

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

เศษหนังวัวจากบริษัท ชัยวัฒนา แทนเนอรี่ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน) ซึ่งเป็นเศษหนังจาก 3 ประเภท คือ เศษหนังวัวดิบ เศษหนังวัวขาวซี และเศษหนังวัวดำ โดยเศษหนังแต่ละประเภทถูกแช่แข็งและบรรจุในกล่องจนวนกันความร้อนส่งมาที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นตัวอย่างหนังถูกล้างด้วยน้ำสะอาดจนกระทั่งได้หนังวัวที่ไม่มีเศษตะกอนหลงเหลืออยู่ บีบน้ำออก ทำให้สะเก็ดน้ำ ตัดหนังให้มีขนาด 2.5×2.5 เซนติเมตร และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. โถดูดความชื้น (dessicator)
2. เครื่องปั่น (blender) (HR2115, Philips, Thailand)
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (ULM500, Memmert, Germany)
4. เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (a_w) (Series 3, AQUA LAB, USA)
5. เครื่องวัดสี (chroma meter) (CR-410, Konica Minolta Sensing, Japan)
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) (Z206A, HermleLabortechnik, Germany)
7. เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (homogenizer) (T-50 digital Ultra-Turrax, IKA, Germany)
8. เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity meter) (CX3TE, AQUALAB, USA)
9. อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shacking water bath) (SV2945, Memmert, Germany)
10. เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) (TA.XT Plus, Stable Micro System, England)
11. เครื่องแยกสารด้วยไฟฟ้า (electrophoresis system) (PowerPac HCTM, Bio-Rad Laboratories, USA)

12. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) (GENESYS™ 10S UV Scanning, Thermo Scientific, Germany)
13. เครื่องวัดความหนืด (brookfield viscometer) (SVD-II+ Pro EXTRA, Brookfield Engineering Laboratories, USA)

3.3 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ภายนอก และสารเคมีที่ใช้สำหรับ SDS-PAGE เป็นสารเคมีเกรดวิเคราะห์ (analytical reagent grade: AR grade) และเจลาตินทางการค้าเกรดอาหาร (food grade) เป็นตัวอย่างควบคุม ดังต่อไปนี้

3.3.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

- 1) Potassium sulfate (K_2SO_4) (AR grade: QRëC, Malaysia)
- 2) Copper sulfate ($CuSO_4$) (AR grade: LobaChemie, Mumbai, India)
- 3) Sulfuric acid (H_2SO_4) (AR grade: QRëC, Malaysia)
- 4) Sodium hydroxide (NaOH) (AR grade: RCI Labscan, Thailand)
- 5) Hydrochloric acid (HCl) (AR grade: RCI Labscan, Thailand)
- 6) Boric acid (H_3BO_3) (AR grade: QRëC, Malaysia)
- 7) Methyl red (AR grade: QRëC, Malaysia)
- 8) Bromocresol green (AR grade: Sigma-Aldrich, Switzerland)
- 9) Petroleum ether (AR grade: RCI Labscan, Thailand)

3.3.2 สารเคมีสำหรับปรับสภาพหนังและสกัดเจลาติน

- 1) Sodium hydroxide (NaOH) (AR grade: RCI Labscan, Thailand)
- 2) Calcium hydroxide ($Ca(OH)_2$) (AR grade: LobaChemie, Mumbai, India)
- 3) Acetic acid (CH_3COOH) (AR grade: RCI Labscan, Thailand)

3.3.3 สารเคมีสำหรับ SDS-PAGE

- 1) Halal bovine gelatin (Food grade: Union Science, Thailand)
- 2) Bis-acrylamide (AR grade: Merck Millipore, Germany)
- 3) Pre-stained protein standard (AR grade: NOVEX, Germany)

- 4) Acrylamide (C_3H_5NO) (AR grade: LobaChemie, Mumbai, India)
- 5) Acetic acid glacial (CH_3COOH) (AR grade: RCI Labscan, Thailand)
- 6) Bromophenolblue (AR grade: LabChem, Zelienople, Pennsylvania)
- 7) Coomassie Brilliant Blue (AR grade: LabChem, Zelienople, Pennsylvania)
- 8) Sodium dodecyl sulfate ($NaCl_2H_{25}SO_4$) (AR grade: LobaChemie, Mumbai, India)
- 9) TEMED (N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine) (AR grade: Merck Millipore, Germany)

3.3.4 สารเคมีสำหรับซอร์ปชันไอโซเทอร์ม

- 1) Lithium chloride ($LiCl$) (AR grade: Ajax Finechem, Australia)
- 2) Potassium acetate (CH_3COOK) (AR grade: Ajax Finechem, Australia)
- 3) Magnesium chloride ($MgCl_2$) (AR grade: Ajax Finechem, Australia)
- 4) Potassium carbonate (K_2CO_3) (AR grade: Ajax Finechem, Australia)
- 5) Magnesium nitrate ($Mg(NO_3)_2$) (AR grade: Ajax Finechem, Australia)

3.4 วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเศษหนังชนิดต่างๆ

นำเศษหนังที่ได้รับจากบริษัท ชัยวัฒนา แทนเนอรั กู๊ป จำกัด (มหาชน) 3 ประเภท ได้แก่ หนังวัวชนิดกาวบี กาวซีและกาวดำ (ภาพที่ 3.1) มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมัน (AOAC, 2000) ดังแสดงในภาคผนวก ข-1, ข-2, ข-3 และ ข-4 ตามลำดับ



(ก)

(ข)

(ค)

ภาพที่ 3.1 หนังวัวเหลือทิ้งจากบริษัท ชัยวัฒนา แทนเนอรั กู๊ป จำกัด (มหาชน)

(ก) หนังวัวชนิดกาวบี (ข) หนังวัวกาวซี (ค) หนังวัวกาวดำ

หลังจากนั้นนำข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีที่ได้ทำการทดสอบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois) คัดเลือกหนังวัวที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมาะสมซึ่งเศษหนังควรมีปริมาณโปรตีนมาก ปริมาณไขมันน้อยเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกหนัง

ตอนที่ 2 การศึกษาการปรับสภาพหนัง

นำหนังวัวชนิดที่ได้รับคัดเลือกจากตอนที่ 1 มาศึกษาการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง โดยประยุกต์วิธีของ Imen *et al.* (2014) โดยศึกษาตัวแปรดังต่อไปนี้

- 1) ชนิดของสารละลายต่าง ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และ สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Ca(OH)₂)
- 2) ความเข้มข้นของสารละลายต่าง ได้แก่ 1.5% และ 3%
- 3) ระยะเวลาในการปรับสภาพ ได้แก่ 8, 16, 24, 32, 40, 48 และ 56 ชั่วโมง

นำหนังวัวและสารละลายต่างผสมกันที่อัตราส่วน 1 ต่อ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เมื่อครบตามระยะเวลาการปรับสภาพที่กำหนด ล้างหนังวัวด้วยน้ำเปล่า จากนั้นทำการสกัดหนังวัวด้วยสารละลายกรดแอสติกความเข้มข้น 0.15 โมลาร์ในอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยทำการเขย่าอย่างต่อเนื่อง (100 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำสารละลายเจลาตินให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เจลาตินแผ่นแล้วทำให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่น หลังจากนั้นนำเจลาตินผงวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ

- 1) ปริมาณผลผลิต (yield) สามารถคำนวณได้จากสมการ ดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณผลผลิต (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของเจลาตินแห้ง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักเปียกของหนังสด (กรัม)}} \times 100$$

- 2) ความแข็งแรงเจล (gel strength)

ความแข็งแรงเจลใช้วิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Zhou and Regenstein (2004) โดยทำการเตรียมสารละลายเจลาติน 6.67% (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยการละลายเจลาตินแห้งในน้ำกลั่นและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงในอ่างควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นใส่สารละลายเจลาตินลงในถ้วยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 มิลลิเมตร สูง 15 มิลลิเมตร แล้วนำไปเก็บไว้

ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ความแข็งแรงเจลถูกวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) โดยใช้หัววัดทรงกระบอกขอบโค้งสำหรับวัดเจล (หัววัด P/0.5R) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.7 มิลลิเมตร อัตราเร็วในการกด 0.5 มิลลิเมตรต่อวินาที และระยะทางในการกด 4 มิลลิเมตร วัดความแข็งแรงเจลจากแรงสูงสุดที่ใช้ในการกดเจล คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากปริมาณผลผลิตและความแข็งแรงเจลร่วมกัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลโดยใช้ ANOVA (analysis of variance) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$) โดยทดสอบความแตกต่างโดยวิธี One way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois)

ตอนที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเจลาติน

3.1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสิดิก

นำหนังวัวที่ผ่านขั้นตอนการปรับสภาพที่เหมาะสมในตอนต้นที่ 2 มาศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสิดิกที่เหมาะสม โดยศึกษาที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.05, 0.10 และ 0.15 โมลาร์ โดยผสมหนังวัวและสารละลายกรดแอสิดิกที่อัตราส่วน 1 ต่อ 4 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทำการสกัดเจลาตินและคัดเลือกระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายกรดแอสิดิกจากค่าความแข็งแรงเจล

3.2 การศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการสกัดเจลาติน

ศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการสกัดเจลาตินโดยใช้สารละลายกรดแอสิดิกที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการคัดเลือกในตอนต้นที่ 3.1 โดยใช้เทคนิค Response Surface Methodology (RSM) วางแผนการทดลองแบบ Central Composite Designs (CCD) เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัด (60-80 องศาเซลเซียส) และระยะในเวลากการสกัด (6-48 ชั่วโมง) ทดลอง 5 ซ้ำที่จุดศูนย์กลาง โดยระดับของปัจจัยแสดงในตารางที่ 3.1 และมีค่า α เท่ากับ 1.2 เพื่อทดสอบ pure error sum squares

ตารางที่ 3.1 ระดับของปัจจัยในแผนการทดลอง

ตัวแปร	สัญลักษณ์	ระดับ				
		$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	X_1	58	60	70	80	82
เวลา (ชั่วโมง)	X_2	1.8	6	27	48	52

นำหนังสือที่ผ่านขั้นตอนการปรับสภาพที่เหมาะสมในตอนต้นที่ 2 และใช้สารละลายกรดแอซิดิกที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการคัดเลือกในข้อตอนที่ 3.1 มาสกัดเจลาตินโดยใช้อัตราส่วนของหนังสือต่อสารละลายกรดแอซิดิก เท่ากับ 1 ต่อ 4 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยสกัดเจลาตินในอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่อุณหภูมิและเวลาที่กำหนด (ตารางที่ 3.2) โดยเขย่าอย่างต่อเนื่อง (100 รอบต่อนาที) เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำสารละลายผสมที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายเจลาตินที่ได้ไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อกำจัดตะกอนและสิ่งสกปรก หลังจากนั้นนำสารละลายเจลาตินที่ได้ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 ± 0.5 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เจลาตินแผ่นแล้วทำให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่น จากนั้นนำเจลาตินผงที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตและค่าความแข็งแรงเจล

ตารางที่ 3.2 แผนการทดลองเพื่อศึกษาสภาวะการสกัดเจลาตินจากหนังสือ

ลำดับ	สภาวะการสกัด	
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)
1	0 (70)	0 (27)
2	0 (70)	0 (27)
3	-1.2 (58)	0 (27)
4	0 (70)	+1.2 (52)
5	-1 (60)	+1 (48)
6	0 (70)	0 (27)
7	+1 (80)	+1 (48)
8	0 (70)	0 (27)
9	-1 (60)	-1 (6)
10	+1.2 (82)	0 (27)
11	0 (70)	-1.2 (1.8)
12	0 (70)	0 (27)
13	+1 (80)	-1 (6)

หมายเหตุ: ตัวเลขนอกวงเล็บเป็นตัวแปรรหัส (coded variable) ตัวเลขในวงเล็บเป็นตัวแปรจริง (actual variable)

หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโดยใช้โปรแกรม Design Expert โดยใช้สภาวะปริมาณผลผลิตที่ได้และความแข็งแรงเจลเป็นวิธีในการคัดเลือก ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ข้อมูลที่ใช้คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเจลาตินสกัดได้

ข้อมูลที่ใช้คัดเลือก	เป้าหมาย	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ความสำคัญ
ปริมาณผลผลิตที่ได้ (%)	สูงสุด	2.09	12.12	+
ความแข็งแรงเจล (กรัม)	สูงสุด	8.33	267.96	++
เวลา (ชั่วโมง)	ต่ำสุด	1.8	52.2	+++

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Design Expert (Stat-Ease, Inc., MN, USA) แบบจำลองที่ใช้ทำนายค่าตอบสนองเป็นสมการพหุนามกำลังสอง (Quadratic polynomial) ดังนี้

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1^2 + \beta_4 X_2^2 + \beta_5 X_1 X_2$$

โดยที่ Y เป็นค่าตอบสนอง, β_0 เป็นค่าคงที่, β_1 , β_2 , β_3 , β_4 และ β_5 เป็นสัมประสิทธิ์ของตัวแปรอิสระ, X_1 เป็นอุณหภูมิในการสกัด และ X_2 เป็นระยะเวลาในการสกัด

สกัดเจลาตินตามสภาวะที่เหมาะสม 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายเจลาตินอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เจลาตินแผ่นแล้วทำให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่นวิเคราะห์คุณภาพของเจลาตินผงที่ได้ด้านปริมาณผลผลิตและความแข็งแรงเจลเช่นเดียวกับการทดลองในขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากปริมาณผลผลิต ความแข็งแรงเจลและเวลาร่วมกัน

3.3 การศึกษาการลดความขุ่นของสารละลายเจลาติน

นำสารละลายเจลาตินที่ได้จากการขั้นตอนที่ 3.2 มาการศึกษาการลดความขุ่นของสารละลายเจลาติน โดยการศึกษาระยะเวลาในการแช่ถ่านกัมมันต์เป็น 6 ระดับ คือ 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 และ 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารละลายเจลาตินผ่านชั้นกระดาษกรอง ด้วยเครื่องทำสุญญากาศ (vacuum pump หรือ aspirator) กรองสารละลายลงในขวดลดความดัน (suction flask) ผ่านกระดาษกรอง (filter paper) และถ้ำลิบกรวยกรองแก้ว (buchner funnel) หลังจากนั้นนำสารละลายเจลาตินไปทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำเจลาตินผงที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพด้านความขุ่นด้วยวิธีของ Schrieber และ Gareis (2007) สารละลายเจลาตินความเข้มข้น 6.67% วัดค่าการส่องผ่านของแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร (% transmittance, %T_{620 nm}) ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ชั่วโมง นำข้อมูลที่ได้เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลและทดสอบความแตกต่างด้วยวิธี One way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P<0.05) ด้วยโปรแกรม SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois)

ตอนที่ 4 การศึกษาสมบัติของเจลาตินที่สกัดได้เปรียบเทียบกับเจลาตินทางการค้า

นำเจลาตินผงที่สกัดได้จากขั้นตอนที่ 3 มาศึกษาลักษณะทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ เปรียบเทียบกับเจลาตินผงทางการค้า (Union Science, Thailand) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลและทดสอบความแตกต่างโดยวิธี One way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$) ซึ่งมีวิธีวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

4.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (proximate analysis)

นำเจลาตินผงมาวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีโดยประมาณ ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมัน (AOAC, 2000) ดังแสดงในภาคผนวก ข-1, ข-2, ข-3 และ ข-4 ตามลำดับ

4.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

4.2.1 ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) และความขุ่น

สารละลายเจลาตินความเข้มข้น 6.67% ถูกเตรียมด้วยวิธีเดียวกับขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวัดความแข็งแรงเจล วัดค่าสี (L^* , a^* และ b^*) ด้วยเครื่องวัดสี (chroma meter) และค่าความขุ่นโดยวัดค่าการส่องผ่านของแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ($\%T_{620\text{nm}}$) ด้วยวิธีของ Schrieber และ Gareis (2007) ผ่านเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

4.2.2 ค่าความแข็งแรงเจล

วัดความแข็งแรงเจลที่เตรียมจากสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 6.67% เช่นเดียวกับการทดลองขั้นตอนที่ 2

4.2.3 ความหนืด (viscosity)

นำสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 6.67% วัดค่าความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer ด้วยหัววัด S18 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

4.2.4 สมบัติการเกิดโฟม (foaming properties)

วัดสมบัติการเกิดโฟมโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Aewsiri *et al.* (2008) สารละลายเจลาตินความเข้มข้น 2% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร โฮโมจีไนซ์ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ด้วยเครื่อง homogenizer ที่อุณหภูมิห้อง และถ่ายเทลงในกระบอกตวง ขนาด 250 มิลลิลิตรอย่างรวดเร็ว บันทึกปริมาณโฟมเริ่มต้น หลังจากนั้น 30 นาที บันทึกปริมาณโฟมที่เหลืออยู่ ความสามารถในการเกิดโฟม (foaming expansion, FE) และความเสถียรของโฟม (foaming stability, FS) สามารถคำนวณได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ความสามารถในการเกิดโฟม (FE)} = \frac{\text{ปริมาตรรวมหลังเกิดโฟม}}{\text{ปริมาตรรวมก่อนเกิดโฟม}} \times 100$$

$$\text{ความเสถียรของโฟม (FS)} = \frac{\text{ปริมาตรของโฟมหลังจากทิ้งไว้ 30 นาที}}{\text{ปริมาตรของโฟมเริ่มต้น}} \times 100$$

4.2.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

วัดค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (AOAC, 2000)

4.2.6 การวิเคราะห์รูปแบบเนื้อสัมผัส (texture profile analysis, TPA)

นำวุ้นเจลาตินความเข้มข้น 6.67% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 มิลลิเมตรสูง 15 มิลลิเมตร ทดสอบเนื้อสัมผัสแบบ TPA ด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) (ติดตั้งในภาคผนวก ข-5) ด้วยหัววัดอะลูมิเนียมเส้นผ่านศูนย์กลาง 36 มิลลิเมตร (P/36R) ความเร็วในการวัด 1 มิลลิเมตรต่อวินาที โดยการใช้การเปลี่ยนรูป (deformation) 30% วิเคราะห์ค่าเนื้อสัมผัส ได้แก่ ค่าความเปราะหรือความกรอบของอาหาร (fracturability) ค่าความแข็ง (hardness) ค่าการเกาะตัวกันของอาหาร (adhesiveness) ค่าความสามารถในการยึดเกาะกันภายในชิ้นอาหาร (cohesiveness) พลังงานการเคี้ยวอาหารแข็ง (chewiness) พลังงานการบดเคี้ยวอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว (gumminess) และค่าความยืดหยุ่นของอาหาร (springiness)

4.2.7 การแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE

การแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE (Leammler, 1970) ดังแสดงในภาคผนวก ข-6

4.3 การวิเคราะห์โลหะหนัก

วิเคราะห์โลหะหนักตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.799-2548) ได้แก่ สารหนู ตะกั่ว (AOAC, 2000) ดังแสดงวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ข-7

ตอนที่ 5 การศึกษาผลของความชื้นสัมพัทธ์และการเก็บรักษาต่อคุณภาพของเจลาตินผง

โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

5.1 การศึกษาลักษณะซอร์ปชันไอโซเทอร์ม (moisture sorption isotherm, MSI)

เตรียมสารละลายเกลืออิ่มตัวบรรจุในขวดโหลที่เป็นแก้วและปิดสนิทได้ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดสถานะอิ่มตัวและมีผลึกเกลือหลงเหลืออยู่ในสารละลาย หลังจากนั้นนำเจลาตินผงปริมาณ 2 กรัม บรรจุลงในถ้วยพลาสติกขนาด 4×3 เซนติเมตร วางไว้ในขวดโหล เพื่อให้เกิดการปรับสภาพสมดุลระหว่างตัวอย่างและสารละลายเกลือ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หาลักษณะซอร์ปชันไอโซเทอร์มของเจลาตินด้วยวิธีการวิเคราะห์โดยน้ำหนัก (gravimetric method) (Boonyai, 2007) ภายในสถานะความชื้นสัมพัทธ์แตกต่างกัน 5 ระดับ อยู่ในช่วงระหว่าง 0.11 ถึง 0.52 โดยใช้สารละลายเกลืออิ่มตัวชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.4 จนเจลาตินผงเข้าสู่สภาวะสมดุล (เมื่อชั่งน้ำหนักเจลาตินมีน้ำหนักคงที่ ไม่เพิ่มขึ้นหรือลดลงอีกต่อไป) จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

ตารางที่ 3.4 สารละลายเกลือที่ใช้สำหรับปรับระดับความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศ

สารละลายเกลือ	ค่า a_w ที่จุดอิ่มตัว
ลิเทียมคลอไรด์ (LiCl)	0.11
โพแทสเซียมอะซิเตต (CH_3COOK)	0.22
แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl_2)	0.32
โพแทสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3)	0.43
แมกนีเซียมไนเตรต ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$)	0.52

5.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ระหว่างการเก็บรักษา

นำตัวอย่างเจลาตินผงจากขั้นตอนที่ 3 ไปลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นบรรจุแบบสุญญากาศ โดยเก็บรักษาที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 5.1 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ (water activity meter) สุ่มตัวอย่างทุก 5 วัน เป็นเวลา 1 เดือน เพื่อศึกษาคุณภาพของเจลาตินผงระหว่างการเก็บรักษา

ตอนที่ 6 การศึกษาการประยุกต์ใช้เจลาตินจากหนังวัวในผลิตภัณฑ์เยลลีสลัมและการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำเจลาตินผงที่ได้และเจลาตินทางการค้าเป็นส่วนผสมในการผลิตภัณฑ์เยลลีสลัม โดยส่วนผสมที่ใช้ในการผลิต ได้แก่ เจลาติน 7% น้ำส้มทางการค้า 38% และน้ำตาลซูโครส 25% จากนั้นนำผลิตภัณฑ์วิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ได้แก่ ค่าสี ความขุ่น ความแข็งแรงเจล ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ และค่าความเป็นกรด-ด่าง หลังจากนั้นนำผลิตภัณฑ์เยลลีสลัมที่ได้จากการเตรียมโดยใช้เจลาตินที่ได้จากการศึกษามาทำการทดสอบสมบัติทางประสาทสัมผัส โดยให้ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสประเมินความชอบที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เยลลีสลัมด้านสี ความใส กลิ่นรส ความอ่อนนุ่มของเจล ความเหนียว ความยืดหยุ่นและความชอบ โดยรวม ด้วยวิธี 9-point hedonic scale test จากผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน (ไพโรจน์, 2535) โดยใช้ผลิตภัณฑ์เยลลีสลัมที่ผลิตจากเจลาตินทางการค้าเป็นตัวอย่างควบคุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved