ภาคผนวก ก

ตารางผลการทดลอง

ตารางที่ ก-1 ปริมาณผลผลิตที่ได้ของเจลาตินหนังวัวปรับสภาพด้วยสารละลายต่างๆ

ระยะเวลาในการแช่ด่าง (ชั่วโมง)	ปริมาณผลผลิตที่ได้ (%)			
	NaOH 1.5%	NaOH 3.0%	$Ca(OH)_2$ 1.5%	$Ca(OH)_2$ 3.0%
8	$19.12^{f} \pm 0.12$	$27.89^{b} \pm 0.14$	$1.87^{q} \pm 0.37$	$2.51^{p} \pm 0.66$
16	$10.50^{k} \pm 0.08$	$20.97^{e} \pm 0.08$	$2.35^{p} \pm 0.31$	$3.27^{o} \pm 0.25$
24	$6.83^{l} \pm 0.05$	$16.72^{g} \pm 0.06$	$3.18^{o} \pm 0.28$	$3.95^{n} \pm 0.06$
32	$16.20^{h} \pm 0.05$	$31.10^{a} \pm 0.10$	$3.88^{n} \pm 0.13$	$6.51^{l} \pm 0.54$
40	$14.30^{i} \pm 0.10$	$25.82^{c} \pm 0.34$	$4.26^{n} \pm 0.37$	$4.28^{n} \pm 0.29$
48	$4.13^{n} \pm 0.06$	$24.98^{d} \pm 0.11$	$4.81^{m} \pm 0.24$	$4.81^{m} \pm 0.40$
56	$11.37^{j} \pm 0.03$	$24.84^{d} \pm 0.20$	$5.03^{m} \pm 0.16$	$6.56^{l} \pm 0.25$

หมายเหตุ: แสดงข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ ก-2 ความแข็งแรงเจลของเจลาตินหนังวัวปรับสภาพด้วยสารละลายต่างๆ

ระยะเวลาในการแช่ด่าง (ชั่วโมง)	NaOH		$Ca(OH)_2$	
	1.5%	3.0%	1.5%	3.0%
8	$4.26^{lmn} \pm 0.95$	$0.00^{n} \pm 0.00$	$8.89^{hijk} \pm 3.47$	$4.67^{klm} \pm 0.20$
16	$5.71^{jklm} \pm 1.11$	$3.31^{mn} \pm 0.16$	$7.89^{hijkl} \pm 2.76$	$6.82^{ijklm} \pm 0.43$
24	$14.11^{f} \pm 0.44$	$8.48^{hijkl} \pm 1.35$	$7.89^{hijkl} \pm 2.76$	$12.19^{fgh} \pm 1.64$
32	$46.01^{e} \pm 2.01$	$0.00^{n} \pm 0.00$	$51.01^{d} \pm 6.26$	$67.23^{b} \pm 4.50$
40	$123.87^{a} \pm 3.58$	$0.00^{n} \pm 0.00$	$58.19^{c} \pm 5.45$	$48.47^{de} \pm 4.52$
48	$5.90^{jklm} \pm 1.62$	$8.27^{hijkl} \pm 1.59$	$13.65^{fg} \pm 2.25$	$0.00^{n} \pm 0.00$
56	$10.67^{fghi} \pm 2.07$	$9.59^{ghij} \pm 5.34$	$11.90^{fgh} \pm 3.43$	$0.00^{n} \pm 0.00$

หมายเหตุ: แสดงข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ก-3 ความแข็งแรงเจลของเจลาตินที่สกัดได้ด้วยสารละลายกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่างๆ

เวลาในการสกัด (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นสารละลายกรดอะซิติก (โมลาร์)		
	0.05	0.10	0.15
3	$0.79^{s} \pm 0.00$	$0.74^{s} \pm 0.00$	$0.66^{s} \pm 0.00$
6	$13.10^{fghijk} \pm 0.01$	$10.10^{lmno} \pm 0.01$	$7.34^{opqr} \pm 0.01$
9	$12.39^{fghij} \pm 0.03$	$7.65^{pqr} \pm 0.03$	$5.40^{qr} \pm 0.02$
12	$15.45^{cdefgh} \pm 0.01$	$8.44^{opqr} \pm 0.03$	$6.12^{r} \pm 0.02$
15	$15.45^{cdefg} \pm 0.01$	$11.01^{jklmn} \pm 0.00$	$7.19^{opqr} \pm 0.04$
18	$13.00^{hijk} \pm 0.02$	$8.39^{opqr} \pm 0.02$	$7.95^{opqr} \pm 0.03$
21	$14.23^{efghi} \pm 0.00$	$7.90^{opqr} \pm 0.03$	$11.50^{jklm} \pm 0.01$
24	$8.74^{nop} \pm 0.00$	$10.30^{mnop} \pm 0.03$	$11.91^{klmn} \pm 0.03$
27	$15.50^{defgh} \pm 0.01$	$8.80^{nop} \pm 0.01$	$16.98^{cde} \pm 0.02$
30	$13.64^{ghijk} \pm 0.01$	$11.91^{jklm} \pm 0.02$	$17.23^{cde} \pm 0.03$
33	$11.88^{jklm} \pm 0.01$	$12.52^{ijkl} \pm 0.01$	$16.21^{cdef} \pm 0.01$
36	$9.94^{mnop} \pm 0.02$	$12.64^{ijkl} \pm 0.01$	$18.00^{bc} \pm 0.01$
39	$11.68^{jklm} \pm 0.01$	$11.04^{klmn} \pm 0.01$	$25.50^{ab} \pm 0.03$
42	$8.36^{mnop} \pm 0.02$	$14.00^{fghijk} \pm 0.02$	$21.49^{a} \pm 0.02$
45	$8.31^{opq} \pm 0.01$	$12.82^{ghijk} \pm 0.02$	$17.82^{cd} \pm 0.02$

หมายเหตุ: แสดงข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ ก-4 ความขุ่นของเจลาตินที่สกัดได้ที่ผ่านการแช่ถ่านกัมมันต์ที่เวลาต่างๆ

เวลาในการแช่ถ่านกัมมันต์ (ชั่วโมง)	ความขุ่น (%ความส่องผ่านของแสงที่ 620 นาโนเมตร)
0	$96.10^{a} \pm 0.20$
0.5	$97.80^{b} \pm 0.17$
1.0	$98.20^{b} \pm 0.50$
1.5	$97.97^{b} \pm 0.15$
2.0	$97.67^{b} \pm 0.21$
2.5	$98.27^{b} \pm 0.06$
3.0	$97.77^{b} \pm 0.55$

หมายเหตุ: แสดงข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ
เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ก-5 ลักษณะซอปชันไอโซเทอร์มของเจลาตินที่สกัดได้

ระดับความชื้นสัมพัทธ์ (%)	ปริมาณความชื้น (%)
11%	$0.91^{c} \pm 0.12$
22%	$0.92^{c} \pm 0.08$
32%	$1.47^{b} \pm 0.06$
43%	$2.21^{a} \pm 0.25$
52%	$2.31^{a} \pm 0.13$

หมายเหตุ: แสดงข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ ก-6 ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ของเจลาตินที่สกัดได้ระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (a_w)
0	$0.53^{a} \pm 0.00$
5	$0.46^{c} \pm 0.01$
10	$0.46^{c} \pm 0.01$
15	$0.44^{d} \pm 0.00$
25	$0.47^{c} \pm 0.00$
30	$0.49^{b} \pm 0.01$

หมายเหตุ: แสดงข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ
เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามแนวตั้ง ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์

ข-1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

อ้างอิง: AOAC (2000) (วิธีวิเคราะห์หมายเลขที่ 925.09B)

อุปกรณ์

1. ภาชนะสำหรับหาความชื้นพร้อมฝา (moisture can)
2. โถดูดความชื้น (desecrator)
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นพร้อมฝาในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนนำภาชนะดังกล่าวมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นและนำมาชั่งน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในภาชนะสำหรับหาความชื้น
3. อบภาชนะพร้อมตัวอย่างในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนนำมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นและนำมาชั่งน้ำหนัก
4. นำตัวอย่างไปอบและชั่งน้ำหนักซ้ำเช่นเดียวกันกับข้อ 3 จนได้ผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกัน ไม่เกิน 3 มิลลิกรัม
5. คำนวณผลวิเคราะห์ ดังสมการต่อไปนี้

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข-2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

อ้างอิง: AOAC (2000) (วิธีวิเคราะห์หมายเลขที่ 900.02A หรือ B)

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้อง (crucible)
2. โถดูดความชื้น
3. เตาเผา

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
2. ทิ้งไว้ให้เย็น ในโถดูดความชื้นก่อนนำมาชั่งเพื่อหาน้ำหนักที่แน่นอน
3. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้อง แล้วนำไปเผาในตู้ดูดควันจนหมดควัน
4. เผาถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างที่เผาไล่ควันแล้วในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นและชั่งน้ำหนักตามข้อ 2
5. คำนวณผลวิเคราะห์ ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา}} \times 100$$

ข-3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

อ้างอิง: AOAC (2000) (วิธีวิเคราะห์หมายเลขที่ 955.04C)

อุปกรณ์

1. หลอดย่อยโปรตีน
2. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร
3. บิวเรต (buret)
4. ชุดย่อยโปรตีน
5. ชุดกลั่นโปรตีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารเคมี

1. Kjedahl catalyst : ผสมโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) กับ คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) อัตราส่วน 9:1
2. กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 20% (น้ำหนัก/ปริมาตร)
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 40% (น้ำหนัก/ปริมาตร)
5. สารละลายไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
6. สารละลายกรดบอริก (H_3BO_3) ความเข้มข้น 2% (ปริมาตร/ปริมาตร)
7. สารละลายอินดิเคเตอร์: ผสมเมทิลเรด (methyl red) 0.1% (ในเอทานอล 95%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตรกับโบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) 0.2% (ในเอทานอล 95%) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้น้ำหนักประมาณ 1-2 กรัม ห่อตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ก่อนใส่ในหลอดย่อยโปรตีน เตรียม blankโดยกระดาษกรองเบอร์ 4 ที่ไม่ใส่ตัวอย่าง
2. เติม Kjedahl catalyst 5 กรัม และกรดซัลฟิวริก 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยโปรตีน
3. ต่อหลอดย่อยโปรตีนเข้ากับเครื่องย่อยโปรตีน ให้ความร้อนเพื่อย่อยจนตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีฟ้าและใส
4. ทิ้งไว้ให้เย็นและเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร
5. นำตัวอย่างไปกลั่นโดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 40% จนสารละลายตัวอย่างเป็นสีดำ นำตัวอย่างเข้าเครื่องกลั่นโดยรับไอระเหยด้วยสารละลายกรดบอร์ริกที่หยดสารละลายอินดิเคเตอร์ไว้แล้ว 2-3 หยด
6. นำสารที่กลั่นได้ไปไทเทรตด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.02 นอร์มอลจนเป็นสีชมพูอ่อน
7. อ่านปริมาตรกรดที่ใช้ แล้วคำนวณผลวิเคราะห์ ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \frac{(A-B) \times N \times 1.4007 \times F}{W} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.02 นอร์มาลที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.02 นอร์มาลที่ใช้ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มาล)

W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

F คือ แฟคเตอร์ สำหรับการแปลงปริมาณไนโตรเจนเป็นโปรตีน (Protein-Nitrogen conversion factor) (สำหรับเจลาตินจากวัว เท่ากับ 5.55)

ข-4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

อ้างอิง: AOAC (2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดก้นกลม สำหรับใส่ตัวทำละลาย ซอคเลต (soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)
3. ตู้อบลมร้อน
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

วิธีการ

1. อบขวดก้นกลมขนาดความจุ 250 มิลลิลิตรในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนนำมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นและนำมาชั่งน้ำหนัก (ทำซ้ำจนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งติดต่อกันสองครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม)

2. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักประมาณ 1-2 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่างปิดทับด้วยสำลี

3. นำตัวอย่างใส่ในซอคเลต จากนั้นเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลม วางบนเตาแล้วให้ความร้อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. สกัด 14 ชั่วโมง โดยควบคุมให้ปิโตรเลียมอีเทอร์ระเหยและควบแน่นหยดลงมาสกัดตัวอย่างด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

5. เมื่อครบเวลา นำหลอดตัวอย่างออกจากซอคเลต ระเหยปิโตรเลียมอีเทอมร์ในขวดก้นกลมด้วยเครื่องทำระเหยแบบสุญญากาศ

6. อบขวดก้นกลมในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียส จนตัวทำละลายแห้งก่อนนำมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นและนำมาชั่งน้ำหนัก (ทำซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งติดต่อกันสองครั้ง ไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม)

7. คำนวณผลวิเคราะห์ ดังสมการต่อไปนี้

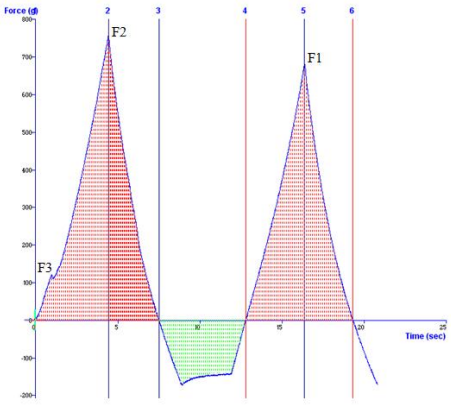
$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

ข-5 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยวิธี TPA

อ้างอิง: ตระกูล (2552)

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

นำเจลาตินผง 6.67% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ละลายในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นใส่สารละลายเจลาตินลงในถ้วยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 มิลลิเมตร สูง 15 มิลลิเมตร แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพจากกราฟที่ได้ (ภาพที่ ข-2) ด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer)



ภาพที่ ข-2 กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ TPA

ที่มา: ตระกูล (2552)

วิธีการคำนวณ

ค่าความเปราะของอาหาร = แรง ณ จุด F3 (ภาพที่ ข-2)

ค่าความแข็ง = แรง ณ จุด F2 (ภาพที่ ข-2)

ค่าการเกาะตัวกันของอาหาร = พื้นที่ใต้กราฟช่วง 3-4

ค่าความสามารถในการยึดเกาะกันภายในชิ้นอาหาร

= พื้นที่ใต้กราฟช่วง 4-6 / พื้นที่ใต้กราฟช่วง 1-3

พลังงานการบดเคี้ยวอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว

= ค่าความแข็ง × ค่าความสามารถในการยึดเกาะกันภายในชิ้นอาหาร

ค่าความยืดหยุ่นของอาหาร = ระยะเวลาช่วง 4-5 / ระยะเวลาช่วง 1-2

พลังงานการเคี้ยวอาหารแข็ง

= พลังงานการบดเคี้ยวอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว × ค่าความยืดหยุ่นของอาหาร

ข-6 การวิเคราะห์รูปแบบโปรตีน โดยวิธี SDS-PAGE

อ้างอิง: Laemmli (1970)

อุปกรณ์ ชุดอิเล็กโตรโฟรีซีสแบบมินิเจล

สารเคมี

1. 30% อะคริลาไมด์ (acrylamide)/บริส-อะคริลาไมด์ (bis-acrylamide) : ละลายอะคริลาไมด์ 29.2 กรัมและบริส-อะคริลาไมด์ 0.8 กรัมในน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่ 4 องศาเซลเซียส
2. สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 8.8
3. สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.8
4. สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ความเข้มข้น 10% (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)
5. สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ความเข้มข้น 5% (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)
6. ไอโซโพรพานอล (isopropanol)
7. สารละลายบัฟเฟอร์ตัวอย่าง (sample buffer) ประกอบด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1)	ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ (tris-HCl)	0.1514	กรัม
2)	กลีเซอรอล (glycerol)	2.5	มิลลิลิตร
3)	โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecrl sulfate)	0.25	กรัม
4)	โบรโมฟีนอลบลู	0.1	กรัม

นำมาละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร แล้วปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.8

8. electrode buffer ประกอบด้วย :

1)	ทริส-ไฮโดรคลอไรด์	3	กรัม
2)	ไกลซีน (glysine)	14.4	กรัม
3)	โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecrl sulfate)	1	กรัม

นำมาละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

9. catalyst ประกอบด้วย :
   1) สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้น 10%
   2) สาร TEMED (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine)
10. โปรตีนมาตรฐาน : pre-stained protein standard
11. สีย้อมโปรตีน : Coomassie Brilliant Blue R-250
12. staining solution : ละลาย Coomassie Brilliant Blue R-250 0.15 กรัมในเมทานอล 100 มิลลิลิตร คนจนละลายหมดเติมกรดแอซีติก 15 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 มิลลิลิตร
13. destaining solution : ผสมเมทานอล 100 มิลลิลิตร กรดแอซีติก 75 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

การเตรียม separating gel

1. ประกอบ Mini-gel apparatus (Bio-Rad, Mini Protein II) ตามวิธีประกอบ
2. ผสมสารละลายของเจล ดังนี้

น้ำกลั่น	4.05	มิลลิลิตร
1.5 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ ความเป็นกรด-ด่าง 8.8	2.5	มิลลิลิตร
30% อะคริลาไมด์/บริส-อะคริลาไมด์	3.3	มิลลิลิตร
10% SDS	100	ไมโครลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยผสมสารละลายต่าง ๆ ใน Sidearm flask หลังจากการ degas แล้ว 15 นาที ผสมสารละลาย APS และ TEMED เพื่อช่วยให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์ (polymerization)

10% APS	50	ไมโครลิตร
TEMED	5	ไมโครลิตร

3. ใช้พาสเจอร์ปิเปต (pasteur pipette) ดูดเจลใส่ลงช่องระหว่างแผ่นแก้วประมาณแผ่นละ 4.5 มิลลิลิตรหรือประมาณ 1.5 ถึง 2 เซนติเมตรจากขอบบนของแผ่นแก้วที่มีระดับต่ำกว่า (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ) อย่างรวดเร็วก่อนที่เจลจะแข็งตัว

4. ใช้พาสเจอร์ปิเปตอันใหม่ดูดสารละลายไอโซโพรพานอลหยดลงบนขอบเจล เพื่อปิดทับแผ่นเจล (หนาประมาณ 3 มิลลิเมตร)

5. ตั้งทิ้งไว้ 45-60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จะเห็นรอยต่อระหว่างเจลและสารละลายที่คลุมผิวเจลอยู่อย่างชัดเจน

6. เมื่อเจลแข็งตัวให้ดูดสารละลายไอโซโพรพานอลออกทันทีด้วยพาสเจอร์ปิเปต

7. ล้างส่วนบนของเจลด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งและซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง

การเตรียม stacking Gel

1. ผสมสารละลายของเจลและตั้งสารละลายไว้ 15 นาที

น้ำกลั่น	2.850	มิลลิลิตร
0.5 โมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.8	1.25	มิลลิลิตร
30% อะคริลาไมด์/บริส-อะคริลาไมด์	800	ไมโครลิตร
10% SDS	50	ไมโครลิตร

2. หลังจากนั้น ผสมสารละลาย APS และ TEMED

10% APS	25	ไมโครลิตร
TEMED	2.5	ไมโครลิตร

3. ซับตอนบนของแผ่น separating gel ให้แห้งด้วยกระดาษกรอง

4. ทำการดูด stacking gel ด้วยพาสเจอร์ปิเปต ใส่ลงตรงกลางลงมาตามด้านข้างของแผ่นประกอบเจล จนได้ความสูงของเจลในแผ่นแก้วประมาณ 3 เซนติเมตร

5. ค่อย ๆ สอดหวีเทฟลอน (teflon comb) ลงในชั้น stacking gel

6. ตั้งทิ้งไว้ 30-40 นาทีที่อุณหภูมิห้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างเจลาตินผงละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ตัวอย่างลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวก์ (microcentifuge)

2. นำหลอดไมโครเซนตริฟิวก์ต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที หรืออุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที (ถ้าตัวอย่างแห้งให้ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ตัวอย่างลงไปประมาณ 50-100 ไมโครลิตร) แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3. นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

4. เมื่อครบเวลา ดูดสารละลายส่วนที่ใสไปใช้

วิธีการวิเคราะห์

1. ประกอบชุดเจลอิเล็กโตรโฟรีซีสเข้าด้วยกัน

2. เติม electrode buffer ให้ท่วม chamber ด้านใน แล้วโหลดตัวอย่างที่เตรียมไว้ปริมาตร 10-15 ไมโครลิตรและ 3-5 ไมโครลิตร สำหรับสารโปรตีนมาตรฐาน

3. หลังจากนั้น เติม electrode buffer ให้เต็ม chamber ด้านนอก

4. ต่อชุดอิเล็กโตรโฟรีซีสเข้ากับ power supplier เปิดกระแสไฟฟ้า 30 mA (สำหรับเจลสองแผ่น) จนกระทั่งสีของโบรโมฟีนอลบลูเคลื่อนที่ลงมาจนเกือบสุดปลายกระจก จึงหยุดให้กระแสไฟฟ้า

5. ถอดแผ่นแก้วออกจากชุดเจลอิเล็กโตรโฟรีซีส

6. นำแผ่นเจลที่ได้ล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 2 ครั้งหรือจนกระทั่งฟิล์มใส

7. นำแผ่นเจลที่ได้ใส่ถาด staining solution เพื่อย้อมสีโปรตีน

8. เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารละลายประมาณ 45 นาที

9. ล้างด้วย destaining solution เขย่าเบาๆ ด้วยเครื่องเขย่าสารละลายจนกระทั่งฟิล์มใส

10. แช่ฟิล์มเก็บไว้ใน 1% สารละลายกรดแอซีติกในถุงพลาสติกใสบรรจุแบบสุญญากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข-7 การวิเคราะห์โลหะหนักด้วยวิธี atomic absorption spectroscopy (AAS)

อ้างอิง: ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยนเรศวร (2556)

อุปกรณ์ atomic absorption spectrophotometer

สารเคมี

1. สารละลาย Ca^{2+} มาตรฐาน 100 ppm โดยเตรียมจาก $CaCl_2 \times 2H_2O$ (MW = 146.98)

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลาย Ca^{2+} มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 30 ppm ในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร โดยเจือจางจากสารละลายมาตรฐาน 100 ppm Ca^{2+}

2. นำสารละลาย Ca^{2+} มาตรฐาน ทุกความเข้มข้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง AAS ที่เปิดเครื่องเครื่องและหลอด HCL ทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที ซึ่งได้ตั้งค่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ Calcium ไว้แล้ว

3. จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration graph) ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารละลาย Ca^{2+} มาตรฐาน

4. หาค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ โดยนำสารละลายที่เป็น Blank มาวัดค่าการดูดกลืนแสงทั้งหมด 20 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (detection limit)

5. คำนวณผลวิเคราะห์ ดังสมการต่อไปนี้

$$D.L. = \frac{3 \times SD_{blk}}{\text{ความชันของกราฟ}}$$

เมื่อ D.L. คือ detection limit

SD_{blk} คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดสัญญาณของ blank

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

ขั้นตอนการผลิตเจลาตินจากหนังวัว

1. หนังวัว (ภาพที่ ค-1) ที่ได้รับมาจากบริษัท แทนเนอรี่ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน) ถูกเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง (-18 องศาเซลเซียส)

(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ ค-1 หนังวัวเหลือทิ้งจากบริษัท ชัยวัฒนา แทนเนอรี่ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน)
(ก) หนังวัวชนิดกาวบี (ข) หนังวัวกาวซี (ค) หนังวัวกาวดำ

2. ล้างสิ่งสกปรกที่ติดมากับหนังด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด (ภาพที่ ค-2)

ภาพที่ ค-2 การล้างทำความสะอาดหนังวัวด้วยน้ำสะอาด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

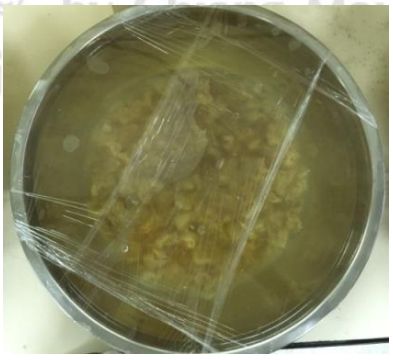
3. นำหนังวัวที่ผ่านการล้างทำความสะอาดมาตัดขนาด 2.5 x 2.5 เซนติเมตร (ภาพที่ ค-3)

ภาพที่ ค-3 การตัดแต่งหนังวัวเหลือทิ้งให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ

4. นำหนังที่ได้บรรจุและแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ในระหว่างรอศึกษาในขั้นตอนต่อไป (ภาพที่ ค-4)

ภาพที่ ค-4 การบรรจุและแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

5. ปรับสภาพหนังวัวด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.5% แช่เป็นระยะเวลา 40 ชั่วโมง (ภาพที่ ค-5)



ภาพที่ ค-5 การปรับสภาพหนังวัวด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. นำหนังวัวที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว เข้าสู่กระบวนการสกัดเพื่อให้ได้สารละลายเจลาติน (ภาพที่ ค-6) โดยใช้สารละลายกรดแอซีติกที่ความเข้มข้น 0.15 โมลาร์ ที่อุณภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมงด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ

ภาพที่ ค-6 การสกัดหนังวัวด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ

7. นำสารละลายเจลาตินได้ไป ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกรองด้วยกระดาษกรองและสำลี

ภาพที่ ค-7 การทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกรอง

8. นำสารละลายเจลาตินไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ภาพที่ ค-8 ทำให้สารละลายเจลาตินแห้งด้วยเครื่องอบลมร้อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

9. นำเจลาตินแผ่นที่ได้ (ภาพที่ ค-9) ไปปั่นหยาบจนได้เป็นเจลาตินผง

ภาพที่ ค-9 เจลาตินแผ่น

10. นำเจลาตินผง (ภาพที่ ค-10) ที่สกัดได้ไปศึกษาต่อไป

ภาพที่ ค-10 เจลาตินผง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ชื่อ-นามสกุล…..วันที่.....

ตัวอย่าง: ผลิตภัณฑ์เยลลี่น้ำผลไม้จากเจลาตินจากหนังวัว

คำชี้แจง: โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้ พร้อมทั้งให้คะแนนความชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่างในด้านลักษณะปรากฏ ได้แก่ สี ความใส กลิ่น ความอ่อนนุ่ม ความเหนียว ความยืดหยุ่นของเจลและความชอบโดยรวมต่อลักษณะที่กล่าวมา โดยมีเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

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

คุณลักษณะที่ประเมิน	รหัสตัวอย่าง	
สี		
ความใส		
กลิ่น (ไม่มีกลิ่น/กลิ่นแรง)		
ความอ่อนนุ่มของเจล		
ความเหนียวของเจล		
ความยืดหยุ่นของเจล		
ความชอบโดยรวม		

ข้อเสนอแนะ:

……

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวณัฐชนก ตลับเพชร	
วัน เดือน ปีเกิด	3 กันยายน 2533	
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2551	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมัธยมสาธิตมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก
	ปีการศึกษา 2555	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยนเรศวร
ทุนสนับสนุนงานวิจัย	ทุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และบริษัท ชัยวัฒนา แทนเนอรี่ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน) จังหวัดสมุทรปราการ	
ทุนที่ได้รับขณะศึกษา	ทุนนักศึกษาแลกเปลี่ยน โครงการ “2014 International Exchange and Educational Program for Food Safety and Manufacturing of Traditional foods” ณ มหาวิทยาลัยคากาว่า ประเทศญี่ปุ่น ปีการศึกษา 2556	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved