

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลาบึก

ปลาบึก (Mekong Giant Catfish) หรือปลาไตรราช มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pangasianodon gigas* เป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก มีแหล่งอาศัยอยู่เฉพาะแม่น้ำโขง ตั้งแต่ประเทศจีน ลาว พม่า ไทย เรื่อยมาตลอดความยาวของแม่น้ำ รวมไปถึงแควสาขาต่าง ๆ เช่น แม่น้ำจิม แม่น้ำมูล แม่น้ำสงคราม ขนาดโตเต็มที่ยาวประมาณ 3 เมตร มีน้ำหนักมากกว่า 250 กิโลกรัม ปลาบึกเป็นปลาขนาดใหญ่ มีลำตัวขาวด้านข้างแบน หัวค่อนข้างเล็ก จะงอยปากสั้นทู่ ตามีขนาดเล็กและอยู่ในระดับเดียวกับมุมปาก มีหนวดสั้นมากมีอยู่ 2 คู่ ปากเล็ก ปลาวัยอ่อนจะมีพินอยู่บนขากรรไกรและกินปลาอื่นเป็นอาหาร เมื่อปลาเจริญวัยพินจะหลุดหายไป ลำตัวมีสีเทาปนดำบริเวณหลัง ด้านท้องได้แนวเส้นข้างตัวเป็นสีเหลือง ส่วนล่างสุดจะเป็นสีขาวเงิน มีรูปร่างเพรียวยาวแบนข้างเล็กน้อย ดังภาพที่ 2.1 (กรมประมง, 2552)



ภาพที่ 2.1 ปลาบึก (*Pangasianodon gigas*)

ที่มา: National Geographic Society (2550)

ปลาบึกเป็นปลาที่โตช้าและเป็นปลาที่ผู้อาศัยในเขตลุ่มแม่น้ำโขงนิยมนำมาใช้ประกอบอาหารสำหรับบริโภค จึงทำให้ปลาบึกในแม่น้ำโขงลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการส่งเสริมให้เกษตรกรในเขตพื้นที่ภาคเหนือและภาคอื่นๆ เพาะเลี้ยงปลาบึกในเชิงพาณิชย์ เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาและทดแทนการจับปลาบึกจากแม่น้ำโขงเพื่อการบริโภค ซึ่งปลาบึกที่มีขายในปัจจุบันนี้ส่วนใหญ่เกิดจากการผสมเทียม โดยกรมประมงสามารถผสมเทียมได้ทั้งในบ่อดิน และปัจจุบันสามารถเพาะได้ในบ่อปูนซีเมนต์ได้ด้วย และนำลูกปลางบางส่วนปล่อยไปในแหล่งน้ำหลายแห่ง เช่น เขื่อนบางลาง จังหวัดยะลา เขื่อนแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี เป็นต้น

ปลาบึกมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเนื้อปลาบึก 100 กรัม มีพลังงานทั้งหมด 71 กิโลแคลอรี โปรตีน 16.20 กรัม ไขมัน 0.50 กรัม และคาร์โบไฮเดรต 0.30 กรัม อีกทั้งยังมีวิตามินบี และบีตาแคโรทีนอีกด้วย ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการของปลาบึกแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อปลาบึกค่อน้ำหนัก 100 กรัม

รายการ	ปริมาณต่อ 100 กรัม
พลังงานทั้งหมด	71 กิโลแคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	0.30 กรัม
โปรตีน	16.20 กรัม
ไขมัน	0.50 กรัม
น้ำ	82.00 กรัม
วิตามิน A	2.00 RE
วิตามิน B1	0.03 มิลลิกรัม
วิตามิน B2	0.07 มิลลิกรัม
วิตามิน B3	1.90 มิลลิกรัม
วิตามิน C	-
บีตาแคโรทีน	10 ไมโครกรัม

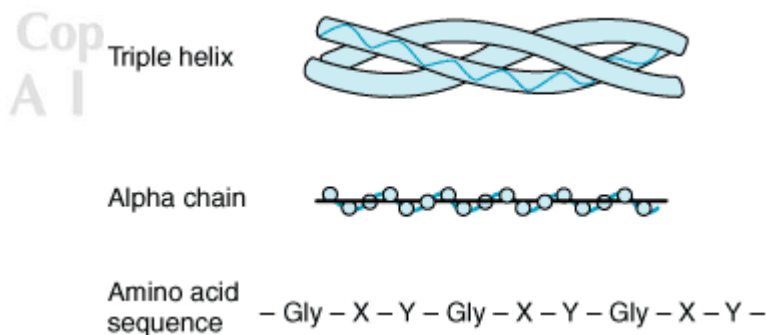
ที่มา: สำนักโภชนาการ กระทรวงสาธารณสุข (2559)

2.2 คอลลาเจน (Collagen)

คอลลาเจนเป็นโปรตีนธรรมชาติซึ่งเกิดขึ้นจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน พบมากในผิวหนัง กระดูก เส้นเอ็น และกระดูกอ่อน มีลักษณะเป็นเส้นใยเมื่ออยู่ในรูปของคอลลาเจนไฟเบอร์ (Collagen Fibers) เหนียวแต่ยืดไม่ได้ มีแรงต้านแรงดึงสูง คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่มีมากที่สุดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 40 ของโปรตีนทั้งหมดส่วนในปลาจะมีประมาณน้อยกว่า (Foegeding *et al.*, 1996; ตระกูล พรหมจักร, 2552)

คอลลาเจนเป็นโปรตีนรูปทรงกระบอกกลายหลอด ยาวประมาณ 300 นาโนเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 นาโนเมตร โครงสร้างของคอลลาเจนจะเป็นเกลียวสามสาย (Triple Helix) ของโพลีเปปไทด์ ซึ่งแต่ละสายเรียกว่า สายโซ่แอลฟา (α -chain) โดยทั้งสามสายจะบิดเป็นเกลียวเหมือนขดลวดเกือบทั้งสายยกเว้นส่วนปลายและเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน โดยแต่ละสายจะมีลักษณะวนซ้ำและมีกรดอะมิโน 3 ตัวต่อเกลียว 1 รอบและมีมวลโมเลกุลประมาณ 100 กิโลดาลตัน (Scrieber and Gareis, 2007) โมเลกุลคอลลาเจนจะเชื่อมต่อกันทั้งจากปลายและด้านข้าง ทำให้เกิดคอลลาเจนไฟเบอร์ ซึ่งอาจเรียงตัวขนานกันเพื่อให้เกิดความแข็งแรง หรือเรียงตัวเป็นแขนงและไม่เป็นระเบียบ (Foegeding *et al.*, 1996; ตระกูล พรหมจักร, 2552) โดยโครงสร้างของคอลลาเจนแสดงดังภาพที่ 2.2

การจัดเรียงของกรดอะมิโนในแต่ละสายมักมีลำดับของกรดอะมิโนเป็น $(\text{Gly-X-Y})_n$ (Gly = ไกลซีน) โดย X และ Y มักเป็นโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีน และการจัดเรียงกรดอะมิโน Gly-X-Pro หรือ Gly-X-Hypro (X = กรดอะมิโนอื่นๆ) โดยพบไกลซีนปริมาณมากที่สุดประมาณร้อยละ 33 ของกรดอะมิโนทั้งหมด พบโพรลีนร้อยละ 12 และไฮดรอกซีโพรลีนร้อยละ 11 (Scrieber and Gareis, 2007) โดยกรดอะมิโนส่วนใหญ่ที่พบในหนังปลา ได้แก่ ไกลซีน โพรลีน ไฮดรอกซีโพรลีน และอะลานีน (Ali *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2017)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของคอลลาเจน

ที่มา: Chhabra (2013)

ไกลซีนเป็นกรดอะมิโนที่มีขนาดเล็กที่สุด มีความสำคัญในโครงสร้างที่เป็นเส้นใยของคอลลาเจน ไกลซีนจะอยู่ในทุกๆ ตำแหน่งที่สาม เพราะการรวมตัวของสายเกลียวสามสายจะเก็บส่วนนี้ไว้ด้านใน (แกน) ของสายเกลียวเนื่องจากพื้นที่จำกัด ส่วนวงแหวนของโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนจะชี้ออกจากสายเกลียว อีกทั้งกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้จะช่วยให้หน่วยย่อยโพรโทคอลลาเจนเสถียรต่อความร้อน ซึ่งโพรลีนทำให้โครงสร้างเกลียวสามสายเสถียร โดยป้องกันการหมุนตัวของพันธะ N-C ส่วนไฮดรอกซีโพรลีนก็ช่วยทำให้โมเลกุลคอลลาเจนเสถียรมากยิ่งขึ้น คอลลาเจนที่มีปริมาณกรดอะมิโน (โพรลีนและและไฮดรอกซีโพรลีน) ต่ำ จะเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิต่ำกว่าคอลลาเจนที่มีกรดอะมิโนสูง พบว่าปริมาณกรดอะมิโนและความเสถียรต่อความร้อนของคอลลาเจนในปลามีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ (Foegeding *et al.*, 1996; ตระกูล พรหมจักร, 2552)

คอลลาเจนยังมีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบอีกด้วย ซึ่งอาจเป็นเล็กโทสหรือกาเล็กโทส เชื่อมต่อกับไฮดรอกซีไลซีนที่หมู่ไฮดรอกซิลของกรดอะมิโน เชื่อมต่อกับหมู่น้ำตาล (Glycosylation) และอัตราส่วนระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวกับน้ำตาลโมเลกุลคู่ขึ้นอยู่กับชนิดของคอลลาเจนและสภาวะทางสรีรวิทยา โดยหน้าที่ของคาร์โบไฮเดรตในคอลลาเจนนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อาจจะเกี่ยวข้องกับการรวมตัวเป็นไฟบริล (Fibril) ของโมเลกุลคอลลาเจนและการกำหนดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไฟบริล (Scrieber and Gareis, 2007)

ในปัจจุบันมีการระบุคอลลาเจนที่แตกต่างกันมากกว่า 29 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างของลำดับกรดอะมิโนและสมบัติทางชีวภาพ โดยคอลลาเจนชนิด I เป็นคอลลาเจนที่พบมากที่สุด ซึ่งพบในผิวหนัง เอ็น กระดูก และผนังหลอดเลือด (Sun *et al.*, 2017) โดยชนิดของคอลลาเจนที่พบมากแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ชนิดของคอลลาเจนที่พบมาก

ชนิด	ตำแหน่งที่พบ
I	ผิวหนัง กระดูก และเส้นเอ็น
II	กระดูกอ่อน
III	หลอดเลือด และลำไส้ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับอายุ
ชนิดอื่นๆ	ส่วนใหญ่จะพบในอวัยวะเฉพาะ

ที่มา: Scrieber and Gareis (2007)

2.3 เจลาติน

เจลาตินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเสียสภาพหรือการแตกสลายของคอลลาเจน ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผิวหนัง กระดูกและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของสัตว์ (Johnston-Banks, 1990) โครงสร้างของเจลาตินจะแตกต่างกับโครงสร้างของคอลลาเจนเพราะว่าเกลียวบางส่วนสามารถคืนรูปได้ (Duconseille *et al.*, 2015) เจลาตินสามารถก่อเจลร่วมกับน้ำ เกิดเป็นเจลที่ย้อนกลับได้ด้วยความร้อน (Thermally Reversible Gel) เจลาตินมีลักษณะเป็นแผ่น ชื่น หรือผงสีเหลืองอ่อน หรือสีเหลืองอำพัน ชื่อเสียของเจลาตินคือผลิตจากหนังหรือกระดูกสัตว์ ในขณะที่สารก่อเจลอื่นๆ เช่น สตาร์ช อัลจิเนต เพคติน วุ้น และการาจีแนน เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ได้มาจากพืช ซึ่งสารเหล่านี้ขาดสมบัติการละลายในปากและความยืดหยุ่นซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเจลาติน (Cole, 2000)

เจลาตินแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ เจลาตินชนิดเอ (Type A Gelatin) และเจลาตินชนิดบี (Type B Gelatin) โดยแบ่งตามการปรับสภาพที่เหมาะสมกับวัตถุดิบแต่ละชนิด เจลาตินชนิดเอ คอลลาเจนบางส่วนจะถูกไฮโดรไลซิสด้วยกรดและเจลาตินชนิดบี คอลลาเจนบางส่วนจะถูกไฮโดรไลซิสด้วยด่าง (Rowe, Sheskey and Quinn, 2009) ค่าความเป็นกรดด่างและจุดไอโซอิเล็กทริก (Isoelectric Point) ของเจลาตินชนิดเอ มีค่า pH 3.8-6.0 และ จุดไอโซอิเล็กทริก 6-8 ในขณะที่เจลาตินชนิดบีมีค่า pH 5.0-7.4 และจุดไอโซอิเล็กทริก 4.7-5.3 (Singh *et al.*, 2002)

2.3.1 โครงสร้างของเจลาติน

เจลาตินเป็นโปรตีนที่เป็นทั้งกรดและด่าง (Amphoteric Protein) มีจุดไอโซอิเล็กทริกอยู่ในช่วง 5 ถึง 8 ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบและวิธีการผลิต กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเจลาตินคล้ายกับกรดอะมิโนที่พบในคอลลาเจน ซึ่งเจลาตินเป็นสายพอลิเมอร์ของโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ มาต่อกันเป็นสายยาว ได้แก่ อะลานีน อาร์จินีน แอสปาดิกแอซิด ซีสเทอีน กลูตามิกแอซิด ไกลซีน ฮิสติดีน ไฮดรอกซีไลซีน ไฮดรอกซีโพรลีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมไทโอนีน ฟีนิลอะลานีน โพรลีน ซีรีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน ไทโรซีน และวาเลีน ซึ่งมีไกลซีนประมาณ 1 ใน 3 ของกรดอะมิโนทั้งหมด มีโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนสูง (Karim and Bhat, 2009)

เจลาตินที่สกัดจากปลาจะมีโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนน้อยกว่าเจลาตินที่สกัดจากหมู แสดงดังตารางที่ 2.3 จึงทำให้เจลาตินจากปลามีความหนืดหรือความแข็งแรงเจลดต่ำกว่าเจลาตินจากหมู เนื่องจากอะมิโนดังกล่าวจะมีองค์ประกอบของไฮโดรเจนจำนวนมาก ซึ่งจะส่งผลต่อการเกิดพันธะที่เกี่ยวข้องกับสมบัติดังกล่าว ดังนั้นวัตถุดิบที่ใช้ในการสกัดเจลาตินจะมีผลต่อสมบัติของเจลาติน (Karim and Bhat, 2009)

Haug, Draget and Smidsrød (2004) ศึกษาสมบัติทางรีโอโลยีของเจลาคินจากปลาเปรียบเทียบกับเจลาคินจากสัตว์เลื้อยคลาน พบว่ากรดอิมิโน (โพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีน) จะมีความสำคัญในการเกิดเจลและความแข็งแรงเจล เมื่อเจลาคินทั้งสองมีความแตกต่างกันของกรดอะมิโนกลุ่มดังกล่าวส่งผลให้มีสมบัติทางรีโอโลยีของทั้งสองเจลาคินแตกต่างกัน เจลาคินจากปลามีปริมาณโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนต่ำ ส่งผลให้ความแข็งแรงเจลต่ำ อุณหภูมิในการเกิดเจลและอุณหภูมิในการหลอมเหลวต่ำ เนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจนระหว่างกรดอะมิโนต่ำ โดยโครงสร้างของไฮดรอกซีโพรลีนและโพรลีน แสดงดังภาพที่ 2.3 (te Nijenhuis, 1997)

นอกเหนือจากองค์ประกอบของกรดอะมิโนแล้ว สมบัติของเจลาคินยังได้รับอิทธิพลจากการกระจายของน้ำหนักโมเลกุล โครงสร้าง และองค์ประกอบของหน่วยย่อยระหว่างเจลาคิน การแปลงคอลลาเจนไปเป็นเจลาคินนั้นจะทำให้เกิดโมเลกุลที่มีมวลแตกต่างกัน เนื่องจากพันธะโควาเลนต์ระหว่างสายโซ่แอลฟาถูกทำลายและการสลายตัวของพันธะเปปไทด์ในสายโซ่แอลฟา (Zhou, Mulvaney and Regenstein, 2006) เป็นผลให้เจลาคินที่ได้มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าคอลลาเจน และมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 80-250 กิโลดาลตัน (Poppe, 1997)

เจลาคินจากปลาและเจลาคินจากสัตว์เลื้อยคลานมีการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลอันเนื่องมาจากโครงสร้างคอลลาเจนและกระบวนการผลิต นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการแตกต่างกันของโอลิโกเมอร์ (Oligomers) ในสายโซ่แอลฟา อีกทั้งการไฮโดรไลซ์บางส่วน of สายโซ่แอลฟา จึงทำให้เกิดโมเลกุลที่มีน้ำหนักต่างกัน (Schrieber and Gareis, 2007) เมื่อคอลลาเจนถูกไฮโดรไลซ์ ทำให้โครงสร้างของเกลียวสามสายกลายเป็นสายโซ่แอลฟา 1 สาย และสายโซ่แอลฟา 2 สาย โดยสายโซ่แอลฟาแต่ละสาย มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 110 กิโลดาลตัน ซึ่งในบางครั้งสายโซ่แอลฟาเหล่านี้จะจัดเรียงตัวใหม่เป็นสายโซ่บีตา (β -chain) และ สายโซ่แกมมา (γ -chain) ซึ่งจะมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 200 กิโลดาลตันและ 300 กิโลดาลตัน ตามลำดับ โดย β -Chain และ γ -chain เกิดจากการเชื่อมกันของสายโซ่แอลฟา 2 สายหรือ 3 สาย ด้วยพันธะโควาเลนต์ ซึ่งจะแตกต่างจากโครงสร้างเกลียวสามสาย เนื่องจากพันธะที่เกิดจากการจัดเรียงตัวใหม่นี้จะมีความแข็งแรงกว่า (Guo et al., 2003)

ตารางที่ 2.3 กรดอะมิโนของเจลาตินจากหนังปลาชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับเจลาตินจากหนังหมู (residues/1000 total amino acid residues)

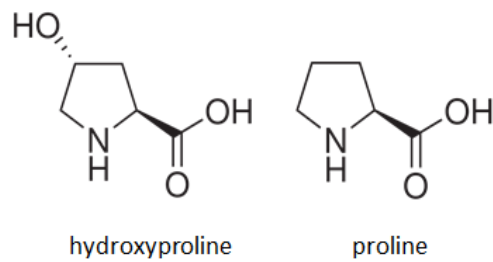
กรดอะมิโน	หนังปลา คอด ^a	หนังปลาอแลสกา พอลล็ค ^b	หนัง ปลาแซลมอน ^a	หนังปลา มีกริม ^a	หนังปลานิล ^c	หนังหมู ^d
Ala	96	108	119	123	123	112
Arg	56	51	54	54	47	49
Asx	52	51	49	48	48	46
Cys	0	0	—	—	0	0
Glx	78	74	74	72	69	72
Gly	344	358	331	350	347	330
His	8	8	10	8	6	4
Hyl	6	6	5	5	8	6
Hyp	50	55	59	60	79	91
Ile	11	11	9	8	8	10
Leu	22	20	23	21	23	24
Lys	29	26	28	27	25	27
Met	17	16	15	13	9	4
Phe	16	12	15	14	13	14
Pro	106	95	114	115	119	132
Ser	64	63	49	41	35	35
Thr	25	25	22	20	24	18
Trp	0	0	—	—	0	0
Tyr	3	3	4	3	2	3
Val	18	18	19	18	15	26
Imino acid	156	150	173	175	198	223

ดัดแปลงจาก: ^a Gómez-Guillén *et al.* (2002)

^b Zhou *et al.* (2006)

^c Sarabia *et al.* (2000)

^d Eastoe and Leach (1977)



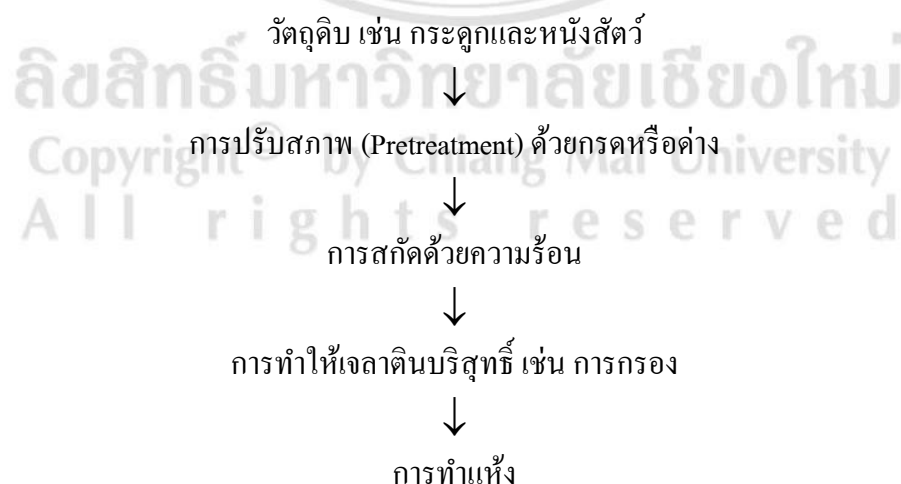
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของไฮดรอกซีโพรลีนและโพรลีน

ที่มา: Robin (2015)

2.4 กระบวนการสกัดเจลาติน

การแปลงคอลลาเจนเป็นเจลาตินที่สามารถละลายได้นั้น ทำได้โดยการให้ความร้อนแก่คอลลาเจนในกรดหรือด่าง ความร้อนจะทำให้คอลลาเจน (ในสารละลายกรดหรือด่าง) เกิดการสลายตัวของพันธะโควาเลนต์ภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลของคอลลาเจน นอกจากนี้พันธะเพปไทด์บางส่วนของคอลลาเจนจะถูกไฮโดรไลซ์ (Bailey and Light, 1989) กระบวนการสกัดอาจมีผลต่อความยาวของสายโซ่โพลีเพปไทด์และสมบัติของเจลาติน ซึ่งปัจจัยหลักที่มีผลต่อการสกัดเจลาติน ได้แก่ วัตถุดิบ การปรับสภาพ และกระบวนการสกัด (อุณหภูมิ เวลา และ pH) (Karim and Bhat, 2009)

กระบวนการผลิตเจลาตินประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้ คือ การปรับสภาพวัตถุดิบ การสกัดเจลาติน การทำให้บริสุทธิ์และการทำแห้ง ขั้นตอนการสกัดเจลาตินโดยสังเขปแสดงดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 ขั้นตอนการผลิตเจลาติน โดยสังเขป

คัดแปลงจาก: Schrieber and Gareis (2007)

2.4.1 การปรับสภาพวัตถุดิบ

คอลลาเจนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะละลายช้ามากแม้ในน้ำเดือด เนื่องจากคอลลาเจนมีพันธะเชื่อมต่อกันตามธรรมชาติ ดังนั้นก่อนการสกัดจึงจำเป็นต้องปรับสภาพวัตถุดิบเพื่อทำลายพันธะที่ไม่ใช่โคเวเลนต์ (Non-Covalent Bonds) และทำลายการจัดเรียงตัวของโปรตีน ซึ่งจะส่งผลให้โปรตีนพองตัว ดังนั้นจึงง่ายต่อการทำลายพันธะทั้งภายในและภายนอกโมเลกุลของคอลลาเจน การปรับสภาพวัตถุดิบนิยมใช้สารละลายกรดหรือด่างที่เจือจางมาก ซึ่งจะทำลายเฉพาะพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลส่วนการสลายพันธะภายในโมเลกุลของคอลลาเจนเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย (Gómez-Guillén *et al.*, 2009)

ระยะเวลาการปรับสภาพจะขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์ วัตถุดิบจากสัตว์ที่มีอายุมากต้องปรับสภาพนานกว่าสัตว์ที่มีอายุน้อย เนื่องจากพันธะที่เชื่อมต่อกับโมเลกุลคอลลาเจนของสัตว์ที่มีอายุมากจะแข็งแรงกว่าสัตว์ที่มีอายุน้อย นอกจากการปรับสภาพด้วยกรดและด่างแล้ว ยังสามารถใช้เอนไซม์ร่วมในการทำลายพันธะเชื่อมข้ามได้อีกด้วย โดยเอนไซม์ที่ใช้จะต้องเป็นคอลลาจีเนส (Collagenase) ชนิดพิเศษ เนื่องจากเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยทั่วไปไม่สามารถย่อยคอลลาเจนในรูปธรรมชาติได้ (Schrieber and Gareis, 2007)

การปรับสภาพวัตถุดิบที่ใช้โดยทั่วไป ได้แก่ การใช้สารละลายกรดหรือด่าง อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยไมโครเวฟและอัลตราซาวด์ ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับการปรับสภาวะด้วยวิธีดังกล่าวมีดังต่อไปนี้

1) การปรับสภาพด้วยกรดหรือด่าง

Gimenez *et al.* (2005) ได้เปรียบเทียบผลของกรดแลคติกและกรดอะซิติกต่อการสกัดเจลาตินจากหนังปลาลิ้นหมา พบว่าเมื่อปรับสภาพหนังปลาด้วยกรดแลคติก เข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ และกรดอะซิติก เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ จะให้ผลผลิตเจลาตินใกล้เคียงกัน รวมไปถึงองค์ประกอบของกรดอะมิโน การกระจายตัวของโมเลกุล ความแข็งแรงของเจลและความหนืด อย่างไรก็ตามเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดแลคติก เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ จะมีความแข็งแรงเจลและความหนืดต่ำกว่าเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดแลคติก เข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ เนื่องจากสามารถไฮโดรไลซ์คอลลาเจนได้ดีกว่า

Niu *et al.* (2013) ศึกษาผลของการปรับสภาพน้ำปลานิลด้วยกรดซิตริก กรดอะซิติก และกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.01-0.2 โมลาร์ ร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.3 โมลาร์ พบว่า ผลผลิตเจลาตินจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกรด โดยผลผลิตเจลาตินที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรด ไฮโดรคลอริกจะมีค่าสูงกว่ากรดอะซิติกและกรดซิตริกที่ความเข้มข้นเดียวกัน

2) การปรับสภาพด้วยไมโครเวฟ

ไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic Wave) ที่มีความถี่ระหว่าง 300 เมกะเฮิร์ต ถึง 300 จิกะเฮิร์ต ซึ่งอยู่ในรูปของพลังงานและถูกเปลี่ยนไปเป็นความร้อนโดยการ สั่นสะเทือนของอนุภาคที่มีประจุและ/หรือการหมุนตัวโมเลกุลที่มีขั้ว ทำให้เกิดการชนกับอนุภาค หรือโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียง ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังจากที่วัตถุได้รับคลื่นและมีการดูดซับพลังงานดังกล่าว ซึ่งส่งผลให้เกิดความร้อนขึ้น (Fellows, 2000)

Singh and Heldman (2001) รายงานว่าการเกิดความร้อนภายในวัตถุที่สัมผัสกับ คลื่นไมโครเวฟนั้นมีสาเหตุมาจากกลไก 2 ประการ ได้แก่ การเคลื่อนที่ของไอออนเมื่ออยู่ในสนามไฟฟ้า (Ionic Polarization) เมื่ออนุภาคที่มีประจุสัมผัสกับคลื่นไมโครเวฟ จะทำให้เกิดการสั่นและการเคลื่อนที่ จึงเกิดการชน (Collisions) หรือเสียดสีกับอนุภาคที่อยู่ข้างเคียง เป็นผลให้เกิดความร้อนขึ้นภายใน ซึ่งโดยทั่วไปเมื่อโมเลกุลของน้ำได้รับคลื่นไมโครเวฟจะเกิดการแตกตัวให้อิออนบวก (Cations) และอิออนลบ (Anions) ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยา (Interactions) กับสนามไฟฟ้าได้ และอีกประการหนึ่ง คือการหมุนของสารประกอบที่มีขั้ว (Dipole Rotation) น้ำเป็นโมเลกุลที่มีขั้ว (Polar Molecule) ซึ่งใน สภาพปกติจะเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ (Random Oriented) เมื่อผ่านสนามไฟฟ้ากระแสสลับเข้าไป ประจุบวกและลบในโมเลกุลจะหมุนตัวเพื่อเปลี่ยนทิศทางตามทิศของสนามไฟฟ้าสลับนั้นๆ โดยการ หมุนตัวกลับไปมาจะเกิดอย่างรวดเร็วตามความถี่ของไมโครเวฟ จึงทำให้เกิดความร้อนขึ้นและกระจาย ไปยังโมเลกุลข้างเคียงอันเนื่องมาจากการชนระหว่างโมเลกุลของน้ำ

Haihua and Jun (2009) ศึกษาการประยุกต์ใช้ไมโครเวฟร่วมในการสกัดเจลาติน จากหนังปลาปลาสดกึ่งพอลลีต พบว่าเมื่อใช้ไมโครเวฟร่วมในการสกัดจะทำให้ร้อยละของผลได้มีค่า เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Shin *et al.* (2010) ศึกษาการสกัดโปรตีนจากเส้นผมมนุษย์ พบว่าการใช้ไมโครเวฟ ในการสกัดช่วยให้ประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนจากเส้นผมเพิ่มขึ้น และ Li and Li (2012) ศึกษาการ ปรับสภาพหนังหมูก่อนการสกัดคอลลาเจนด้วยไมโครเวฟ พบว่าหนังหมูที่ผ่านการปรับสภาพก่อนการ สกัดด้วยไมโครเวฟจะมีอัตราการสกัดคอลลาเจนสูงกว่าหนังหมูที่ไม่ผ่านการปรับสภาพก่อนการสกัด ด้วยไมโครเวฟ รวมไปถึง Nguyen *et al.* (2017) ศึกษาผลของการใช้ไมโครเวฟเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ การทำงานของเอนไซม์เพื่อสกัดโปรตีนจากหนังปลาเรนโบว์เทราต์ เปรียบเทียบกับการให้ความร้อน

โดยทั่วไป พบว่าการใช้ไมโครเวฟสามารถเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายและการละลายของโปรตีนให้สูงขึ้น อีกทั้งยังเพิ่มความสามารถในการการละลาย การเกิดโฟม และสมบัติอิมัลชันของโปรตีนไฮโดรไลเซทอีกด้วย

3) การปรับสภาพด้วยอัลตราซาวด์

อัลตราซาวด์เป็นคลื่นทางกลที่มีความถี่เหนือระดับการได้ยินของมนุษย์ (มากกว่า 16 กิโลเฮิร์ต) ซึ่งคลื่นเหล่านี้จะเดินทางผ่านมวลสารของวัสดุหรือบนพื้นผิวด้วยความเร็วในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาวหรือคลื่นตามขวาง โดยสามารถแบ่งอัลตราซาวด์ออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ได้แก่ อัลตราซาวด์กำลังต่ำและความถี่สูง ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพเป็นส่วนใหญ่ และอัลตราซาวด์กำลังสูงและความถี่ต่ำ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและมักนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (Soria and Villamiel, 2010)

ผลกระทบจากอัลตราซาวด์ต่อระบบของเหลวส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับปรากฏการณ์คาวิเทชัน (Cavitation Phenomenon) โดยโครงสร้างของของเหลวที่ได้รับคลื่นอัลตราซาวด์จะถูกบีบอัด (Compress) และคลายตัว (Stretch) ซ้ำไปมาเป็นจำนวนหลายพันรอบจนทำให้เกิดฟองอากาศขึ้น และฟองอากาศที่เกิดขึ้นภายในของเหลวนี้อาจเกิดการสัมผัสกับแรงดันที่เกิดจากคลื่นอัลตราซาวด์เป็นระยะๆ จะเกิดการแตกเปลี่ยนแก๊สระหว่างกันเป็นผลให้ฟองอากาศมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งแตกออกในที่สุด (ภาพที่ 2.5) การระเบิดของฟองอากาศแบบคาวิเทชัน จะทำให้เกิดพลังงานความร้อนที่มีอุณหภูมิสูง (5000 เคลวิน) และความดันสูง (1000 atm) ซึ่งทำให้เกิดคลื่นและพลังงานที่มีแรงเฉือนสูง รวมทั้งสร้างความปั่นป่วนในเขตคาวิเทชัน ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ (แรงดัน ความร้อน และความปั่นป่วน) เป็นผลที่เกิดจากคลื่นอัลตราซาวด์ (Soria and Villamiel, 2010) อีกทั้งคลื่นอัลตราซาวด์จะทำให้โมเลกุลของน้ำเกิดการแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 1 ซึ่งอาจจะทำปฏิกิริยาและปรับเปลี่ยนโครงสร้างของโมเลกุลอื่นๆ ได้ (Riesz and Kondo, 1992)

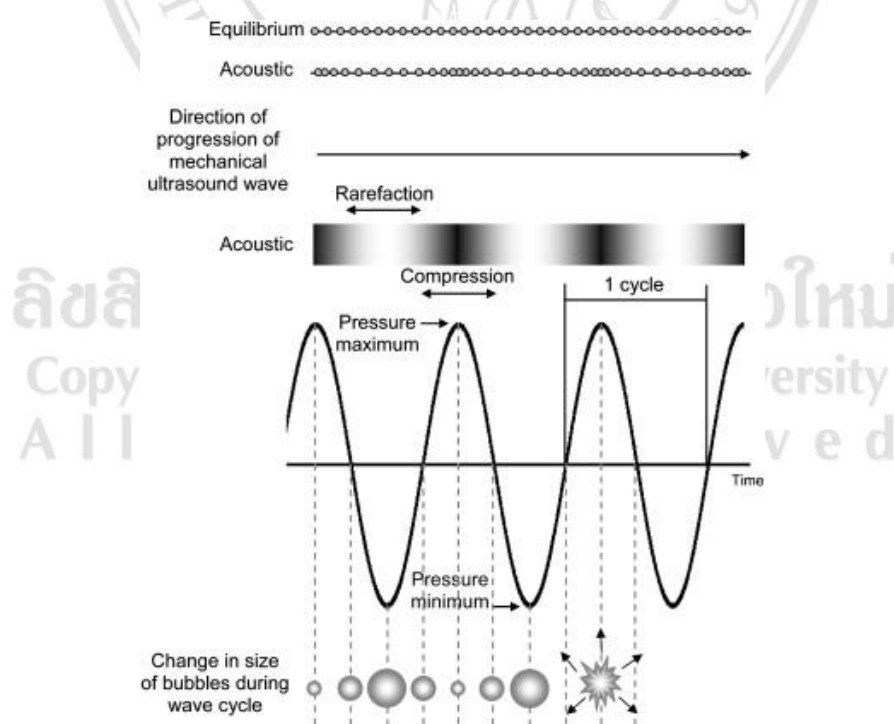


Tu *et al.* (2015) ศึกษาการสกัดเจลาตินจากหนังปลาหัวโตด้วยการให้ความร้อนวิธีทั่วไป (อ่างควบคุมอุณหภูมิ) เปรียบเทียบการให้ความร้อนด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ พบว่าการสกัดเจลาตินด้วยคลื่นอัลตราซาวด์จะให้ร้อยละของผลได้ของการสกัดเจลาตินสูงกว่าการให้ความร้อนแบบวิธีทั่วไปที่เวลาเดียวกัน เมื่อเวลาในการสกัดเจลาตินด้วยคลื่นอัลตราซาวด์เพิ่มขึ้น ร้อยละของผลได้ของการสกัดเจลาตินจะเพิ่มขึ้น แต่ความแข็งแรงเจลและจุดหลอมเหลวจะลดลง โดยเจลาตินที่สกัดได้จากทั้ง 2 วิธีจะมีโมเลกุลใกล้เคียงกัน (α -chain และ β -Chain)

Ran and Wang (2014) ศึกษาการใช้อัลตราซาวด์และเปปซินในการปรับสภาพมัดกล้ามเนื้อหัวใจเพื่อสกัดคอลลาเจนจากวัตถุติดเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเนื้อวัว พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาการปรับสภาพด้วยอัลตราซาวด์และเปปซินจะทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดคอลลาเจนเพิ่มขึ้น ในทางกลับกันเมื่อปรับสภาพด้วยเปปซินเพียงอย่างเดียวจะไม่ทำให้ประสิทธิภาพการสกัดคอลลาเจนเพิ่มขึ้น

Kim *et al.* (2013) ศึกษาประสิทธิภาพในการสกัดคอลลาเจนจากหนังปลากระพงขาวโดยใช้อัลตราซาวด์ร่วมในการสกัด พบว่าอัตราการสกัดของคอลลาเจนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการใช้อัลตราซาวด์และแอมพลิจูดเพิ่มขึ้น เนื่องจากการสลายตัวของโครงสร้างเกลียวสามสายของคอลลาเจน

Jambrak *et al.* (2008) ศึกษาการปรับปรุงสมบัติการละลายและการเกิดโฟมของเวย์โปรตีนด้วยอัลตราซาวด์ความถี่ 20 40 และ 500 กิโลเฮิร์ตซ์ เป็นเวลา 15 และ 30 นาที พบว่าการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ ความถี่ 20 และ 40 กิโลเฮิร์ตซ์ นาน 15 นาทีจะทำให้ความสามารถในการละลายของเวย์โปรตีนเพิ่มขึ้น เนื่องจากอัลตราซาวด์จะทำให้โครงสร้างของเวย์โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งทำให้กรดอะมิโนกลุ่มไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic) สามารถสัมผัสน้ำได้มากขึ้น อีกทั้งยังสามารถเพิ่มความสามารถในการเกิดโฟมและเสถียรภาพของโฟมได้อีกด้วย



ภาพที่ 2.5 ปรากฏการณ์คาวิตชัน (Cavitation Phenomenon)

ที่มา: Soria and Villamiel (2010)

2.4.2 การสกัดเจลาคติน

คอลลาเจนและเจลาคตินเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่มีรูปแบบต่างกัน การสกัดคอลลาเจนด้วยสารละลายกรดที่อุณหภูมิต่ำ จะทำให้คอลลาเจนละลายโดยไม่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างเกลียวสามสายของคอลลาเจน แต่หากใช้อุณหภูมิสูงขึ้นความร้อนจะสลายพันธะไฮโดรเจนและพันธะโควาเลนต์ เช่น พันธะเอไมด์ ทำให้ โครงสร้างเกลียวสามสายไม่เสถียรและเกิดการเปลี่ยนจากเกลียวเป็นก้อนกลม (Helix-to-Coil Transition) ได้เป็นเจลาคติน อย่างไรก็ตามบางตำแหน่งของเจลาคตินนั้นยังคงรูปร่างเป็นเกลียวขึ้นได้ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับจำนวน ของโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนในเจลาคติน (Cho *et al.*, 2006; Kolodziejska *et al.*, 2008)

ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการสกัดเจลาคตินมีดังนี้

1) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเจลาคตินจะต้องสูงกว่าอุณหภูมิที่ทำให้คอลลาเจนเสียสภาพ โดยคอลลาเจนจากโคและสุกรจะเสียสภาพที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส ส่วนคอลลาเจนจากปลาจะเสียสภาพที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส (Schrieber and Gareis, 2007)

Gómez-Guillén and Montero (2001) ได้รายงานว่าการสกัดเจลาคตินจากหนังปลาเพื่อให้ได้เจลาคตินที่มีความสามารถในการเกิดเจลสูงนั้น ขึ้นอยู่กับการปรับสภาพโดยใช้กรดอ่อนเพื่อในคอลลาเจนบวมและการสกัดเจลาคตินในน้ำที่มีอุณหภูมิปานกลาง (45 องศาเซลเซียส) เนื่องจากการสกัดเจลาคตินที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส (สูงกว่าอุณหภูมิของการเปลี่ยนจากเกลียวเป็นก้อนกลม) จะทำลายพันธะไฮโดรเจนและเกิดการสลายตัวของพันธะโควาเลนต์ซึ่งจะทำให้เกลียวเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นขดลวด ส่งผลให้เกิดเจลาคติน (Djabourov, Lechaire and Gaill, 1993)

Kittiphattanabawon *et al.* (2016) ศึกษาการสกัดเจลาคตินจากหนังปลาทราย โดยปรับสภาพหนังปลาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 โมล นาน 2 ชั่วโมง และปรับสภาพด้วยกรดอะซิติก เข้มข้น 0.05 โมล นาน 30 นาที จากนั้นนำหนังปลาที่ผ่านการปรับสภาพไปสกัดเจลาคตินที่อุณหภูมิ 45 65 และ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่า ผลผลิตเจลาคตินจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่ใช้สกัด แต่ความแข็งแรงเจล อุณหภูมิในการเกิดเจล ลดลงเมื่ออุณหภูมิที่ใช้สกัดเพิ่มขึ้น จึงแสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดเจลาคตินจากหนังปลาทราย

จากการศึกษาการสกัดเจลาตินจากปลาเกดโดยการปรับสภาพหนังปลา ด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 1.5 จากนั้นนำไปสกัดในสารละลาย pH 6 ที่อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าผลผลิตเจลาตินจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่ใช้สกัด แต่ความหนืดและความแข็งแรงของเจลของเจลาตินที่สกัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าสูงที่สุด เนื่องจากอุณหภูมิสูงจะทำให้ลายพันธะไฮโดรเจนและหมู่ไฮดรอกซิลของกรดอะมิโนอิสระ (Cho *et al.*, 2006)

ส่วนการศึกษาการสกัดเจลาตินจากปลาโคดโดยปรับสภาพหนังปลา ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์ นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 1 นาน 30 นาที และนำไปสกัดที่อุณหภูมิ 22, 45 และ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิและระยะเวลาดังกล่าวให้ผลผลิตเจลาตินไม่แตกต่างกัน โดยขนาดโมเลกุล อุณหภูมิก่อเจล อุณหภูมิหลอมเหลวเจล อุณหภูมิหลอมเหลว มอดูลัสสะสม และ ปริมาณอีลิกซ์ของเจลาตินที่สกัดที่อุณหภูมิ 22 และ 45 องศาเซลเซียส มีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่าที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เพียงพอต่อการสกัดเจลาตินจากปลาชนิดนี้ แต่เจลาตินที่สกัดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีสมบัติทางกายภาพลดลง เนื่องจากเกิดการไฮโดรไลซิสส่งผลให้สมบัติเหล่านั้นลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าสมบัติทางกายภาพที่ศึกษาแปรผันตามขนาดโมเลกุลของเจลาติน (Eysturskarð *et al.*, 2009)

2) pH ของสารละลายที่ใช้สกัด

การสกัดเจลาตินจากปลาโคดโดยใช้สารละลาย pH 4-9 ซึ่งปรับ pH ด้วย กรดไฮโดรคลอริกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง พบว่าค่า pH ของสารละลายและระยะเวลาการสกัดมีผลต่อผลผลิตและคุณภาพของเจลาตินที่สกัดได้ การสกัดเจลาตินที่ pH ต่ำจะทำให้ได้ผลผลิตเจลาตินสูงขึ้น แต่ความแข็งแรงและความสว่างของเจล สูงสุดที่ pH 6-7 ในขณะที่การเพิ่มระยะเวลาในการสกัดจะช่วยให้ได้ผลผลิตเจลาตินมากขึ้น แต่ความแข็งแรงและความสว่างของเจลไม่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการสกัด โดยความแข็งแรงและความสว่างของเจลาตินจะเพิ่มขึ้นในช่วงแรก แต่เมื่อสกัดเจลาตินนานเกินไปจะทำให้โมเลกุลของคอลลาเจนถูกไฮโดรไลซ์ส่งผลให้ความแข็งแรงของเจลลดลง (Cho *et al.*, 2006)

นอกจากนี้ Weng, Zheng, and Su (2014) ได้ศึกษาการสกัดเจลาตินจากหนังปลานิลโดยใช้สารละลาย pH 3, 5, 7 และ 9 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณไกลซีนและโพรลีนของเจลาตินที่สกัดในสารละลาย pH ดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกัน

แต่ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ของสารละลายในการสกัดเพิ่มขึ้น และอุณหภูมิในการเกิดเจลลดลงเมื่อ pH ของสารละลายในการสกัดเพิ่มขึ้น

3) ระยะเวลาในการสกัด

Kittiphattanabawon *et al.* (2016) ศึกษาการสกัดเจลาตินจากหนังปลากราย โดยปรับสภาพหนังปลาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 โมล นาน 2 ชั่วโมง และปรับสภาพด้วย กรดอะซิติก เข้มข้น 0.05 โมล นาน 30 นาที จากนั้นนำหนังปลาที่ผ่านการปรับสภาพไปสกัดเจลาติน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าผลผลิตเจลาตินจะเพิ่มขึ้นตามเวลา ที่ใช้สกัด แต่ขณะเดียวกันความแข็งแรงจะลดลงตามเวลาที่ใช้สกัดเช่นกัน

Cho *et al.* (2006) ได้ศึกษาการสกัดเจลาตินจากปลาโคโดยใช้สารละลาย pH 6 สกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-6 ชั่วโมง พบว่าการสกัดเป็นระยะเวลานานทำให้ ผลผลิตของเจลาตินมากขึ้นโดยที่ความหนืดและความแข็งแรงของเจลลดลงไม่มากนัก

2.4.3 การทำให้เจลาตินบริสุทธิ์

การทำให้ใสและการกรอง

ขั้นตอนแรกในการทำให้บริสุทธิ์คือการใช้เครื่องแยกประจุที่มีประสิทธิภาพสูง เพื่อแยกสารละลายเจลาตินออกเป็น 3 เฟส ได้แก่ ของแข็งที่ไม่ละลาย สารละลายเจลาติน และไขมัน หลังจากผ่านเครื่องแยกแต่สารละลายเจลาตินยังไม่ใสเท่าที่ควร จึงต้องนำไปผ่านการกรองด้วย แผ่นกรองเซลลูโลส (Diatomaceous Earth, Perlite) หรือ ไมโครฟิวเตรชัน (Microfiltration) แทนการกรองหรือหมุนเหวี่ยงได้ (Schieber and Gareis, 2007)

การตกตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอลและอะซิโตน จะไปลดค่ากิจกรรมของน้ำโดยมีผลต่อ ค่าคงที่ไดอิเล็กตริก (Dielectric Constant) ของสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายลดลง ส่งผลให้ ความสามารถในการเป็นตัวทำละลายของน้ำลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอินทรีย์ มากขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดที่แรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนมากกว่าแรงกระทำระหว่างโปรตีนกับน้ำ จะทำให้เกิดการรวมตัวกันของโมเลกุลโปรตีนและตกตะกอนลงมาได้ ซึ่งวิธีการตกตะกอน โดยตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถใช้ตกตะกอนเอนไซม์หรือโปรตีนที่เป็นกลุ่มแต่ไม่สามารถ ตกตะกอนโปรตีนออกมาได้เลย เพียงชนิดเดียวได้ เนื่องจากสมบัติของโปรตีนไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน (Scopes, 1994)

2.4.4 การทำให้แห้ง

เนื่องจากเจลลาตินมีจุดหลอมเหลวต่ำ จึงไม่สามารถอบแห้งด้วยลมร้อนได้โดยตรง ลมที่ใช้ในกระบวนการอบแห้งต้องเป็นลมที่สะอาดและปราศจากความชื้น เมื่อเริ่มต้นความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ มีค่าเท่ากับร้อยละ 10-15 อุณหภูมิของลม เท่ากับ 30 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิของลมจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามอัตราความแห้งของเจลลาตินเพื่อให้อากาศสามารถเก็บไอน้ำได้มากขึ้น เมื่อสิ้นสุดกระบวนการอบแห้ง ลมร้อนจะมีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เจลาตินที่ได้จะมีความชื้นประมาณร้อยละ 10 จากนั้นจึงนำไปอบให้เป็นผง (Schrieber and Gareis, 2007)

2.5 สมบัติของเจลลาติน

2.5.1 การละลายน้ำ

เจลลาตินสามารถละลายได้เพียงเล็กน้อยในน้ำเย็น อย่างไรก็ตามเมื่อคนเจลลาตินแห้งในน้ำเย็น เจลาตินจะดูดน้ำและพองตัว โดยสารละลายผสมดังกล่าวควรมีเจลลาตินไม่เกินร้อยละ 34 เมื่อนำไปให้ความร้อนที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เจลาตินจะหลอมเหลวเกิดเป็นสารละลายเนื้อเดียว อีกวิธีหนึ่งในการละลายเจลลาติน คือคนเจลลาตินแห้งในน้ำร้อนและคนตลอดเวลาจนกระทั่งได้สารละลายที่เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งวิธีนี้นิยมใช้เตรียมสารละลายเจลลาตินที่มีความเข้มข้นไม่สูงมากนัก (Cole, 2000)

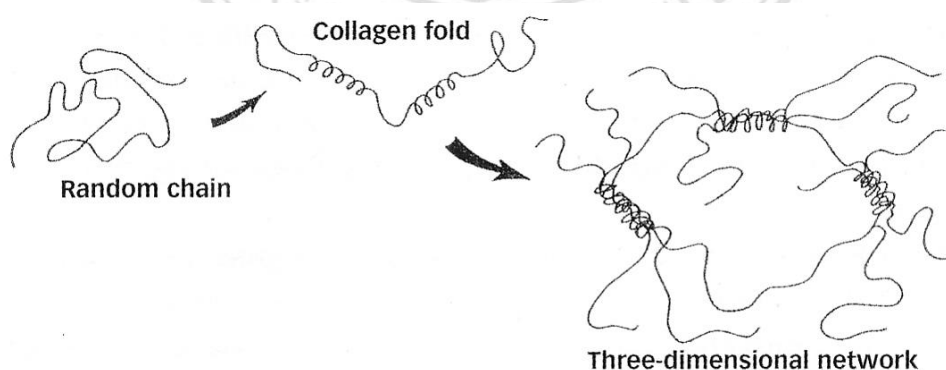
เจลลาตินที่ได้จากทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Drying) หรือแบบลูกกลิ้ง (Drum Drying) จะสามารถละลายได้ในน้ำเย็นและจะเกิดเป็นเจลอย่างรวดเร็ว ดังนั้นเจลลาตินชนิดนี้จึงมักใช้ทำพุดดิ้งนมหรือผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการความใส อีกทั้งยังสามารถผสมสารละลายเจลลาติน (ในน้ำ) กับแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ไฮดรอกซีหลายหมู่ (Polyhydric Alcohols) เช่น กลีเซอรอล โพรพิลีน ไกลคอล ซอร์บิทอล เป็นต้น เพื่อปรับปรุงความแข็งของฟิล์มจากเจลลาติน (Cole, 2000)

ในผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นน้อย เช่น ลูกกวาด ซึ่งจะมีสารอื่นที่แย่งน้ำกับเจลลาติน เช่น กลูโคสไซรัป ทำให้เจลลาตินตกตะกอนและเกิดความขุ่น ซึ่งในกรณีนี้ความสามารถในการละลายของเจลลาตินจะขึ้นอยู่กับประจุของโมเลกุลโปรตีนหรือ pH ของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นหากผลิตภัณฑ์มี pH ห่างจากจุดไอโซอิเล็กทริกของเจลลาตินมากเท่าใด ความสามารถในการละลายของเจลลาตินก็จะมากขึ้นเท่านั้น (Cole, 2000)

2.5.2 การเกิดเจล

เจลาตินเป็นสารผสมของสายพอลิเมอร์ที่มีความยาวแตกต่างกัน เมื่อละลายน้ำจะเป็นสารละลายคอลลอยด์ (Colloidal Solution) หรือซอล (Sol) ในสถานะที่เย็นซอลจะเปลี่ยนเป็นเจลและเมื่อทำให้อุ่นขึ้นก็จะกลับเป็นซอลอีกครั้ง กระบวนการก่อเจลที่ย้อนกลับได้อย่างไม่จำกัดในเชิงทฤษฎีถือว่าเป็นสมบัติที่สำคัญที่สุดของเจลาติน ไฮโดรคอลลอยด์อื่นๆ เช่น อัลจิเนต คาราจีแนน หรือ เพคติน สามารถก่อเจลได้เช่นกัน แต่การก่อเจลของสารเหล่านี้ไม่สามารถย้อนกลับได้ หรือย้อนกลับได้อย่างจำกัด (Schrieber and Gareis, 2007)

สารละลายเจลาตินเจือจางเป็นของไหลแบบนิวโตเนียน โมเลกุลของเจลาตินอยู่ในรูป random coil แต่เมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง โมเลกุลของเจลาตินจะเริ่มขดตัวคล้ายกับการขดตัวของคอลลาเจน เมื่อสารละลายเจลาตินเย็นลง โมเลกุลของเจลาตินจะเริ่มเคลื่อนที่และจับตัวกันเป็นกลุ่มก้อนขนาดเล็ก เมื่ออุณหภูมิลดลงจนถึงจุดก่อเจล โมเลกุลของเจลาตินจะจับตัวกันมากขึ้นจนเกิดเป็นโครงสร้างสามมิติ (ภาพที่ 2.6) ส่งผลให้พันธะระหว่างโมเลกุลคงตัวมากขึ้น โดยพันธะหลักที่เกี่ยวข้องกับการจับตัวกันของโมเลกุลเจลาตินคือพันธะไฮโดรเจน ส่วนพันธะไฮโดรโฟบิกและพันธะไอออนิก (Electrostatic Interaction) มีผลเล็กน้อย เจลที่เกิดขึ้นมีสมบัติแบบหยุ่นหนืด (Viscoelastic) และการเปลี่ยนเฟสระหว่างซอลและเจลนี้เรียกว่า “Sol-Gel Transition” (Schrieber and Gareis, 2007)



ภาพที่ 2.6 การเกิดเจลของเจลาติน (เปลี่ยนจากซอลเป็นเจลระหว่างการทำให้เย็น)

ที่มา: Schrieber and Gareis (2007)

ค่าความแข็งแรงเจล หรือค่าบลูม (Bloom Value) เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถในการเกิดเจลของเจลาติน ค่านี้เป็นแรงในหน่วยกรัม โดยทั่วไปเจลาตินจะมีค่าบลูมในช่วง 50-300 กรัม เจลาตินที่มีค่าบลูมสูงจะมีหลอมเหลวและจุดเกิดเจลสูง ใช้เวลาในการเกิดสั้น อีกทั้งยังสีอ่อนและ มีกลิ่นรสที่ดีกว่าเจลาตินที่มีค่าบลูมต่ำ นอกจากนี้ความสามารถในการเกิดเจลสูงยังหมายถึงการใช้ ปริมาณเจลาตินที่น้อยลงเพื่อให้ได้เจลที่มีความแข็งแรงเท่ากันอีกด้วย (Schrieber and Gareis, 2007)

การทดสอบความแข็งแรงของเจลนี้จะต้องทำตามวิธีที่ใช้ทดสอบอย่างเคร่งครัด เนื่องจากความแข็งแรงของเจลขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเจลาติน ดังนั้นจึงต้องชั่งเจลาตินและตวงน้ำ ให้ถูกต้อง ภาชนะบรรจุตัวอย่างจะต้องมีรูปร่างตามที่กำหนด การละลายเจลาตินจะต้องทำที่อุณหภูมิ ไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 50-55 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 20 นาที การสูญเสีย น้ำระหว่างการให้ความร้อนนี้อาจทำให้ความเข้มข้นของเจลาตินเพิ่มขึ้นและส่งผลต่อค่าบลูมอีกด้วย ดังนั้นจึงต้องปิดภาชนะบรรจุตัวอย่างระหว่างการละลาย นอกจากนี้ต้องระวังไม่ให้เกิดฟองระหว่างการเตรียมตัวอย่าง การเกิดเจลจะต้องทำตามสภาวะมาตรฐานเนื่องจากกระบวนการก่อเจลเกิดขึ้นอย่าง ช้าๆ ดังนั้นการทำให้เย็นอย่างรวดเร็วจะทำให้ค่าบลูมลดลงประมาณร้อยละ 10 ความแข็งแรงของเจล จะเพิ่มขึ้นระหว่างการบ่มเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง หลังจากนั้นความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้นเพียง เล็กน้อย อุณหภูมิและระยะเวลาการบ่มจึงส่งผลต่อค่าที่วิเคราะห์อย่างมาก ดังนั้นจึงนิยมทิ้งให้ เจลแข็งตัวในอ่างน้ำเย็นอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส (Schrieber and Gareis, 2007)

โดยทั่วไปเจลาตินที่มีมวลโมเลกุลต่ำจะมีความแข็งแรงของเจลและความหนืดต่ำ อย่างไรก็ตาม สายโซ่แอลฟาซึ่งมีมวลโมเลกุลประมาณ 100 กิโลดาลตัน และให้ความแข็งแรงของเจล เท่ากับ 364 กรัม ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สัมพันธ์กับความแข็งแรงของเจลมากที่สุด ในขณะที่โมเลกุล ขนาดใหญ่กว่า เช่น สายโซ่บีตา มีมวลโมเลกุลประมาณ 200 กิโลดาลตัน และสายโซ่แกมมา มีมวลโมเลกุลประมาณ 300 กิโลดาลตัน ตลอดจนไมโครเจล (Microgel) ที่มีมวลโมเลกุลมากกว่า 300 กิโลดาลตัน พบว่ามีความสัมพันธ์กับความแข็งแรงของเจลเพียงเล็กน้อยแต่มีความสัมพันธ์อย่างมาก กับค่าความหนืดของเจลาติน (Cole, 2000)

2.5.3 ความหนืด

ความหนืดเป็นสมบัติที่สำคัญอันดับสองของเจลาติน ซึ่งจะขึ้นอยู่กับการใช้งาน โดยเจลาตินที่มีความหนืดสูงเหมาะสำหรับการทำให้อิมัลชันคงตัว อย่างไรก็ตามในการผลิตลูกกวาด ที่ต้องขึ้นรูปจะนิยมใช้เจลาตินชนิดที่มีความหนืดต่ำเพื่อป้องกันการไหลตามเป็นเส้น (Tailing Effect) ในขณะที่การผลิตฟิล์มเจลาตินนิยมใช้เจลาตินความหนืดสูง (Schrieber and Gareis, 2007)

2.5.4 การเกิดโฟม

เจลาตินเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้โฟมคงตัว โดยเจลาตินต่างชนิดกันทำให้โฟมมีเสถียรภาพที่ต่างกัน จึงต้องเลือกเจลาตินให้เหมาะสม ในการผลิตมาร์ชเมลโลว์นั้น จะอาศัยสมบัติการเกิดโฟมของเจลาติน รวมไปถึงสมบัติการเกิดฟิล์มของเจลาตินในการทำให้โฟมเสถียรระหว่างการทำให้เย็น และเนื่องจากผลิตภัณฑ์ชนิดนี้มักมีความเป็นกรดต่ำ จึงจำเป็นต้องทำให้ความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 15 เพื่อป้องกันราระหว่างการเก็บรักษา (Cole, 2000)

2.5.5 การยึดติด

เจลาตินมีสมบัติเป็นสารยึดติด ดังนั้นจึงสามารถใช้เป็นกาวจากสัตว์ได้ โดยใช้สารละลายเจลาตินที่ยังอุ่นและต้องไม่เกิดเจลก่อนที่พื้นผิวจะติดกัน ตัวอย่างเช่น การผลิตเม็ดยา หรือเม็ดลูกกวาดที่ต้องเชื่อมหลายชั้นเข้าด้วยกัน (Cole, 2000)

2.5.6 การเกิดฟิล์ม

สมบัติการเกิดฟิล์มของเจลาตินถูกนำมาใช้ในการผลิตเคปซูลยาทั้งชนิดแข็งและอ่อน ฟิล์มเจลาตินมักจะหดรัดระหว่างการทำให้แห้ง ดังนั้นมักเติมแอลกอฮอล์ที่มีหมู่ไฮดรอกซีหลายหมู่ (Polyhydric Alcohols) เพื่อปรับปรุงการยึดติดและความยืดหยุ่นของฟิล์มเจลาติน นอกจากนี้ในการผลิตฟิล์มเจลาตินนั้นควรใช้เจลาตินชนิดที่มีความหนืดสูงมากกว่าชนิดที่มีความหนืดต่ำ (Cole, 2000)

2.5.7 การเป็นอิมัลซิไฟเออร์

เจลาตินจะทำให้อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำคงตัวโดยเพิ่มความหนืดของเฟสน้ำ อย่างไรก็ตามความหนืดของเจลาตินขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต เจลาตินชนิดเอ ซึ่งปรับสภาพด้วยกรดมีความหนืดประมาณครึ่งหนึ่งของเจลาตินชนิดบี ซึ่งปรับสภาพด้วยด่าง ดังนั้นเจลาตินชนิดบีจึงเหมาะสมสำหรับทำให้อิมัลชันคงตัวมากกว่าเจลาตินชนิดเอ (Schrieber and Gareis, 2007)

2.5.8 ความคงตัว

เจลาตินแห้งมีอายุการเก็บไม่จำกัดราบใดที่ไม่ได้รับความชื้นจนทำให้อุณหภูมิที่เกิด glass transition ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เก็บรักษา (Rahman, Al-Saidi, & Guizani, 2008) หากอุณหภูมิในการเก็บรักษาเจลาตินสูงกว่าอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass Transition) จะทำให้เจลาตินอยู่ในสถานะคล้ายยาง (Rubbery State) ซึ่งที่สถานะนี้จะทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้น้ำที่มีอยู่ในเจลาตินส่งผลให้เจลาตินเสื่อมเสียได้ (D'Cruz and Bell, 2005)

ส่วนความคงตัวของสารละลายเจลาตินนั้นจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและค่า pH โดยทั่วไป สารละลายเจลาตินจะสูญเสียความแข็งแรงของเจลและความหนืดเมื่อเก็บไว้นาน โดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูง และ pH ต่ำ เนื่องจากโมเลกุลเจลาตินจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดและความร้อน (Schrieber and Gareis, 2007) ดังนั้น pH ของสารละลายเจลาตินควรอยู่ในช่วง 5-7 และควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ (Cole, 2000)

2.5.9 ไมโครเอนแคปซูเลชัน

การเอนแคปซูเลชันเจลาตินแบบคอมเพล็กซ์โคอเซอร์เวชัน (Coacervates Complexed) กับโพลิเมอร์ประจุลบ (Anionic Polymer) ในรูปแบบของแคปซูลขนาดเล็กที่สามารถกักเก็บสิ่งที่อยู่ภายในและป้องกันการเกิดออกซิเดชันหรือการย่อยสลายระหว่างการเก็บรักษา อีกทั้งยังช่วยป้องกันสารที่ระเหยง่าย นอกจากนี้การนำสารที่เป็นของเหลวมาอยู่ในไมโครแคปซูล อาจช่วยลดการทำปฏิกิริยาของสารผสม สะดวกต่อการนำไปใช้งาน รวมทั้งสามารถควบคุมการปลดปล่อยสารไปสู่บริเวณที่ต้องการในเวลาที่เหมาะสมได้ จึงมีประโยชน์ช่วยลดความสิ้นเปลืองในการใช้สารดังกล่าว (Gómez-Guillén *et al.*, 2011)

2.6 การใช้ประโยชน์จากเจลาติน

เจลาตินถูกนำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด ดังตารางที่ 2.4 โดยมีหน้าที่แตกต่างกันตามชนิดของผลิตภัณฑ์ ดังต่อไปนี้ (Schrieber and Gareis, 2007)

ตารางที่ 2.4 หน้าที่ของเจลาตินในการผลิตอาหารชนิดต่างๆ

อาหาร	Bloom (กรัม)	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	หน้าที่หลัก	หน้าที่รอง
ขนมหวาน	200-260	1.5-3	ก่อเจล	ให้เนื้อสัมผัส ความโปร่งแสง ความเป็นประกาย
กัมมี่	200-280	6-10	ก่อเจล	ให้เนื้อสัมผัส ความยืดหยุ่น ความโปร่งแสง ความเป็นประกาย
มาร์ชเมลโลว์	160-260	1-3	ทำให้เกิดโฟม	ทำให้โฟมคงตัว ก่อเจล
Nougat	180-220	1.5-3	ทำให้เกิดโฟม	ทำให้โฟมคงตัว ก่อเจล
Pastilles	160-220	1-2	ตัวประสาน	ให้เนื้อสัมผัส ปรับปรุงสมบัติการละลายในปาก ป้องกันการแยกตัว
คาราเมล	140-200	0.5-2.5	อิมัลซิไฟเออร์ และทำให้โฟมคงตัว	ทำให้เหนียวได้
โยเกิร์ต	220-260	0.2-1	ป้องกันน้ำแยกชั้น	ให้เนื้อสัมผัส ความเป็นครีม
ขนมฟองนม	180-240	0.3-3	ทำให้เกิดโฟม	ให้เนื้อสัมผัส ความคงตัว
ขนมวุ้นนม	180-240	1-2	ก่อเจล	ให้เนื้อสัมผัส ความเป็นครีม
แซนวิชสเปรด (ชนิดไม่มีเนื้อ)	240-280	0.3-1.5	ทำให้อิมัลชันคงตัว	ให้เนื้อสัมผัส ความเป็นครีม
เนื้อและไส้กรอก	220-260	0.5-2	ทำให้อิมัลชันคงตัว	ช่วยอุ้มน้ำ
เนื้อกระป๋อง	220-260	0.5-2	ตัวประสาน	ให้เนื้อสัมผัส ที่ตัดได้

ที่มา: Schrieber and Gareis (2007)

ลูกกวาดและขนมหวาน

เจลาตินทำหน้าที่เป็นสารก่อเจลในผลิตภัณฑ์กัมมิ ทำให้เนื้อสัมผัสนุ่มและยืดหยุ่น ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ส่วนใหญ่จะใช้เจลาตินชนิดเอ ที่มีค่าแข็งแรงเจลสูง ให้เนื้อสัมผัสที่ดี ใส ไม่ส่งผลต่อสีและกลิ่น นอกจากนี้ยังมีจุดหลอมเหลวสูงและขึ้นรูปได้เร็ว เจลาตินมีหน้าที่ในการเกิดโฟมและทำให้โฟมคงตัว ในผลิตภัณฑ์ประเภทเมลโลว์ เช่น มาร์ชเมลโลว์ (Marshmallow) และเมอแรง (Meringue) การเติมเจลาตินลงไปดีร่วมกับน้ำตาลจะทำให้ได้โฟมปริมาตรสูง โดยเจลาตินจะลดแรงตึงผิวทำให้เกิดโฟมได้ง่ายขึ้น และเกิดเป็นฟิล์มระหว่างเฟสน้ำและอากาศ ส่งผลให้โฟมคงตัว

เครื่องดื่ม

เจลาตินถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ น้ำผลไม้ และไวน์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวใส ซึ่งจะทำให้สารที่ทำให้เกิดความขุ่นตกตะกอน และลดความเข้มข้นของสารโพลีฟีนอล เช่น แทนนิน โดยนิยมใช้เจลาตินชนิดเอ เนื่องจากมีจุดไอโซอิเล็กทริกในช่วง 8-9 ซึ่งจะมีประจุบวกมากกว่าเจลาตินชนิดบี ส่วนน้ำผลไม้ที่มีเนื้อผลไม้ (Pulp) ผสมอยู่ การใช้เจลาตินไฮโดรไลเสทจะทำให้เนื้อผลไม้ยังคงแขวนลอยอยู่ได้

ผลิตภัณฑ์นม

เจลาตินทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ทดแทนเคซีนในผลิตภัณฑ์นมหมัก เนื่องจากเอนไซม์เรนินที่ใส่และกรดที่เกิดขึ้นระหว่างการแปรรูป จะทำให้เคซีนเกิดเป็นเคิร์ดและสูญเสียสมบัติอิมัลซิไฟเออร์ อีกทั้งยังทำหน้าที่เป็นโปรเทคทีฟคอลลอยด์ในผลิตภัณฑ์ประเภทโยเกิร์ตผลไม้และโยเกิร์ตพร้อมดื่ม ทำให้สารแขวนลอยคงตัวและป้องกันการแยกชั้นของโปรตีน ไขมัน และเวย์ เจลาตินที่เหมาะสมคือเจลาตินที่มีค่าความแข็งแรงเจลสูง นอกจากนี้เจลาตินจะทำให้โฟมในไอศกรีมคงตัวลดแรงตึงผิวของน้ำ ทำให้เกิดโฟมได้ง่าย รวมไปถึงกักน้ำและป้องกันการรวมตัวของผลึกน้ำแข็ง ทำให้ไอศกรีมมีเนื้อสัมผัสที่เนียน

การใช้ในอุตสาหกรรมยา

ใช้ในการผลิตแคปซูลชนิดแข็งและชนิดนิ่ม โดยแคปซูลชนิดแข็งหรือแบบ 2 ชั้น จะบรรจุยาที่เป็นผง ส่วนแคปซูลชนิดนิ่มจะมีการเติมกลีเซอรอล หรือซอร์บิทอล ซึ่งใช้บรรจุยาที่เป็นน้ำมันต่างๆ เช่น น้ำมันตับปลา และวิตามิน อีกทั้งยังใช้เคลือบเม็ดยาเพื่อป้องกันการแตกหักและทำให้เกิดความรู้สึกเสียดระหว่างกลืนยา โดยเจลาตินจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน (Oxidant reaction) และเป็นสารให้ความคงตัวสำหรับอิมัลชัน ซึ่งการเลือกใช้ชนิดของเจลาตินนั้นจะขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตยา

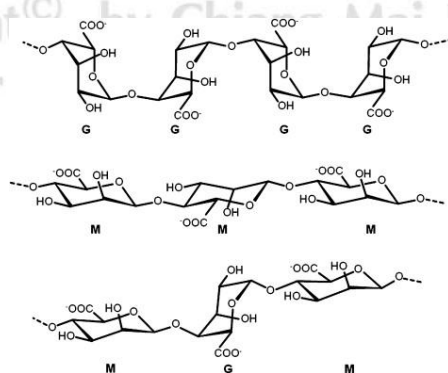
2.7 อัลจิเนต

อัลจิเนตที่จำหน่ายในท้องตลาดส่วนใหญ่มักจะสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล (Phaeophyceae) ได้แก่ *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* และ *Macrocystis pyrifera* สกัดโดยสารละลายด่าง (โซเดียมไฮดรอกไซด์) สารสกัดถูกกรองและเติมโซเดียมหรือแคลเซียมคลอไรด์ลงในตัวกรองเพื่อให้เกิดการตกตะกอนของอัลจิเนต เกลืออัลจิเนตนี้สามารถเปลี่ยนเป็นกรด alginic หลังจากการทำบริสุทธิ์และการทำแห้ง จะได้ผงโซเดียมอัลจิเนตที่สามารถละลายน้ำได้ (Lee and Mooney, 2012)

2.7.1 โครงสร้างของอัลจิเนต

อัลจิเนตเป็นไฮโดรคอลลอยด์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharide) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของอนุพันธ์ของน้ำตาล ได้แก่ กรดแมนนูโรนิก (D-mannuronic acid) และกรดกูลูโรนิก (Guluronic acid) โดยเป็นโคพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ถูกเชื่อมโยงด้วยพันธะ (1,4)- β -D-mannuronate (M) และ α -L-guluronate (G) ซึ่งจะมีการจัดเรียงตัวแบบบล็อก G (GGGGGG) บล็อก M (MMMMMM) และบล็อก GM (GMGMGM) แสดงดังภาพที่ 2.7 อัลจิเนตมีปริมาณของบล็อก M และบล็อก G รวมทั้งความยาวของแต่ละบล็อกแตกต่างกัน ซึ่งส่วนใหญ่จะพบปริมาณบล็อก G ของ *L-hyperborean* ร้อยละ 60 โดยอัลจิเนตที่จำหน่ายในท้องตลาดจะมีปริมาณบล็อก G ประมาณร้อยละ 14.0-31.0 (Lee and Mooney, 2012)

โดยกลุ่มของบล็อก G ของอัลจิเนตจะเกิดการเชื่อมโยงข้าม (Cross-link) กับไอออนสองบวก (เช่น Ca^{2+}) เพื่อสร้างไฮโดรเจล ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพของอัลจิเนตและไฮโดรเจล ได้แก่องค์ประกอบ (อัตราส่วน M ต่อ G) ความยาวของบล็อก G และน้ำหนักโมเลกุล (Lee and Mooney, 2012)



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของอัลจิเนต (G-block, M-block และ MG-block)

ที่มา: Lee and Mooney (2012)

2.7.2 น้ำหนักโมเลกุลและความสามารถในการละลาย

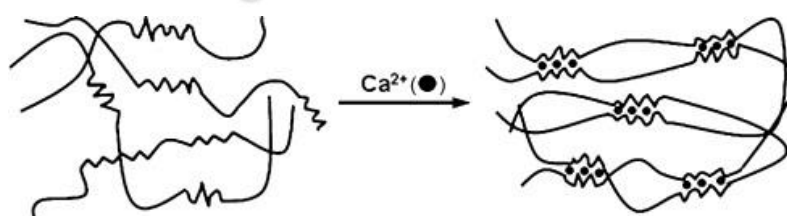
โดยทั่วไปโพลีเอทิลีนอะครีเลตจะมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 32-400 กิโลดาลตัน ความหนืดของสารละลายอะครีเลตจะเพิ่มขึ้นเมื่อลด pH ลง สามารถปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของเจลที่ได้โดยการเพิ่มน้ำหนักโมเลกุลของอะครีเลต อย่างไรก็ตามสารละลายอะครีเลตที่มีโมเลกุลสูงจะมีความหนืดสูงเช่นกัน ซึ่งมักจะไม่เป็นที่นิยม ตัวอย่างเช่น โพรตีนหรือเซลล์ที่ผสมกับสารละลายอะครีเลตที่มีความหนืดสูงจะเกิดความเสียหายจากแรงเฉือนที่เกิดขึ้นระหว่างการผสม การผสมอะครีเลตที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำเข้าด้วยกันจะทำให้สารละลายอะครีเลตมีความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่งผลให้เจลที่ได้มีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น (Lee and Mooney, 2012)

2.8 วิธีการสร้างไฮโดรเจล

อะครีเลตมักใช้ในรูปของไฮโดรเจลในด้านชีวการแพทย์ รวมทั้งการรักษาบาดแผล การนำส่งยาและการใช้งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ไฮโดรเจลเป็นโครงสร้าง 3 มิติ ที่เกิดจากการเชื่อมโยงข้ามของพอลิเมอร์ที่มีความเป็นไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic) การเชื่อมโยงข้ามของพอลิเมอร์ไฮโดรฟิลิกเป็นวิธีการสร้างไฮโดรเจล โดยสมบัติทางเคมีกายภาพจะขึ้นอยู่กับชนิดของการเชื่อมโยงข้ามและความหนาแน่นของการเชื่อมโยงข้ามนอกเหนือจากน้ำหนักโมเลกุลและองค์ประกอบทางเคมีของพอลิเมอร์ (Lee and Mooney, 2012)

2.8.1 การเชื่อมโยงข้ามแบบไอออนิก

วิธีที่นิยมในการเตรียมไฮโดรเจลจากสารละลายอะครีเลต คือการผสมสารละลายอะครีเลตเข้ากับสารเชื่อมโยงข้ามแบบไอออนิก เช่น ไอออนสองบวก (เช่น Ca^{2+}) ซึ่งไอออนสองบวกจะเป็นตัวเชื่อมกลุ่มคาร์บอกซิเลตของอะครีเลตเข้าด้วยกัน เนื่องจากโครงสร้างของคาร์บอกซิเลตสามารถเกิดการเชื่อมโยงข้ามได้ดีกับไอออนสองบวก โดยคาร์บอกซิเลตของพอลิเมอร์หนึ่งตัวจะเชื่อมกับกลุ่มคาร์บอกซิเลตของพอลิเมอร์ที่อยู่ติดกันจนมีโครงสร้างคล้ายเปลือกไข่ ซึ่งเป็นโครงสร้างของไฮโดรเจล (ดังภาพที่ 2.8)



ภาพที่ 2.8 อะครีเลตไฮโดรเจลที่เตรียมโดยการเชื่อมโยงข้ามแบบไอออนิก

ที่มา: Lee and Mooney (2012)

แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) เป็นสารที่นิยมใช้กันมากที่สุดใน การเกิด การเชื่อม โยงข้ามแบบ ไอออนิก เพื่อให้เกิด ไฮโดรเจล ซึ่งจะ ทำให้ เกิด เจล ได้ รวดเร็ว และ ควบคุม ไม่ ค่อย ได้ เนื่องจาก แคลเซียมคลอไรด์ สามารถ ละลาย น้ำ ได้ ดี วิธี ที่ นิยม ใน การ ชะลอ และ ควบคุม การ เกิด เจล คือ การ ใช้ บัฟเฟอร์ ที่มี ฟอสเฟต (เช่น โซเดียม เฮกซะเมธา-ฟอสเฟต) เนื่องจาก กลุ่ม ฟอสเฟต ใน บัฟเฟอร์ สามารถ แข่งขัน กับ กลุ่ม คาร์บอกซิเลต ของ อัลจินเต ใน การ เกิด ปฏิกริยา กับ แคลเซียม ไอออน จึง สามารถ ชะลอ การ เกิด เจล รวมไปถึง แคลเซียม ซัลเฟต (CaSO_4) และ แคลเซียม คาร์บอเนต (CaCO_3) เป็น สาร ที่ มี ความ สามารถ ใน การ ละลาย ต่ำ ดังนั้น จึง สามารถ ชะลอ อัตรา การ เกิด เจล และ ชี้ด เวลา ใน การ เกิด เจล ของ อัลจินเต ได้ (Lee and Mooney, 2012)

อัตรา การ เกิด เจล เป็น ปัจจัย ที่ สำคัญ ใน การ ควบคุม ความ สม่า เสมอ และ ความ แข็งแรง ของ เจล ซึ่ง การ ที่ มี อัตรา การ เกิด เจล ช้า จะ ทำให้ เกิด โครงสร้าง ที่ สม่า เสมอ และ ความ สมบูรณ์ มาก ขึ้น อีกทั้ง อุณหภูมิ ยัง มี อิทธิพล ต่อ อัตรา การ เกิด เจล และ สมบัติ ทาง กลของ เจล เช่น กัน ที่ อุณหภูมิ ต่ำ ความ สามารถ ใน การ ทำ ปฏิกริยา ของ ไอออน สอง บวก จะ ลดลง ส่งผล ให้ การ เชื่อม โยง ข้าม เกิด ช้า ลง ทำให้ ได้ โครงสร้าง ที่ สมบูรณ์ ยิ่ง ขึ้น และ มี สมบัติ ทาง กล ที่ สูง ขึ้น (Lee and Mooney, 2012)

ข้อเสีย ของ เจล ที่ เกิด จาก การ เชื่อม โยง ข้าม แบบ ไอออนิก คือ ได้ เจล ที่ มี เสถียรภาพ ใน ทาง สรีรวิทย์ ระยะเวลา เนื่องจาก เจล เหล่า นี้ สามารถ ละลาย ได้ ก็ ต่อ เมื่อ ปลด โยง ไอออน ประจุ ไฟฟ้า เข้า ไป โดย รอบ เพื่อ ให้ เกิด ปฏิกริยา การ แลก เปลี่ยน กับ ไอออน บวก โมเลกุล เดียว ซึ่ง คุณสมบัติ เหล่า นี้ อาจ เป็น ประโยชน์ หรือ เป็น ข้อเสีย จะ ขึ้น อยู่ กับ สถานการณ์ (Lee and Mooney, 2012)

2.8.2 การเชื่อมโยงข้ามแบบโควาเลนต์

การ เกิด เจล ด้วย การ เชื่อม โยง ข้าม แบบ โควาเลนต์ เป็น ที่ นิยม อย่าง กว้าง ขวาง ใน การ ปรับปรุง สมบัติ ทาง กลของ เจล อัลจินเต เนื่อง จาก การ เกิด เจล ด้วย การ เชื่อม โยง ข้าม แบบ ไอออนิก นั้น เมื่อ เกิด การ สูญ เสีย น้ำ จะ ทำให้ เม็ด ไฮโดรเจล เกิด การ เสียรูบ ในขณะที่ การ เกิด เจล ด้วย การ เชื่อม โยง ข้าม แบบ โควาเลนต์ จะ ไม่ ทำให้ เม็ด ไฮโดรเจล เกิด การ เสียรูบ เนื่องจาก เจล ที่ ได้ มีความ ยืดหยุ่น อย่างไร ก็ ตาม สารรีเอเจนต์ ใน การ เกิด เจล ด้วย การ เชื่อม โยง ข้าม แบบ โควาเลนต์ อาจ เป็น พิษ และ ต้อง มี การ กำจัด สาร ดัง กล่าว ออกจาก เจล (Lee and Mooney, 2012)

จาก การ ศึกษา การ ปรับปรุง สมบัติ ทาง กลของ เจล อัลจินเต ด้วย การ เชื่อม โยง ข้าม แบบ โควาเลนต์ กับ โพลีเอธิลีน ไกลคอล ไดเอมีน (PEG) ที่ มี น้ำหนัก โมเลกุล ต่างๆ พบ ว่า การ เพิ่ม สัดส่วน น้ำหนัก ของ PEG หรือ ความหนาแน่น ของ การ เชื่อม โยง ข้าม แบบ โควาเลนต์ ทำให้ เจล ที่ ได้ มีความ ยืดหยุ่น เพิ่มขึ้น แต่ ความ ยืดหยุ่น จะ ลดลง เมื่อ น้ำหนัก โมเลกุล หลัง จาก เกิด การ เชื่อม โยง ข้าม มี ค่า ต่ำ กว่า น้ำหนัก โมเลกุล ของ PEG แสดง ให้ เห็น ว่า คุณสมบัติ ทาง กล และ การ ขยาย ตัว ของ

ไฮโดรเจลอัลจินตสามารถควบคุมได้โดยใช้โมเลกุลหลังจากเกิดการเชื่อมโยงข้ามและความหนาแน่นของการเชื่อมโยงข้ามแบบโควาเลนต์ (Lee and Mooney, 2012)

2.9 เม็ดบีทอัลจินต

Lupo *et al.* (2015) ศึกษาการใช้อัลจินตห่อหุ้มสารสกัดจากโกโก้ พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมจะทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดบีทลดลงและหนาแน่นขึ้น เนื่องจากแคลเซียมจะกำจัดน้ำออกจากเม็ดบีท จึงทำให้เม็ดบีทมีขนาดเล็กลง

Almeida and Almeida (2004) ศึกษาการใช้อัลจินตผสมกับเจลาตินเพื่อห่อหุ้มยาพินโดลอล พบว่าการใช้อัลจินตผสมกับเจลาตินจะให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงกว่าการใช้อัลจินตเพียงอย่างเดียว อีกทั้งยาพินโดลอลไม่รบกวนการเกิด cross-linked ระหว่างอัลจินตกับเจลาติน ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถกักเก็บยาพินโดลอลไว้ในเม็ดบีทได้และสามารถปลดปล่อยยาพินโดลอลได้อย่างช้าๆ

Zeeb *et al.* (2015) ศึกษาการใช้อัลจินตห่อหุ้มสารจำพวกน้ำมัน พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของอัลจินตและแคลเซียมจะทำได้ความสามารถให้การห่อหุ้มน้ำมันเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีขนาดรูพรุนที่เล็กจึงสามารถกักเก็บน้ำมันได้

Fang *et al.* (2011) ศึกษาการทำเม็ดบีทอัลจินตผสมกับเจลาติน พบว่าเมื่อ pH ของสารละลายผสมลดลงจะทำให้อัลจินตและเจลาตินจะเกิดการแยกตัวกันมากขึ้นเนื่องจากอิทธิพลของประจุ เม็ดบีทที่ได้จากสารละลายผสมที่มี pH ต่างกันจะมีความสามารถในการขยายตัวหลังจากอบแห้งใกล้เคียงกัน เม็ดบีทอัลจินตมีความสามารถในการขยายตัวในน้ำดำ แต่จะขยายตัวได้ดีในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นสูง เนื่องจากโซเดียมไอออน (Na^+) จะเข้าไปแทนที่แคลเซียมไอออน (Ca^{2+})

Roy, Bajpai and Bajpai (2009) ศึกษาการใช้อัลจินตผสมกับเจลาตินเพื่อห่อหุ้มสารกำจัดศัตรูพืช (cypermethrin) พบว่าเม็ดบีทที่ได้มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันและผิวเรียบ อาจรบกวนเนื่องจากสารกำจัดศัตรูพืชจะไปรบกวนการเชื่อมโยงข้ามของอัลจินตและเจลาติน ความสามารถในการดูดซับน้ำของเม็ดบีทจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมี เมื่อความเข้มข้นของอัลจินตสูงขึ้นจะทำให้ความสามารถในการดูดซับน้ำลดลง