Organization. 1992. Thai pet food market in Japan. Ministry of commerce. Bangkok.
- Johnston-Bank, F. A. 1990. Gelatin. *In Food Gels*. (Harris, P., ed). p. 233-289. Elsevier Applied Science. London.
- Jones, N. R. 1977. Uses of gelatin in edible products. *In The Science and Technology of Gelatin*. (Ward, A. G. and Courts, A., eds.), p. 366–394. Academic Press. London.
- Jones, G. M. J. 2004. Rheological properties of gelatin, carrageenan and locus bean gum mixtures. Thesis for the degree of Doctor of philosophy, Division of food science, University of Nottingham.
- Jellouli, K., Balti, R., Bougatef, A., Hmidet, N., Barkia, A. and Nasri, M. 2011. Chemical composition and characteristics of skin gelatin from grey triggerfish (*Balistes capriscus*). *LWT-Food Science and Technology*. 44: 1965-1970.
- Johnston-Bank, F. A. 1983. From tannery to table: an account of gelatin production. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 68: 141–145.
- Karim, A.A. and Bhat, R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*. 23: 563-576.
- Kinsella, J. E. 1976. Functional properties of food proteins: a survey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 7: 219-280.
- Kinsella, J. E. 1984. Milk proteins: Physicochemical and functional properties. *CRC Critical Review in Food Science and Nutrition*. 21: 197-262.
- Kinsella, J. E. 1987. Relationship between structure and functional properties of food proteins. *In Food Proteins*. (Fox, P. F. and Condon, J. J., eds.). p. 50-101. Applied Science publisher. London.
- Kittiphattanabawon, P. 2004. Extraction and Characterization of Collagen and Gelatin from Bigeye Snapper (*Priacanthus tayenus*) Skin and Bone. Thesis. Master degree in Food Technology. Prince of Songkla University.

- Kolodziejska, I., Kaczorowski, K., Piotrowska, B. and Sadowska, M. 2004. Modification of the properties of gelatine from skins of Baltic cod (*Gadus morhua*) with transglutaminase. *Food Chemistry*, 86: 203–209.
- Kucharz, E. J. 1992. *The Collagens: Biochemistry and pathophysiology*. Springer-Verlage. Berlin.
- Lee, Y. C. and Lee, S.W. 1990. Quality changes during storage in Korean clear pear juices concentrated by three methods. *Journal of Food Quality*. 22: 565-57.
- Ledward, D. A. 1986. Gelation of gelatin. *In Functional Properties of Food Macromolecules*. (Mitchell, J.R. and Ledward, D.A., eds), p. 171-201. Elsevier Applied Science Publishers. London.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685.
- Lin, Y.K. and D.C. Liu. 2006. Comparison of physical-chemical properties of type I collagen from different species. *Food Chemistry*. 99: 244-251.
- Mann, I. 1962. *Animal By-Product: Processing and Utilization*. Food and Agriculture Organization of The United Nation, England.
- Marforimbo, E., Skurray, G. R. and Nguyen, M. 2006. Evaluation of L-ascorbic acid oxidation on SH concentration in soy-wheat composition dough during resting period. *Lebensm.-Wiss.u-Technology*. 40: 338-343.
- Marh, E.M. and G.F. Stewart. 1957. *Advanced in Food Research Volumn VII*. Academic Press Inc, Publishers. London.
- McCormick, R. 1987. Exploiting the novel properties of pectin and gelatin gels. *Prepared Foods*. 5: 204-205.
- McWilliams, M. 2001. *Foods-Experimental Perspectives*. 4<sup>th</sup> Ed. Cliffs: Prentice Hall, Englewood.
- Michon, C., Cuvelier, G., Launay, B. and Parker, A. 1996. Viscoelastic properties of  $\bar{I}$ -carrageenan/gelatin mixture. *Carbohydrate Polymers*. 33: 161-169.
- Moe, S. T., Draget, K. I., Skjåk-Bræk, G. and Smidsrød, O. 1992. Temperature dependence of the elastic modulus of alginate gels. *Carbohydrate Polymers*. 19, 279–284.
- Montero, P., Jimenez-Colmenero, F. and Borderias, J. 1991. The effect of pH and the presence of NaCl on some hydration properties of collagenous material from trout (*Salmo irideus Gibb*) muscle and skin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 54: 137-146.

- Moulton, C. R. 1984. Meat through the microscope. Institute of Meat Packing the University of Chicaco. Chicaco.
- Muralidharan, N., Benjakul, S., Prodpran, T. and Songtipya, P. 2012. Characteristic and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as effect by extraction temperature. Food Hydrocolloids. 29: 389-397.
- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B. and Duodu, K. G. 2004. Extraction and physico-chemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. Food Hydrocolloids. 18:159-164.
- Nagai, T. and Suzuki, N. 2000. Isolation of collagen from fish waste material skin, bone and fins. Food Chemistry. 68: 277-281.
- Noitup, P. 2004. Collagen extraction from fish skin by-product in the frozen fish industry: study of some characteristics of extracted collagen. Dissertation, Kasetsart University. Bangkok.
- Norland, R. E. 1990. Fish gelatin. *In* Advance in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability. (Voight, M. N. and Botta, J. K., eds.). p. 325. Technomic Publishing Co., Lancaster, PATotosaus.
- Guerrero, I. 2002. A review of physical and chemical protein-gel induction. International Journal of Food science and Technology. 37: 589-601.
- Ockerman, H. W. 1988. Animal By Product Processing. Ellis Horwood International Publishers in Science and Technology, England.
- Pet Education. 2002. How pet foods are manufactured.  
<http://www.Peteducation.com/article.cfm=2&cat=1661&articalid=2653>.  
 (accessed August 18, 2009).
- Piez, K.A. 1985. Encyclopedia of Polymer Science and Engineering. Wiley. New York.
- Poppe, J. 1997. Gelatin *In* Thickening and Gelling Agents for Food. (Imeson, A., ed.). pp. 99-123. Blackie Academic & Professional. London.
- Rahman, M.S., Al-Saidi, G.S. and Guizani, N. 2008. Thermal characterisation of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. Food Chemistry. 108: 472–481.
- Raymus, G. J. 1980. Handling of Bulk Solids. *In* Chemical engineer's handbook 6<sup>th</sup> Ed, (Perry, R. H. and Green, D., eds.), McGraw Hill. New York.
- Rege, P. R., Garmise, R. J. and Block, L. H. 2003. Spray-dried chitinosans. Part I: Preparation and characterization. International Journal of Pharmacy. 252: 41–51.

- Reppond, K. D., Collins, J. and Markey, D. 1985. Walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*): Changes in quality when held in ice, slush-ice, refrigerated seawater, and CO<sub>2</sub> modified refrigerated seawater then stored as blocks of fillets at – 18°C. *Journal of Food Science*. 50: 985-989.
- Rother, J. 1994. Edible gelatin types, properties, use and application in the food industry. *Food Technology Europe*. 1: 32-42.
- Satas, D. 1991. *Coatings Technology Handbook*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Schrieber, R. and Gareis, H. 2007. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim.
- Shaw, D. H. and Botta, J. R. 1975. Preservation of inshore male capelin (*Mallotus villosus*) stored in refrigerated sea water. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 32: 2047-2053.
- Shittu, T. A. and Lawal, M. O. 2007. Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages. *Food Chemistry*. 100: 91-98.
- Shuster, S., Black, M. M. and McVitie, E. 1975. The influence of age and sex on skin thickness, skin collagen and density. *British Journal of Dermatology*. 63:639-647.
- Stute, R. H. 1992. Hydrothermal modification of starches:the difference between annealing and heat/moisture-treatment. *Starch/Starke*. 44: 205-214.
- The Committee on Textbooks of The American Meat Institute. 1985. *By-products of the meat packing industry*. Institute of Meat Packing University of Chicago, Chicago.
- Tressler, D. K. and Joslyn, M. A. 1954. *The Chemistry and Technology of Fruit and Vegetable Juice Production*. AVI. NewYork.
- Trius, A., Sebranek, J. G., Rust, R. E. and Carr, J. M. 1994. Carrageenan in beaker sausage as effect by pH and sodium tripolyphosphate. *Journal of Food Science*. 59: 948-951.
- Totosaus , A., Montejano, J. G., Salazar, J. A. and Guerrero, I. 2002. A review of physical and chemical protein-gel induction. *International Journal of Food science and Technology*. 37: 589-601.
- Teunou, E., Fitzpatrick, J. J. and Synnott, E. C. 1999. Characterization of food powder flowability. *Journal of Food Engineering*. 39: 31-37.
- Uitto, J. and Chu, M. L. Collagen. 2003. *In Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 6<sup>th</sup> Ed. (Freedberg, I. M., Eisen, A. Z., Wolff, K., Austen, K. F., Goldsmith, L. A. and Katz, S. I., eds). p. 165-179. McGraw-Hill. New-York.

- Vendruscolo, C. W., Ferrero, C., Pineda, E. A. G., Silveira, J. L. M., Freitas, R. A., Jimenez-Castellanos, M. R. and Bresolin, T. M. B. 2009. Physicochemical and mechanical characterization of galactomannan from *Mimosa scabrella*: Effect of drying method. *Carbohydrate Polymers*. 76: 86–93.
- Vine, R., Harkness, E., Browning, T. and Wagner, C. 1999. *Winemaking from Grape Growing to Market Place*. Aspen. Gaithersburg.
- Ward, A. G. and A. Courts. 1977. *The Science and Technology of Gelatin*. Academic Press, Inc. London.
- Wasswa, J., Tnag, J. and Gu, X. 2007. Utilization of fish processing by-products in the gelatin industry. *Food Reviews International*. 23: 159 – 174.
- Watt, B. M. 1989. *Basic Sensory Methods for Food Evaluation*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Yang, H., Wang, Y., Jiang, M., Oh, J. H., Herring, J. and Zhou, P. 2007. 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelatin. *Journal of Food Science*. 72: C188–C195.
- Yoshimaru, K, Terashima, M., Hozan, D., Ebato, T., Nomura, Y., Ishii, Y. and Shirai, K. 2000. Physical properties of shark gelatin compared with pig gelatin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 2023-2027.
- Yost, D. A. and Hosney, R. C. 1986. Annealing and glass transition of starch. *Starch/Starke*. 38: 289-292.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์สมบัติเคมี

ก1. วิธีวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยอบในตู้อบไฟฟ้า ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000)

อุปกรณ์

1. ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
2. ตู้อบไฟฟ้า
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักที่แน่นอน (แตกต่างกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม)
2. ชั่งน้ำหนักให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว
3. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง
4. นำออกจากตู้อบใส่ลงในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งน้ำหนัก
5. อบซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
6. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

## ก2. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเถ้าทั้งหมด ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000)

### อุปกรณ์

- เตาเผา (Muffle furnace)
- ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain crucible)
- โถดูดความชื้น
- เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

### วิธีการ

- เผาถ้วย Crucible ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
- ทิ้งให้ ถ้วย Crucible เย็นใน Desiccator และชั่งน้ำหนักทันทีที่ถ้วยมีอุณหภูมิเท่ากับ อุณหภูมิห้อง ( $w_1$ )
- ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันประมาณ 2-5 กรัม ใส่ในถ้วย Crucible ( $w_2$ )
- จากนั้นเผาตัวอย่างบน Hot plate ในตู้ควีน โดยค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจนกระทั่ง ตัวอย่าง เป็นเถ้าดำหรือหมดควันขาว
- นำถ้วย Crucible เข้าเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน  $\geq 3$  ชั่วโมง
- ถ้าหลังเผาตัวอย่างแล้วยังมีก้อนสีดำปนอยู่แสดงว่ายังมีส่วนของคาร์บอนหรือ สารอินทรีย์หลงเหลืออยู่ ให้ฉีดน้ำกลั่นลงไปทำให้เถ้าเปียก แล้วใช้แท่งแก้วบดให้ ตัวอย่างกระจายสม่ำเสมอ แล้วนำไปเผาต่อ
- ทิ้งตัวอย่างให้เย็นใน Desiccator และ ชั่งน้ำหนักทันทีที่ถ้วยมีอุณหภูมิเท่ากับ อุณหภูมิห้อง ( $w_3$ )

### การคำนวณ

$$\text{เถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

$$= \frac{w_3 - w_1}{w_2 - w_1} \times 100$$

## ก3. วิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมัน วิธี Bligh and Dryer (AOAC, 2000)

### อุปกรณ์

- เครื่องปั่นตัวอย่าง
- ชุดเครื่องกรองแบบ Suction
- กระดาษกรอง
- เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator)

### วิธีการ

- ชั่งตัวอย่างปริมาณ 100 กรัม ผสมกับคลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ):เมทานอล (MeOH) ใน

อัตราส่วน 100 มิลลิลิตร : 200 มิลลิลิตร

2. นำส่วนตัวอย่างจากข้อ 1 ไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน
3. เติม คลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) 100 มิลลิลิตร แล้วปั่นต่อไปเป็นเวลา 30 นาที
4. กรองแบบ suction ด้วยกระดาษกรอง Whatman
5. นำของแข็งที่ได้จากการกรองเติม คลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) 100 มิลลิลิตร แล้วปั่นต่อไปเป็นเวลา 30 นาที
6. ชะด้วย คลอโรฟอร์ม ( $\text{CHCl}_3$ ) 50 มิลลิลิตร
7. รวมส่วนของของเหลวทั้งหมดที่ได้มาใส่ในกรวยแยกตั้งทิ้งไว้ข้ามคืนในที่มืด
8. แยกส่วนของน้ำมันออกจากน้ำด้วยกรวยแยกใส่ภาชนะที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
9. นำไประเหยเอาส่วนที่เป็นน้ำออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (Evaporator)
10. นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส
11. ตั้งทิ้งไว้เย็นในโถดูดความชื้น
12. ชั่งน้ำหนัก

#### การคำนวณ

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

#### ก4. วิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมด: Kjeldahl Method (AOAC, 2000)

##### 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 ( $\text{CuSO}_4$ ) 1 ส่วนต่อโปแตสเซียมซัลเฟต ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) 9 ส่วน
3. สารละลายของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไทโอซัลเฟต เข้มข้นร้อยละ 60 ชั่ง

สารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัม และโซเดียมไฮโอซัลเฟต 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น ร้อยละ 4 โดยละลายกรดบอริก 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5. ละลายกรดเกลือ 0.02 นอร์มัล

6. อินดิเคเตอร์ใช้ Fashiro indicator เตรียมเป็น Stock solution ชั่งเมทิลีนบลู (Methyleneblue) 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล (Ethanol) 200 มิลลิลิตร และชั่ง เมทิลเรด (Methyl red) 0.05 กรัม ละลายในเอทานอล 50 มิลลิลิตร เวลานำมาผสมในอัตราส่วน Stock solution 1 ส่วน : เอทานอล 1 ส่วน : น้ำ 2 ส่วน

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหารบนกระดาษกรอง 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 ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยโปรตีน ให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
6. จัดอุปกรณ์กลั่น
7. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์ แล้วนำไปกรองรับของเหลวที่จะกลั่นโดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควมแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้
8. ตูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตขนาดความจุ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มิลลิลิตร
9. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควมแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ
10. ใต้เตาทรสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือ 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

(น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของไนโตรเจน = 14.007)

### ก5. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเกลือทั้งหมด (AOAC, 2000)

#### อุปกรณ์

1. เตาให้ความร้อน (Hot plate)
2. ตู้ดูดควัน
3. บิวเรต ขนาด 50 มล. และ 20 มล.
4. ปิเปต ขนาด 5 มล. และ 10 มล.
5. กระดาษกรองเบอร์ 1

#### สารเคมี

1. 0.1N Silver nitrate solution เตรียมโดย
  - อบ  $\text{AgNO}_3$  ในเตาอบ ที่อุณหภูมิ  $100 \pm 5^\circ\text{C}$  นาน 2 ชม.
  - ชั่ง  $\text{AgNO}_3$  ที่ผ่านการอบแล้วน้ำหนักแน่นอน 8.4645 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 500 มล. ด้วยขวดปรับปริมาตร เก็บในขวดสีชา
2. 0.1N Potassium thiocyanate solution (KSCN)
  - สารละลาย KSCN 3.5 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มล. ด้วยขวดปรับปริมาตร
  - Standardize สารละลาย KSCN โดยการปิเปตสารละลาย 0.1N  $\text{AgNO}_3$  2 มล. ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล. เติมสารละลาย  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$  5 มล. เติม  $\text{HNO}_3$  5 มล. และไตเตรทด้วย 0.1N KSCN
3. Conc. Nitric acid
4. 5% Ferric alum indicator
  - ละลาย Ferric alum  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มล.

#### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (0.5-2 กรัม) (ขึ้นกับปริมาณเกลือในตัวอย่าง) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 150 มล.
2. เติมสารละลาย 0.1N  $\text{AgNO}_3$  20 มล. เขย่าให้เข้ากัน
5. เติม Conc. Nitric acid 10 มล.
6. ต้มสารละลายในตู้ดูดควันประมาณ 10 นาที ทิ้งให้เย็น
7. กรองสารละลายลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

8. เติมสารละลาย 5% Ferric alum indicator 5 มล. แล้วไตเตรทด้วย 0.1N KSCN จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพูอ่อน

**ก6. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเจลาติน จากปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน (ดัดแปลงจาก Bergman and Loxley, 1963)**

**อุปกรณ์**

1. Electric meat mincer
- 2 Round หรือ flat-bottomed hydrolysis flask ความจุประมาณ 200 มิลลิลิตร
- 3 กระจกทรง (เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 12.5 เซนติเมตร)
- 4 เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)
- 5 Aluminium foil
- 6 water bath (ใช้ที่ 60±0.5 องศาเซลเซียส)
- 7 Spectrometer ที่ความยาวคลื่น 558 nm + 2 nm
- 8 Glass cell (ขนาด 10 มิลลิลิตร)
- 9 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 10 Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 11 หลอดทดลองฝาเกลียวขนาดใหญ่ (25 มล.)
- 12 Oil bath

**สารเคมี**

- 1 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 6 mol/l
- 2 Buffer solution (pH 6.8)

**สารเคมี**

- 2.1 Citric acid monohydrate 26 กรัม
- 2.2 Sodium hydroxide 14 กรัม
- 2.3 Anhydrous sodium acetate 78 กรัม
  - ละลายสารดังกล่าวในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เทใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วเติม propanol จำนวน 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรจนได้ 1 ลิตร (เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยสามารถเก็บไว้ได้อย่างน้อย 1 สัปดาห์)
3. Chloramine-T reagent
  - ละลาย Sodium N-chloro-p-toluene sulphonamide trihydrate (chloramines-T) 1.41 กรัม ใน buffer solution 100 มิลลิลิตร (เตรียมก่อนใช้)
4. Color reagent

- ละลาย p-Dimethylaminobenzaldehyde 10 กรัม ใน Perchloric acid solution 35 มิลลิลิตรและเติม Propan-2-ol ปริมาตร 65 มิลลิลิตรโดยเติมอย่างช้าๆ(เตรียมในวันที่ต้องใช้)การเตรียม p-Dimethylaminobenzaldehyde ให้บริสุทธิ์ โดยการเติมในเอทานอล (Ethanol) 70% (v/v) ร้อน และตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และนำไปเก็บในตู้เย็นเป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วกรองด้วย Buchner funnel ล้างด้วยเอทานอล (Ethanol) 70%(v/v) เล็กน้อย แล้วล้างด้วยเอทานอล (Ethanol) 70%(v/v) ร้อนอีกครั้ง เติมน้ำเย็นแล้วเขย่า ทำซ้ำจนมีลักษณะเหมือนนมผง หลังจากนั้นล้างด้วย เอทานอล (ethanol) 50%(v/v) และทำให้แห้งในโถดูดความชื้น

#### 5. Hydroxyproline, Standard solution

ละลาย 4-Hydroxypyridine-  $\alpha$ -carboxylic acid (Hydroxyproline) 50 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เติมสารละลายกรดซัลฟูริก (Sulfuric acid solution)จำนวน 1 หยด (เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยสามารถเก็บไว้ได้ 1 เดือน) ในวันที่ใช้ให้ใช้ stock solution ที่เตรียมไว้ 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนได้ 500 มิลลิลิตรและเตรียม 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  $\mu\text{g/ml}$

### วิธีการทดลอง

#### 1. การย่อย

- เติมกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6N ลงใน หลอดทดลองฝาเกลียวขนาดใหญ่ ที่มีตัวอย่าง โดยใช้อัตราส่วนโปรตีนในตัวอย่าง: ปริมาณกรดเป็น 1:10 (W/V) ปิดฝา
- ให้ความร้อนตัวอย่างที่ผสมกรดด้วย Oil bath ที่อุณหภูมิ 110°ซ เป็นเวลา 24 ชม.
- กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง ในขวดปรับปริมาตร 50 มล. ปรับให้เป็นกลาง ด้วย 1N และ 0.1N NaOH และปรับปริมาตรเป็น 50 มล. ด้วยน้ำกลั่น

#### 2. การวัดค่าการดูดกลืนแสง

- บีบสารละลายข้างต้น แล้วเจือจางปริมาณของ hydroxyproline ในตัวอย่างให้ได้ 0.5  $\mu\text{g/ml}$ - 2  $\mu\text{g/ml}$  ด้วยน้ำกลั่น (ประมาณ 5-25 มล. ขึ้นอยู่กับปริมาณของ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันในตัวอย่าง)
- บีบสารละลายที่เจือจางแล้ว 4 มล. ใส่ในหลอดทดลองและเติม Chloramines-T reagent 2 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
- เติม Color reagent 2 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันและปิดฝา
- นำไปวางใน Water bath อย่างรวดเร็ว ที่อุณหภูมิ 60°ซ เป็น เวลา 20 นาที



- ทำให้เย็นโดยใช้น้ำไหลเป็นเวลาอย่างน้อย 3 นาที
- วัดค่า Absorbance ที่ 558 nm ใน Glass cell
- วัดค่า Absorbance ของ Blank solution และอ่านปริมาตร Hydroxyproline จาก Calibration graph

### 3. Blank test

ทำตามขั้นตอนที่ 2 โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง (ถ้าค่า Absorbance ของ Blank solution มากกว่า 0.045 จะต้องเตรียม Color reagent ใหม่)

### 4. Calibration curve

Plot ค่า Absorbance ที่วัดได้และค่าของ Blank เทียบกับความเข้มข้นของ Standard hydroxyproline solution จะได้ค่า c หรือสร้างกราฟในโปรแกรม Excel จะได้สมการแล้วจึงแทนค่า Absorbance ที่วัดได้ลงในสมการเพื่อคำนวณค่า c

หมายเหตุ: ต้องทำ Calibration curve ใหม่ทุกครั้งในการวัดค่า

### การคำนวณ

$$\text{Hydroxyproline content (\% โดยน้ำหนัก)} = \frac{12.5 c}{m \times v}$$

c = ความเข้มข้นของ Hydroxyproline ใน Micro glass/ml ของตัวอย่างจากการย่อยที่ Diluted โดยอ่านจาก calibration curve

m = ปริมาณ (g) ของตัวอย่างที่ใช้

v = ปริมาณ (ml) ของตัวอย่างที่ย่อยและกรองแล้ว

### ปริมาณเจลาติน

สารละลายเจลาตินจากหนังวัวที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน วิเคราะห์ปริมาณ Hydroxyproline จากวิธีข้างต้น จากนั้นสร้าง Calibration curve ระหว่างความเข้มข้นของเจลาติน กับปริมาณ Hydroxyproline . สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเจลาตินของตัวอย่าง จะนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณ Hydroxyproline แล้วนำมาคำนวณปริมาณเจลาตินจาก Calibration curve ของเจลาตินจากหนังวัว

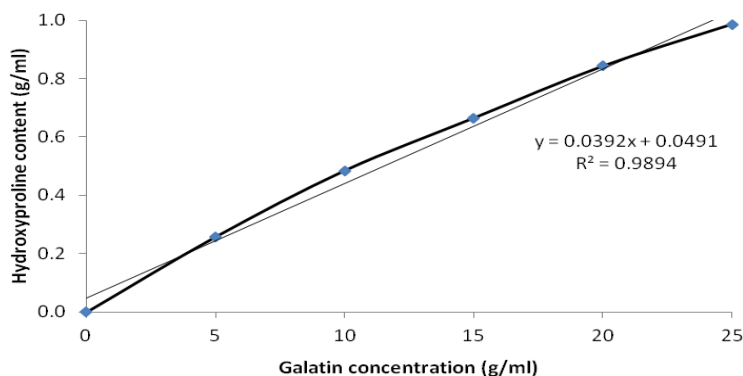


Figure: Calibration curve of bovin gelatin

### ก7 วิธีวิเคราะห์รูปแบบโมเลกุลโปรตีน ด้วยวิธี SDS-PAGE (ตัดแปลงจาก Leameli, 1960) สารเคมี

1. 30% Acrylamide-0.8% bis-Acrylamide
  - ชั่ง Acrylamide 29.2 กรัม และ bis-Acrylamide 0.8 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบ 100 มล. ด้วยขวดปรับปริมาตร ถ่ายใส่ขวดสีชา เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ
2. 0.5 M Tris-HCl (ค่ากรด-ด่าง 6.8)
  - ชั่ง Tris-base 6.9 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 60 มล. ปรับค่ากรด-ด่างให้เท่ากับ 6.8 ด้วย 6N HCl แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มล. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ
3. 1.5 M Tris-HCl (ค่ากรด-ด่าง 8.8)
  - ชั่ง Tris-base 18.15 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 80 มล. ปรับค่ากรด-ด่างให้เท่ากับ 8.8 ด้วย 6N HCl แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มล. เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ
4. 20% Ammonium persulfate (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)
5. TEMMED
6. Electrode buffer (ค่ากรด-ด่าง 8.3)
  - ละลาย Tris 3 กรัม Glycine 14.4 กรัม และ SDS (Sodium dodecyl sulfate) 1 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1000 มล. ด้วยขวดปรับปริมาตร เก็บรักษาในที่เย็น
7. Sample buffer
8. Staining solution
  - ละลาย Commesie blue R-250 ด้วย Ethanol 100 มล. คนผสมอย่างต่อเนื่องจนละลายหมด กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เดิม Glacial acetic acid 15 มล. และน้ำกลั่น 85 มล. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

## 9. Destaining solution

- ตวง Methanol 200 มล. ผสม Glacial acetic acid 30 มล. และเติมน้ำกลั่นจนครบ 400 มล.

## 10. Protein marker weight standard

## 11. Standard marker Collagen typel

**การเตรียมตัวอย่าง**

1. ละลายตัวอย่างด้วย 5% SDS ต้มที่อุณหภูมิ 85°C นาน 15 นาที แล้วทำให้เย็น
2. นำตัวอย่างไป Centrifuge ที่ 7500 RPM. นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บสารละลายส่วนใส
3. วัดปริมาณโปรตีนที่ละลายใน SDS ด้วย วิธีของ Lowry
4. เจอจางปริมาณโปรตีนในตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 30-40 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร ด้วยน้ำกลั่น
5. นำตัวอย่างมาผสมกับ Sample buffer อัตราส่วน 1:1 (มีความเข้มข้นโปรตีนอยู่ในช่วง 15-20 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 2 นาที

**การเตรียม Acrylamide gel**

1. บีบสารเคมีผสมกัน ดังตาราง
2. หยอด Separating gel ระหว่างแผ่นกระจกที่เตรียมไว้เซ็ดเจล ให้ระดับสารละลายห่างจากขอบบนของกระจกประมาณ 1.75 ซม. ทิ้งให้เกิด Polymerization ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชม. จนเจลแข็งตัว
3. หยอด Stacking gel จนถึงขอบกระจก แล้วเสียบหวี เพื่อให้เกิดช่องสำหรับโหลดตัวอย่าง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 45 นาที จนเจลแข็งตัว

Table: Experimental set up for running and stacking gel

Reagent	Running gel (15% T) (ml)	Stacking gel (4% T) (ml)
30% Acrylamid+0.8%bis-Acrylamid	4.4995	0.666
0.5M Tris-HCl	-	1.25
1.5M Tris-HCl	2.5	-
10% SDS	0.1	0.05
DI water	2.45	3.674
TEMED	0.005	0.005
20% Ammonium persulfate	0.05	0.025

### การรันตัวอย่าง

1. เตรียม และติดตั้งแผ่นกระจกที่บรรจุเจลเข้ากับกล่อง เติม Electode buffer ให้ท่วมแผ่นเจล
2. ดูดตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร ด้วย Micro syringe แล้วหยอดลงใน well ของแผ่นเจล
3. ทำเช่นเดียวกันกับ Protein standard marker และ Collagen type1 marker
4. ต่อกล่องติดตั้งเจลเข้ากับ Power supply ตั้งค่าการรันเท่ากับ 50V ใช้เวลาประมาณ 3-5 ชม. จนตัวอย่างวิ่งลงมาจนใกล้ขอบเจล

### การย้อมและการล้างแผ่นเจล

1. นำแผ่นเจลออกจากกระจกอย่างระมัดระวัง แล้วแช่แผ่นเจลใน Staining solution ข้ามคืน
2. เท Staining solution ออก แล้วเติม Destaining solution จนท่วมแผ่นเจล แช่นานประมาณ 3 ชม. หรือจนกว่าพื้นหลังของเจลใส

### ก8 วิธีวิเคราะห์ค่าการละลายของโปรตีน (Relative protein solubility) (Montero et al., 1991)

#### 1. สารสกัดหยาบเจลาติน (LG)

นำตัวอย่าง LG ปริมาตร 9 มล. ปรับค่ากรด-ด่าง ให้มีค่าเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มล. ด้วย LG จากนั้นคนเบาๆ อย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้อง ( $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 7,500 RPM เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lawry's และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่างที่ไม่ปรับค่ากรด-ด่าง

#### 2. สารสกัดเจลาตินผง

นำตัวอย่าง 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มล. และปรับค่ากรด-ด่างของ LG ให้มีค่าเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และ 0.1 โมลาร์ จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 10 มล. ด้วย LG จากนั้นคนเบาๆ อย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้อง ( $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 7,500 RPM เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lawry's และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่างที่ไม่ปรับค่ากรด-ด่าง

## การคำนวณ

$$\text{Relative protein solubility} = \left[ \frac{\text{ปริมาณโปรตีนในส่วนใส}}{\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่าง}} \right] \times 100$$

## ภาคผนวก ข การวิเคราะห์สมบัติกายภาพ

### ข1 วิธีวิเคราะห์อุณหภูมิการหลอมเหลวของเจลด้วยเทคนิค Differential Scanning Calorimeter (DSC) (ดัดแปลงจาก Badii & Howell, 2002).

1. ชั่งตัวอย่างเจล 8-9 มก. บรรจุในถ้วยสแตนเลส สำหรับวิเคราะห์ DSC แล้วปิดฝาถ้วยให้สนิท แล้ววางตัวอย่างในช่องใส่ตัวอย่างที่มีอุณหภูมิ 0°ซ
2. ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างตั้งแต่อุณหภูมิ 0 ถึง 130°ซ กำหนดอัตราการเพิ่มอุณหภูมินาทีละ 10°ซ (Cycle1) หลังจากนั้นลดอุณหภูมิลงมาที่ 0°ซ ในอัตรานาทีละ 10°ซ
3. ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างอีกครั้งโดยกำหนดอุณหภูมิ และอัตราการให้ความร้อนเช่นเดียวกับข้อ 2 (Cycle2)
4. ข้อมูลจะแสดง อุณหภูมิที่โมกุลส่วนใหญ่เสียดสภาพคือค่า Tm ส่วนอุณหภูมิที่โมเลกุลแรกเริ่มเสียดสภาพคือค่า To ส่วนพลังงานทั้งหมดที่ใช้ในการทำลายโครงสร้างคือพลังงานเอนทัลปี ซึ่งได้จากการคำนวณพื้นที่ใต้กราฟ

### ข2 วิธีวิเคราะห์ค่าความแข็งของเจล

1. **Bloom strength** ตามวิธี BSI 757:1975 (ดัดแปลงจาก BSI, 1975)
  - นำสารสกัดหยาบเจลาตินเหลว (LG) ทำให้เข้มข้นจนมีปริมาณเจลาติน เท่ากับร้อยละ 6.67 (น้ำหนักเปียก)
  - สารสกัดเจลาตินผง (AG และ SG) ละลายด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60°ซ เป็นเวลา 30 นาที โดยคำนวณปริมาณตัวอย่างให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับร้อยละ 6.67 (น้ำหนักเปียก)
  - นำสารละลาย LG, AG และ SG บรรจุในภาชนะเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 7 ซม. ความสูง 3.5 ซม. ขนาดบรรจุ 10 มล. ปิดฝาให้สนิท
  - นำสารละลายไปบ่มที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นเวลา 24 ชม.
  - นำเจลมาวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง TA.XT-Plus Texture Analyzer ใช้โหลดเซลล์ 5 กก. นิวตัน และต่อหัวกดเข้ากับ Cylindrical Teflon<sup>®</sup> ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ซม. ใช้ระยะเวลาการกด 4 วินาที (เจลไม่แตก) กำหนดอัตราเร็วในการกดเจลเท่ากับ 1 มม./วินาที

- ระหว่างการวิเคราะห์ให้เก็บรักษาเจลที่อุณหภูมิ 4°C ตลอดเวลา โดยแช่ในน้ำเย็น

## 2. Breaking strength

- เตรียมสารละลายสารสกัดหยาบเจลาติน และวิธีเตรียมเจลเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ Bloom strength
- นำเจลมาวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง TA.XT-Plus Texture Analyzer ใช้โหลดเซลล์ 5 กก. นิวตัน และต่อหัวกดเข้ากับ Cylindrical Teflon<sup>®</sup> ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ซม. ใช้ระยะเวลาการกดจนเจลแตก โดยกำหนดอัตราเร็วในการกดเจลเท่ากับ 1 มม./วินาที
- ระหว่างการวิเคราะห์ให้เก็บรักษาเจลที่อุณหภูมิ 4°C ตลอดเวลา โดยแช่ในน้ำเย็น

### ข3 วิธีวิเคราะห์ความหนาแน่นของผง (Bulk density) (Goula & Adamopoulos, 2004)

- บรรจุสารสกัดผงน้ำหนัก 2 กรัม ในกระบอกตวงขนาด 10 มล. เคาะกระบอกตวงด้วยมืออย่างแรง จนมีปริมาตรคงที่

$$\text{Bulk density} = \frac{\text{น้ำหนักของผง}}{\text{ปริมาตรในกระบอกตวง}}$$

### ข4 วิธีวิเคราะห์การไหลของอนุภาค (Flow ability) (ดัดแปลงจาก Shittu and Lawal, 2007)

- ชั่งน้ำหนัก AG และ SG ตัวอย่างละ 30 กรัม เเทลงในกรวยขนาด 250 มล. ที่ปิดด้านล่างด้วยสำลี แล้วปล่อยให้ผงไหลในแนวนอนโดยให้ปล่อยไหลจนความสูงของผงในกรวยมีปริมาณลดลงประมาณ 15 ซม. เมื่อวัดจากด้านบนของกรวย วัดมุมของกองที่เกิดขึ้น คำนวณเป็นอาร์กแทนเจนต์ของอัตราส่วนของความสูงกับรัศมีฐานของกอง

### ข5 วิธีวิเคราะห์ค่าสีของเจล (L\* a\* b\*) (Hunter Lab)

1. เตรียมสารละลายเจลาติน โดยใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมเจลเพื่อวิเคราะห์ค่า Bloom strength
2. นำสารละลายมาบรรจุในถ้วยแก้วขนาด 64 มม. (ถ้วยสำหรับวิเคราะห์ค่าสี)
3. นำสารละลายไปบ่มให้เกิดเจลที่อุณหภูมิ 4°C นาน 24 ชม.

- นำเจลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสี โดยใช้เครื่อง Hunter Lab (ColorFlex, Hunter Lab Inc., Reston, VA, USA) โดยที่วัดค่าในรูปแบบของ L\* (ความสว่าง) a\* (สีแดง/สีเขียว) b\* (สีเหลือง/สีน้ำเงิน)

#### ข6 วิธีคำนวณร้อยละผลผลิต (%Yield)

- นำหนังปลาทูน่าไปสกัดเจลาตินได้เป็นสารสกัดหยาบเจลาติน LG)
- นำสารสกัดมาวิเคราะห์ ปริมาณเจลาตินใน LG (แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก 6)
- นำปริมาณเจลาตินที่วิเคราะห์ได้ (น้ำหนักแห้ง) มาคำนวณ % Yield จากสมการ

$$\%Yield = [(CxV)/M] \times 100$$

โดยที่ C= ปริมาณเจลาตินใน LG (กรัมต่อมล.)

V= ปริมาตรทั้งหมดของ LG ที่สกัดได้ (มล.)

M= น้ำหนักหนังปลาเริ่มต้น (กรัม)