บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การสำรวจข้อมูลภาคสนาม

4.1.1 ตลาดการค้ากระบือและสถิติ

การสำรวจตลาดการค้ากระบือ ณ ตลาดทุ่งฟ้าบด (กาดวัวกาดควาย) อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ตั้งอยู่บนถนนสายเชียงใหม่-ฮอด หรือเส้นทางหมายเลข 108 ซึ่งเป็นตลาดที่มีอายุยาวนานกว่า 60 ปี ในอดีตเวลาผู้คนจูงโคหรือกระบือไปทำนาก็มีการสอบถามขอซื้อ ซึ่งในสมัยนั้นยังไม่มีสถานที่จำหน่ายที่แน่นอน จนได้มีการกำหนดสถานที่จำหน่ายขึ้นจึงเป็นที่มาของตลาดโคและกระบือแห่งนี้ในปัจจุบัน การซื้อขายโคและกระบือในที่ตลาดค้าโคกระบือที่ใหญ่ที่สุดของจังหวัดเชียงใหม่ มีข้อมูลดังนี้ การสอบถามจากผู้ค้า รายงานว่าคนที่มาติดต่อซื้อกระบือมีวัตถุประสงค์เพื่อนำไปเป็นพ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์ หรือ นำไปส่งที่โรงฆ่าสัตว์เพื่อการชำแหละเนื้อและวัตถุดิบอื่นๆนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยแหล่งที่มาของกระบือมาจากกระบือของเกษตรกรที่ปลดระวางการทำงาน หรือการนำเข้าจากชายแดนระหว่างประเทศเพื่อนบ้าน เช่น เมียนมาร์ ลาว

การค้าโคกระบือในทุกวันเสาร์มีปริมาณกระบือที่นำเข้ามาค้าในตลาดประมาณ 50-60 ตัว ปริมาณกระบือที่ค้าในช่วงฤดูกาลทำนามีมากขึ้น ราคาจำหน่ายกระบือนั้นแล้วแต่ตกลงกันระหว่างผู้ซื้อกับผู้ขาย โดยกลไกราคากำหนดจากราคาเนื้อกระบือในตลาด ซึ่งข้อมูลทางสถิติของกรมปศุสัตว์ (2558) รายงานว่า ประเทศไทยมีจำนวนกระบือ ประมาณ 900,000 ตัว แบ่งเป็นกระบือเพศผู้ร้อยละ 30 และเพศเมียร้อยละ 70 การเลี้ยงกระบือส่วนใหญ่คือพื้นที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนในเขตภาคเหนือ จังหวัดที่มีจำนวนกระบือมากได้แก่ เชียงใหม่ และ แม่ฮ่องสอน ในปัจจุบันการเลี้ยงกระบือได้รับความนิยมมากขึ้นเพราะมีการเลี้ยงเพื่อปรับปรุงสายพันธุ์และมีการจัดการเลี้ยงอย่างเป็นระบบในโรงเรือนที่ถูกสุขลักษณะ

4.1.2 ระบบการค้าและคุณภาพหนังกระบือ

การค้ากระบือที่ตลาดทุ่งฟ้าบดนั้นส่วนใหญ่จำหน่ายให้กับโรงฆ่าสัตว์เพื่อการบริโภค โดยมีพ่อค้าคนกลางเข้ามาติดต่อกับทางตลาดเพื่อคัดเลือกกระบือตามจำนวนและคุณลักษณะกระบือที่ต้องการจากเพศและน้ำหนักกระบือ จากนั้นมีการขนย้ายกระบือไปโรงฆ่าสัตว์ การชำแหละเนื้อเป็น

วัตถุดิบหลักที่ต้องการ ส่วนหนังกระบือเป็นผลพลอยได้ที่ส่งต่อไปให้อุตสาหกรรมการแปรรูปอื่นๆ เช่น การแปรรูปเป็นอาหาร ฟอกหนังสัตว์ เครื่องประดับตกแต่งบ้าน

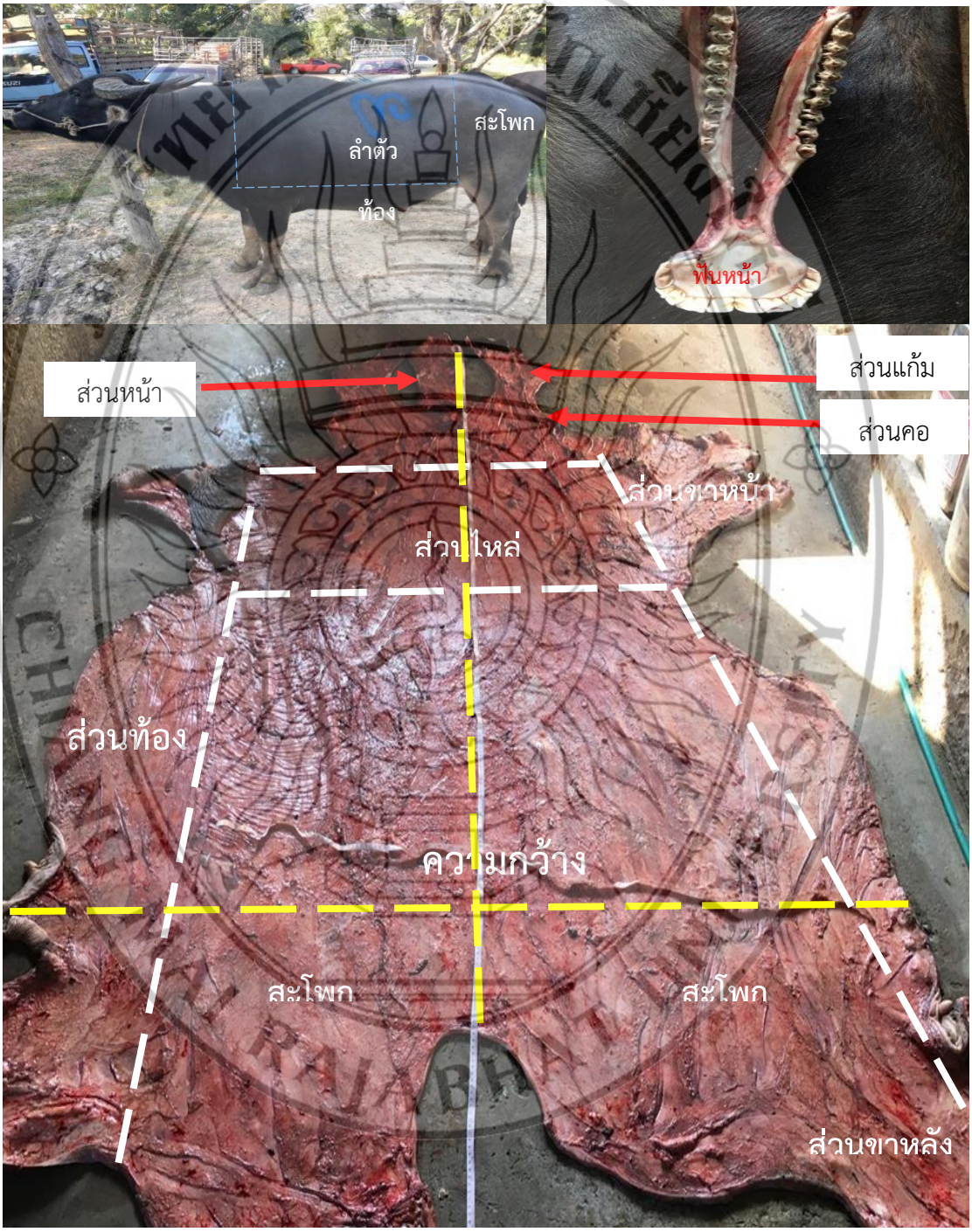
หนังสดที่ผ่านการชำแหละออกจากตัวกระบือมีอายุการเก็บรักษาสั้น จุลินทรีย์เจริญเติบโตทำให้เน่าเสียได้ง่าย จึงต้องรีบดำเนินการจำหน่ายให้กับผู้แปรรูปอย่างรวดเร็วโดยมีพ่อค้ารายย่อยเดินทางไปรับที่โรงฆ่าสัตว์และรีบขนส่งไปให้ผู้แปรรูปภายใน 24 ชั่วโมง ไม่มีมาตรฐานกลางในการกำหนดราคาในการซื้อหนังกระบือแต่มีการกำหนดราคาจากปริมาณหนังกระบือที่หามาได้ ระยะทางในการขนส่งและราคาตลาด โดยส่วนใหญ่กำหนดจากน้ำหนักของผืนหนังต่อ 1 กิโลกรัม โดยเฉพาะหนังกระบือที่เป็นที่ต้องการควรมีน้ำหนักมากกว่า 40 กิโลกรัมขึ้นไป (ตารางที่ 4.1) เพื่อนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารท้องถิ่น เช่น หนังพอง น้ำหนัง หนังเส้น หนังเค็ม เป็นต้น ส่วนอุตสาหกรรมการแปรรูปหนังกระบือก็จะพิจารณาจากขนาดของแผ่นหนังคือความยาว ความกว้าง ความหนา การปรากฏตำหนิใดๆ เช่น รอยขาดตรงกลางผืน หรือ ผืนหนังเป็นรู หรือการตัดแต่งที่ไม่มีความประณีต ก็ทำให้ผืนหนังมีราคาลดลงได้ หรืออาจถูกปฏิเสธการรับซื้อ ในปัจจุบันปริมาณหนังกระบือที่นำมาแปรรูปหาได้ยากมากขึ้นเพราะการเลี้ยงกระบือลดลง ราคากระบือแพงขึ้นและอำนาจในการซื้อของผู้บริโภคลดลง รวมทั้งความเชื่อทางศาสนาในการงดบริโภคสัตว์ใหญ่

ตารางที่ 4.1 รายละเอียดของแผ่นหนังกระบือ

ผืนที่	กระบือเพศ	อายุ (ปี)	น้ำหนักผืนหนัง (กิโลกรัม)	ความกว้างของแผ่นผนัง (เซนติเมตร)	ความยาวของแผ่นหนัง (เซนติเมตร)	ความหนาของแผ่นหนัง (เซนติเมตร)	ตำหนิ
1	ผู้	4	49	194	205	1.2	ไม่พบ
2	ผู้	4	48	187	202	1.4	รอยช้ำบริเวณลำคอ
3	เมีย	4	44	179	198	1.1	ไม่พบ

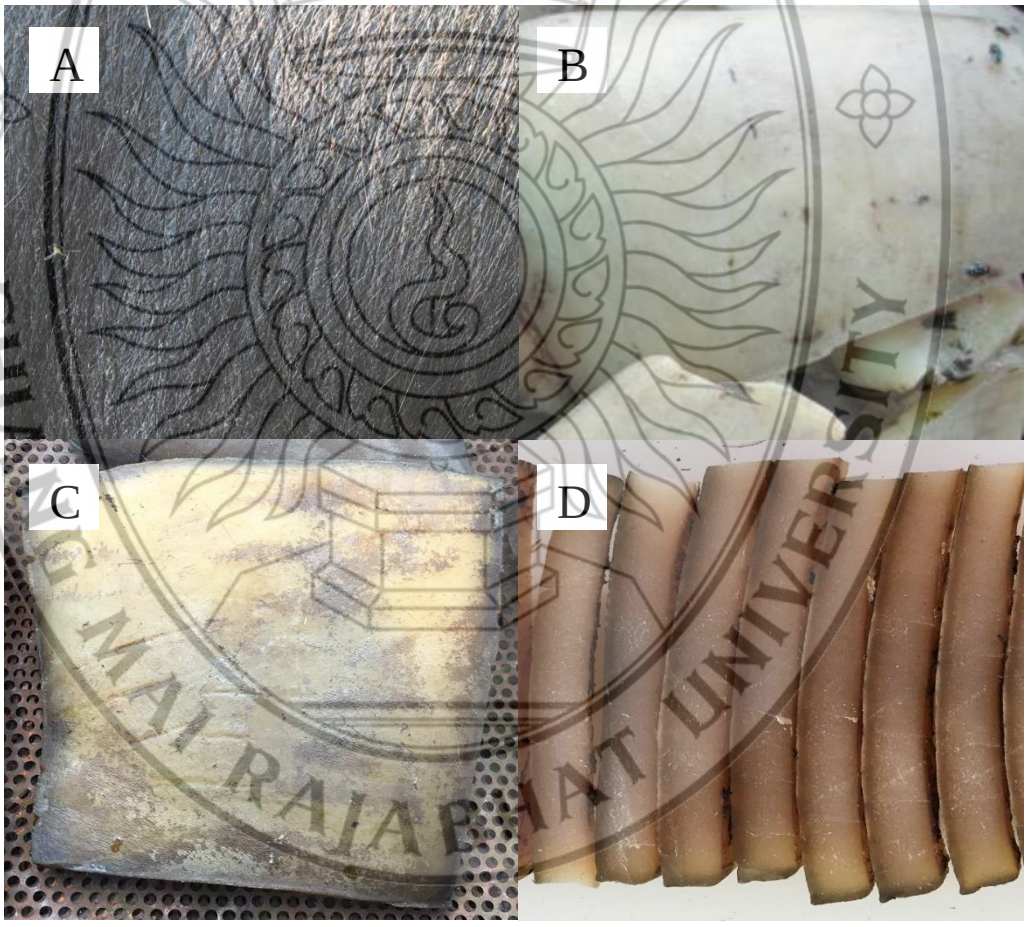
จากตารางที่ 4.1 ผืนหนังกระบือที่มีการรับซื้อมีน้ำหนักมากกว่า 40 กิโลกรัมขึ้นไปโดยการเก็บข้อมูลความกว้างของผืนหนัง(จากตำแหน่งปลายสุดของท้องด้านหนึ่งไปยังด้านท้องอีกด้านหนึ่ง) และความยาว (จากคอกึ่งกลางลำตัวไปถึงโคนหาง) ความหนาวัดที่ตำแหน่งท้อง จากภาพที่ 4.1 พบว่า

อัตราส่วนความกว้างต่อความยาวของแผ่นหนังกระบือ มีค่า ประมาณ 0.95 และมีความหนาของแผ่นหนัง 1.2-1.5 เซนติเมตร อายุกระบือดูจากฟันคู่หน้ามี 4 คู่ มีอายุประมาณ 6 ปี



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของรูปร่างและส่วนต่างๆของผืนหนังที่ชำแหละออกจากซากกระบือ

หนังสดหรือหนังเลือดที่รับซื้อมาจากโรงฆ่าสัตว์เมื่อพิจารณาถึงตำหนิต้องไม่ปรากฏรอยเน่า รอยแผลเป็น รูใหญ่ๆ ซึ่งการเก็บรักษาหนังกระบือสดนั้นทำได้ยากเพราะหนังจะเกิดการเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็วจากการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) จากเอนไซม์ต่างๆและการเสื่อมสลายจากจุลินทรีย์ (decomposition) ดังนั้น ภูมิปัญญาพื้นบ้านในการถนอมเก็บรักษาหนังกระบือให้มีอายุนานจึงเป็นสิ่งจำเป็นโดยการนำแผ่นหนังกระบือสดมาตัดเป็นชิ้นขนาดเท่าฝ่ามือ (ภาพที่ 4.2A) โดยคัดแยกชิ้นหนังที่ได้จากส่วนลำตัว ส่วนท้องและส่วนสะโพก จากนั้นนำไปผ่านการลวกด้วยน้ำร้อนและกำจัดขนออกจนได้หนังแผ่นสีขาว (ภาพที่ 4.2B) จากนั้นนำไปย่างบนไฟอ่อนๆให้หนังไหม้เกรียมก่อนนำไปตากด้วยแสงอาทิตย์จนแผ่นหนังเปลี่ยนสภาพเป็นหนังกระบือแห้ง มีลักษณะแข็ง เหนียว และ ความชื้นต่ำ (ภาพที่ 4.2C) เมื่อจะใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองสกัดเจลาตินจึงหั่นให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตรเป็นหนังกระบือเส้น (ภาพที่ 4.2D)



ภาพที่ 4.2 ลักษณะหนังกระบือ (A) บนตัวกระบือ (B) ผ่านกำจัดขน
(C) การตากแห้ง (D) ตัดเป็นเส้น

4.2 การสกัดเจลาตินจากหนังกระบือ

หนังกระบือตากแห้งที่ได้มาจาการเตรียมตัวอย่างในตอนที่ 4.1 นำมาสกัดเจลาตินด้วยสารละลายกรดไฮโดคลอริกหรือสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยการแปรผันปริมาณความเข้มข้นของสารละลายสกัด (X1: 0.2-1 โมล่าห์) และระยะเวลาในการแช่หนังสกัด (X2: 60-120 นาที) ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 27 องศาเซลเซียส อัตราส่วนชิ้นหนังกระบือต่อสารละลายสกัด คือ 1 ต่อ 4 โดยน้ำหนักเพื่อหาสภาวะในการสกัดเอาเจลาตินที่ได้ร้อยละผลผลิตมากที่สุด ผลจากการวิเคราะห์แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของพื้นผิวตอบสนอง พบว่า การสกัดคอลลาเจนด้วยสารละลายกรดกรดไฮโดรคลอริกได้ร้อยละผลผลิตการสกัดสูงสุดในชุดการทดลองที่ 6 คือร้อยละ 12.19 และการสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสูดในชุดการทดลองที่ 11 คือร้อยละ 10.95 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ร้อยละผลผลิตเจลาตินสกัดจากหนังกระบือ

ชุดการทดลองที่	ความเข้มข้นของสารละลายสกัด (โมล่าห์) X1	ระยะเวลาแช่ในสารละลายสกัด (ชั่วโมง) X2	ร้อยละผลผลิตเจลาตินจากการสกัดด้วยสารละลายกรดโฮโดรคลอริก	ร้อยละผลผลิตเจลาตินจากการสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์
1 (C1)	0.6	90	11.43	8.62
2 (C2)	0.6	90	12.13	9.09
3 (C3)	0.6	90	10.86	8.85
4 (C4)	0.6	90	9.34	9.05
5	0.03	90	3.72	4.39
6	1.17	90	12.19*	5.79
7	0.2	30	2.72	3.81
8	0.2	120	6.48	7.43
9 (C5)	0.6	90	11.11	4.39
10	0.6	48	3.13	3.48
11	0.6	132	10.30	10.95*
12	1	60	10.36	4.66
13	1	120	11.33	10.08

การวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ทั้งสองกรณีให้ค่าสัมประสิทธิ์การทดสอบที่มีค่าสูงมาก (R^2 มากกว่า 0.90) โดยสมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ทำนายการการสกัดเจลาตินด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายด่างด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นแบบเส้นโค้งแบบกำลังสอง (quadratic) ดังนี้

$$Y_{HCl} = -23.80+23.47X_1+0.50X_2-0.06X_1X_2-8.83X_1^2-0.00226X_2^2 \quad \text{สมการ (4.1)}$$

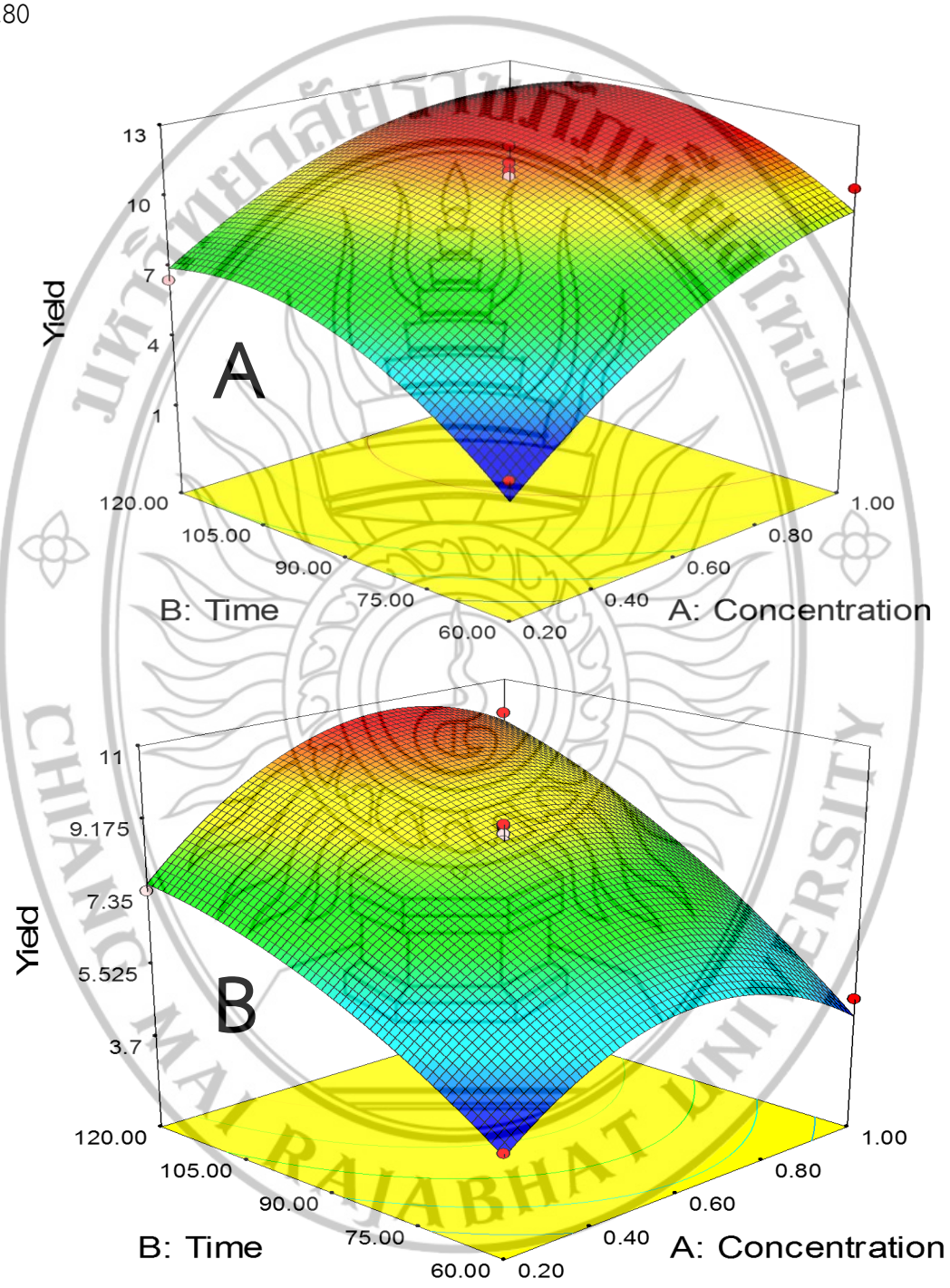
$$Y_{NaOH} = -7.42+11.99X_1+0.19X_2+0.04X_1X_2-11.38X_1^2-0.00743X_2^2 \quad \text{สมการ (4.2)}$$

การทดสอบค่าแลคออฟฟิต (lac of fit) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความแปรปรวนข้อมูลออกไปจากแบบจำลอง พบว่า สมการข้างบนใช้ทำนายผลการทดลองได้ดีเพราะมีค่าแลคออฟฟิต คือ 1.25 สำหรับสมการ (1) และ 0.46 สำหรับสมการ (2) ที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ นั่นคือแบบจำลองคณิตศาสตร์ตามสมการทั้งสองสามารถใช้ทำนายร้อยละผลผลิตการสกัดเจลาตินได้

พื้นผิวตอบสนองในภาพที่ 4.3A แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายสกัดเจลาติน และระยะเวลาในการแช่สกัด ต่อค่าร้อยละผลผลิตเจลาติน โดยพบว่ากรณีการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เมื่อความเข้มข้นของสารละลายสกัดเพิ่มขึ้นถึงความเข้มข้นประมาณ 1 โมล่าห์ และเวลาในการแช่หนังกระบือนานขึ้นประมาณ 120 นาที ร้อยละผลผลิตก็มากขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดมากและเวลาในการแช่หนังกระบือนานขึ้นกลับให้ร้อยละผลผลิตลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Mulyani et al., 2017b) พบว่าความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้สกัดเจลาตินจากหนังกระบือที่เหมาะสม คือร้อยละ 0.9 โมล่าห์ นาน 4 ชั่วโมง ได้ร้อยละผลผลิตประมาณ 30 ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมีอิทธิพลในการเพิ่มค่าร้อยละผลผลิตเจลาตินมากกว่าระยะเวลาในการแช่ โดยการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมทางสถิติพบว่า สภาวะในการสกัดเจลาตินด้วยกรดไฮโดรคลอริกคือ ใช้ความเข้มข้นสารละลายกรด 0.8 โมล่าห์ นาน 95 นาที ให้ร้อยละผลผลิต 12.19

พื้นผิวตอบสนองในภาพที่ 4.3B พบว่า การสกัดเอาเจลาตินด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการแช่หนังกระบือกลับทำให้ร้อยละผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างมาก ส่วนการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายด่างที่ใช้แช่ในระยะเวลานานกว่า 60 นาที ทำให้ร้อยละผลผลิตลดลง ดังนั้นการสกัดเจลาตินออกจากแผ่นหนังกระบือด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์จึงขึ้นกับระยะเวลาในการแช่สกัดเป็นสำคัญ โดยการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมทางสถิติพบว่า สภาวะในการสกัดเจลาตินด้วย

โซเดียมไฮดรอกไซด์คือ ใช้ความเข้มข้นสารละลายด่าง 0.65 โมล่าห์ นาน 100 นาที ให้ร้อยละผลผลิต 9.80



ภาพที่ 4.3 พื้นผิวตอบสนองร้อยละการสกัดเจลาตินจากหนังกระบือจากการสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (A) หรือด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (B)

การแช่หนังกระบือในสารละลายกรดทำให้โครงสร้างของคอลลาเจนเกิดการสลายพันธะภายในและระหว่างโมเลกุล เมื่อคอลลาเจนเกิดการคลายตัวหรือแตกตัวเป็นกรดอะมิโนจนมีความยาวของโมเลกุลลดลงจึงทำให้การละลายของเจลาตินเพิ่มขึ้น การสกัดเจลาตินจึงได้ร้อยละผลผลิตมากขึ้นแต่การใช้กรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นมากเกินไปอาจทำให้เกิดการสูญเสียเจลาตินที่มีโมเลกุลใหญ่กลายเป็นกรดอะมิโนหรือเพปไทด์สายสั้นมากขึ้นในระหว่างการล้างปรับความเป็นกรดด่างหลังสกัด (Nikoo, Benjakul, Bashari, Alekhorshied, Cissouma, Yang, and Xu.; Mulyani et al., 2017b) เช่นเดียวกับการใช้สารละลายด่างที่ความเข้มข้น 0.5 โมล่าห์ หรือความเป็นกรดด่างประมาณ 13.7 เพื่อให้คอลลาเจนเกิดการพองตัวและละลายได้ในขณะการต้มสกัดต่อไป (Bowes and Kenlen, 1950) นอกจากนี้การใช้ความเข้มข้นของสารละลายสกัดที่มากขึ้น และระยะเวลาในการสกัดก็มีผลต่อต้นทุนการสกัด ซึ่งจากสภาวะที่ได้จากการสกัดที่เหมาะสมเมื่อนำมาคำนวณตามสมการ (3.2) จะมีต้นทุนการสกัดทีประมาณ 11 บาทกรณีสกัดด้วยสารละลายกรด และประมาณ 13 บาทกรณีสกัดด้วยสารละลายด่าง ต่อ 100 กรัมของ เจลาตินกระบือผงตามลำดับ

4.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะเจลาตินสกัด

คุณลักษณะของเจลาตินกระบือที่สกัดได้ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกหรือสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ได้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุด เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับเจลาตินโคในทางการค้าเพื่อตรวจสอบคุณภาพของเจลาตินกระบือให้ได้มาตรฐาน โดยเปรียบเทียบทางด้านเคมีและจุลินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ต่อไปนี้

ความเป็นกรดด่างของเจลาตินชนิด A (สกัดด้วยกรด) และเจลาตินชนิด B (สกัดด้วยด่าง) สอดคล้องกับมาตรฐานสถาบันผู้ผลิตเจลาตินประเทศสหรัฐอเมริกา (2012) โดยเจลาตินชนิด A และ ชนิด B มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 3.8-5.5 และ 5-7.5 ตามลำดับ ค่าวอเตอร์แอคติวิตีของเจลาตินผงแห้งทุกตัวอย่างมีค่าน้อยกว่า 0.6 จึงจำกัดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งหมดในทุกตัวอย่าง (น้อยกว่า 10^4 โคโลนีต่อกรัม) รา (น้อยกว่า 10^3 โคโลนีต่อกรัม) โดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรคในอาหารที่สำคัญเช่น *Escherichia coli Clostridium perfringens* และ Salmonella ตรวจไม่พบจึงทำให้เจลาตินที่วิเคราะห์ได้มาตรฐานความปลอดภัย ส่วนค่าน้ำหนักที่สูญเสียจากการอบน้อยกว่าร้อยละ 18 ซึ่งคุณภาพได้ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมไทย (มอก. 799-2548) ส่วนสถาบันผู้ผลิตเจลาตินประเทศสหรัฐอเมริกา (2012) กำหนดน้อยกว่าร้อยละ 10.5

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบคุณลักษณะเจลาตินสกัดจากกระบือกับเจลาตินโค

คุณลักษณะ	เจลาตินกระบือสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก	เจลาตินกระบือสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์	เจลาตินโค
1.ค่าความเป็นกรดด่าง (27 องศาเซลเซียส)	4.38±0.22	6.89±0.11	5.15±0.04
2.ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (27 องศาเซลเซียส)	0.438±0.143	0.449±0.129	0.423±0.025
3.น้ำหนักที่สูญเสียจากการอบ (ร้อยละ)	10.39b±0.44	10.47c±0.32	9.75a±021
4.ค่าสี ความสว่าง(*L**)	65.01b±2.48	62.23c±0.72	72.20a±0.61
ความเป็นสีแดง(*a**)	2.38b±0.06	1.93c±0.04	2.72a±0.29
ความเป็นสีเหลือง (*b**)	2.88c±0.18	8.90b±0.26	25.90a±1.16
(ในรูปเจลเจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 6.67)			
5.เถ้าทั้งหมด (ร้อยละ)	0.04a±0.34	0.28b±0.56	0.97c±0.14
6.โปรตีนหยาบทั้งหมด (Nx6.25)(ร้อยละ)	93.91a±0.32	81.39c±0.18	86.56b±0.56
7.จุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนีต่อกรัม)	$1.5x10^2$	$2.2x10^2$	$2.7x10^2$
8.รา (โคโลนีต่อกรัม)	<10	<10	<10
9. *Escherichia coli* (เอ็มพีเอ็น)	<3	<3	<3
10.*Clostridium perfringens*	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
11.Salmonella	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

หมายเหตุ ตัวเลขในตารางแสดงค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละแถวแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่นัยสำคัญ 0.05 ($p<0.05$)

ค่าสีของเจลาตินสกัดจากหนังกระบือมีความสว่าง ความเป็นสีแดงและความเป็นสีเหลืองน้อยกว่าเจลาตินโคดังแสดงในภาพที่ 4.4 ซึ่งความแตกต่างนี้ขึ้นกับสีของวัตถุดิบที่นำมาสกัดเจลาตินและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดด้วยความร้อน รวมทั้งการอบแห้งเจลาติน เช่น สีเหลืองที่ปรากฏเกิดจากปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ค่าสีมีผลต่อการนำเจลาตินไปใช้งานแต่ไม่ได้มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ เช่น การเกิดเจล การหลอมเหลว

ภาพที่ 4.4 สีของเจลเจลาตินจากหนังกระบือ (ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6.67) สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (A) เจลเจลาตินจากหนังกระบือ (ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6.67) สกัดด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (B) เจลเจลาตินโค (C) (ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 3.33) และ เจลเจลาตินโค (D) (ความเข้มข้นเจลาตินร้อยละ 6.67)

ปริมาณเถ้าทั้งหมดตามมาตรฐานไทยและต่างประเทศกำหนดไว้ไม่เกินร้อยละ 2 เจลาตินทุกตัวอย่างมีคุณภาพโดยมีสิ่งแปลกปลอมที่เป็นสารอนินทรีย์ในปริมาณน้อย ซึ่งขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยการล้างและการแปรรูปเจลาติน ต้องลดการปนเปื้อนจากสิ่งแปลกปลอมให้มากที่สุด (Benjakul, Oungbho, Visessanguan, Thiansilakul, and Roytrakul, 2009) และปริมาณโปรตีนหยาบทั้งหมด พบว่า ใกล้เคียงกับรายงานของ Mulyani et al, (2017b) และปริมาณโปรตีนที่สูญเสียไปมากในระหว่างการล้างหนังที่สกัดด้วยกรดหรือด่างจะมีผลต่อคุณสมบัติในการเกิดเจล (Almeida and Da Silva Lannes, 2013)

ผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนของเจลาตินกระบือและเจลาตินโคแสดงในตารางที่ 4.4 เจลาตินกระบือชนิด A (สกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก) มีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดมีค่ามากกว่าเจลาตินกระบือชนิด B (สกัดด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์) แต่มากกว่าเจลาตินโค โดยเจลาตินกระบือชนิด A มีปริมาณกรดอะมิโนไกลซีน โพรลีน และ ไฮดรอกซีโพรลีน 5.33, 7.64 และ 2.40 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนชนิด B มีปริมาณกรดอะมิโนไกลซีน โพรลีน และ ไฮดรอกซีโพรลีน 4.36, 6.44 และ 1.95 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม ตามลำดับ กรดอะมิโนไกลซีนที่พบมากนี้พบในลำดับสายโซ่เจลาติน โดยปรากฏอยู่ในทุกๆตำแหน่งที่ 3 ของคอลลาเจนที่เป็นแหล่งต้นกำเนิดของเจลาติน กรดอะมิโนชนิดนี้เกี่ยวข้องกับความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลาตินซึ่งส่งผลต่อความหนืด ความแข็งแรงของเจลและการหลอมเหลวของเจล ส่วนกรดอะมิโนสองชนิด คือ โพรลีน และ ไฮดรอกซีโพรลีน มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดเจลาติน กล่าวคือ การประสานของสายโปรตีนพันกันเป็นเกลียวสามรอบ (triple helix formation) ซึ่งมีผลต่อความแข็งแรงของเจลเจลาตินที่อุณหภูมิต่ำ (Chancharern, Laohakunjit, Kerdchoechuen, and

Thumthanaruk, 2016; Pranoto et al, 2011; Sarbon, Badii, and Howell, 2013; Yu et al, 2016) Ratnasari, Yuwono, Nusyam, and Widjanarko (2013) รายงานว่าปริมาณกรดอะมิโนซิรีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ (free hydroxyl group) ช่วยเสริมความแข็งแรงทางพันธะเคมีระหว่างน้ำและหมู่อะมิโนอิสระในเจลาตินด้วย จากผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนชี้ให้เห็นว่า กรรมวิธีในการสกัดเจลาตินมีผลต่อปริมาณกรดอะมิโน ซึ่งส่งผลต่อคุณลักษณะของเจลาตินดังจะได้กล่าวต่อไป

ตารางที่ 4.4 รายละเอียดของกรดอะมิโนที่พบในเจลาติน

กรดอะมิโน	เจลาตินกระบือสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (mg/1kg) (A)	เจลาตินกระบือสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (mg/1kg) (B)	เจลาตินโค (mg/1kg)
Non polar hydrophobic			
Alanine	2.14	2.09	4.83
Valine	0.81	0.82	1.76
Leucine	2.34	2.24	1.67
Isoleucine	0.86	0.79	0.86
Phenylalanine	2.53	1.86	0.50
Methionine	0.26	0.32	0.57
Prolein*	7.64	6.44	7.56
Hydroxyprolein*	2.40	1.95	2.10
Polar uncharged			
Glycine*	5.33	4.36	14.38
Serine	1.48	1.44	2.20
Threonine	0.27	0.23	0.50
Tyrosine	0.95	0.86	0.27
Polar acidic			
Aspartic acid	1.48	1.56	2.80
Glutamic acid	3.98	3.47	3.57
Polar basic			
Lysine	10.42	10.01	2.25
Arginine	4.16	3.33	5.18
Histidine	0.76	0.55	0.28

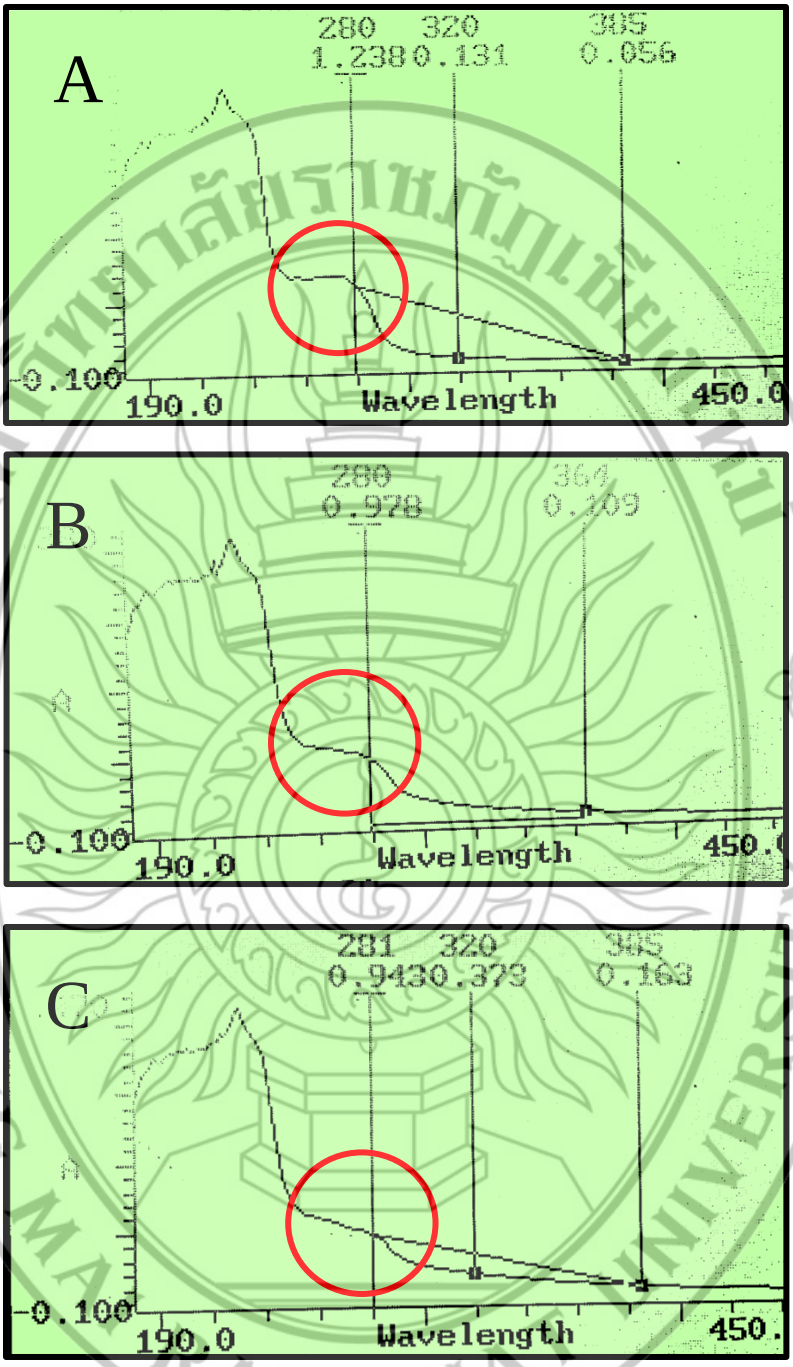
4.4 การระบุคุณลักษณะของเจลาติน

การระบุคุณลักษณะของเจลาตินใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยยูวีสเปกโตรสโกปี การหักเหของรังสีเอ็กซ์และการศึกษาหมู่พันธะทางเคมีของตัวอย่างเจลาตินด้วยวิธี FTIR ได้รับผลดังนี้

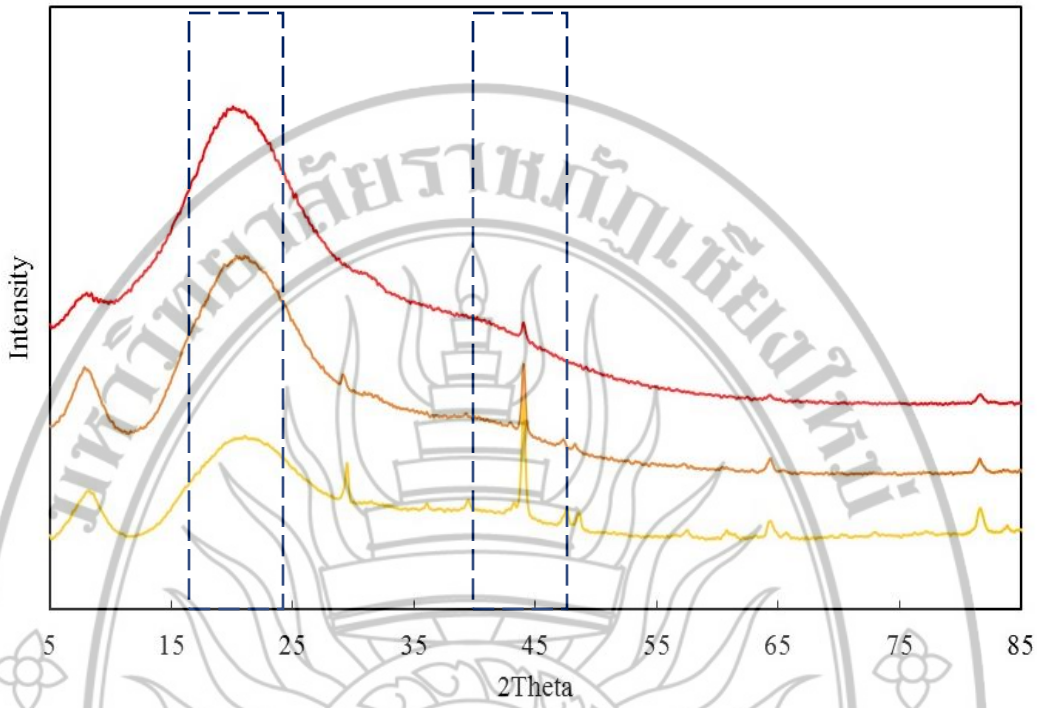
การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเจลาตินกระบือชนิด A มีการดูดกลืนแสงคล้ายกันที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ซึ่งเป็นลักษณะการดูดกลืนแสงของโปรตีนทั่วๆไป (Anand, Kamath, Chuang, Kasapis and Lapota, 2013) วงกลมในภาพที่ 4.5A ซึ่งเป็นลักษณะของกรดอะมิโนอะโรมาติก (aromatic amino acid) ได้แก่ ฟีนิลอะลานีน และ ไทโรซีน ส่วนการดูดกลืนแสงของเจลาตินโคชนิด B มีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกัน แต่ความสูงของยอดกราฟต่ำกว่าการดูดกลืนแสงของเจลาตินกระบือชนิด A วงกลมในภาพที่ 4.5B ส่วนเจลาตินโคให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 281 นาโนเมตรแต่ไม่ปรากฏส่วนยอดของกราฟเหมือนกับเจลาตินกระบือ ซึ่งผลการวัดลักษณะการดูดกลืนแสงให้ผลที่สอดคล้องกับการวิเคราะห์รายละเอียดกรดอะมิโนที่พบในเจลาตินในตารางที่ 4.4 กล่าวคือ ปริมาณของกรดอะมิโนชนิด ฟีนิลอะลานีน และ ไทโรซีนมีมากในเจลาตินกระบือชนิด A รองลงมาคือ เจลาตินกระบือชนิด B และเจลาตินโคตามลำดับ

การศึกษาการหักเหรังสีเอ็กซ์ของผงเจลาตินในภาพที่ 4.6 พบว่า เจลาตินทุกตัวอย่างมีการหักเหของรังสีเอ็กซ์สูงสุดที่ค่า 2Theta ประมาณ 20 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pal, Banthia, and Majumdar (2007) ซึ่งผงเจลาตินกระบือสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีความเป็นผลึกมากกว่าเจลาตินที่เหลือโดยมียอดแหลมของค่า 2Theta ที่ประมาณ 45 อย่างชัดเจน ส่วนเจลาตินกระบือสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกมีความคล้ายคลึงกับเจลาตินโค

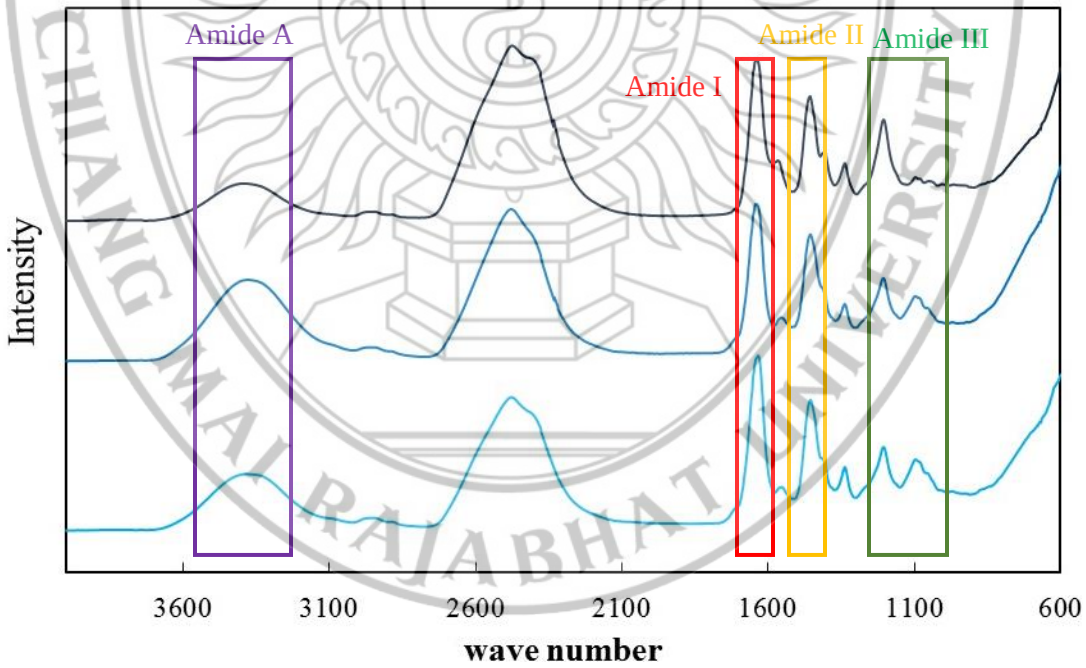
FTIR เป็นเทคนิคที่ใช้ระบุหมู่พันธะทางเคมีและโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนเจลาติน FTIR ของเจลาตินกระบือเปรียบเทียบกับเจลาตินโคแสดงในภาพที่ 4.7 ซึ่งพบว่าเจลาตินจากสัตว์ทั้งสองชนิดมีสเปกตรัมคล้ายคลึงกัน หรือกล่าวว่ามีหมู่พันธะทางเคมีที่คล้ายกัน พบเส้นโค้งที่สำคัญ 4 ตำแหน่งได้แก่ เอไมด์ เอ (Amide A) ที่ประมาณ 3,500 ต่อเซนติเมตร เอไมด์ 1 (Amide I) ที่ประมาณ 1,635 ต่อเซนติเมตร เอไมด์ 2 (Amide II) ที่ประมาณ 1,520-1,300 ต่อเซนติเมตร และ เอไมด์ 3 (Amide III) ประมาณ 1,200 ต่อเซนติเมตร เอไมด์ เอ เกี่ยวข้องกับโครงสร้างแบบเป็นเส้นของเจลาตินที่มีการยืดของหมู่ NH อิสระ ซึ่งจัดเป็นโครงสร้างทุติยภูมิที่สำคัญของเจลาติน เอไมด์ 2 เกี่ยวข้องกับการเชื่อมต่อระหว่างหมู่ CN และ NH ของสายเพปไทด์ ส่วนเอไมด์ 3 เกี่ยวข้องกับโครงสร้างเจลาตินที่ไม่เป็นระเบียบและอาจเกี่ยวข้องกับการสูญเสียโครงสร้างเกลียวสามสายของเจลาติน (Mulyani et al, 2017c)



ภาพที่ 4.5 การระบุลักษณะการดูดกลืนแสงของสารละลายเจลาตินกระบือชนิด A (A) สารละลายเจลาตินกระบือชนิด B (B) และ สารละลายเตลาตินโคชนิด B (C)



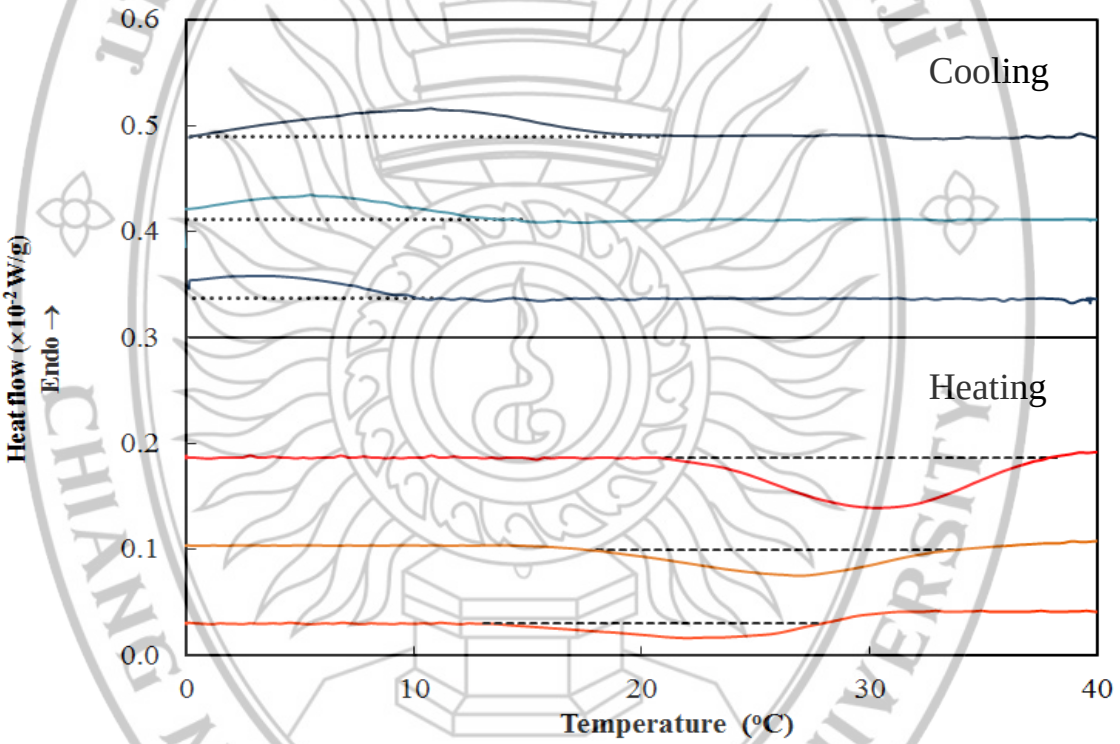
ภาพที่ 4.6 การระบุลักษณะการหักเหรังสีเอกซ์ของผงเจลาตินโค (บน) เจลาตินกระบือชนิด A (กลาง) และเจลาตินกระบือชนิด B (ล่าง)



ภาพที่ 4.7 สเปกตรัม FTIR ของผงเจลาตินโค (บน) เจลาตินกระบือชนิด A (กลาง) และเจลาตินกระบือชนิด B (ล่าง)

4.5 สมบัติทางความร้อน วิทยากระแสและความแข็งแรงของเจลาตินเจล

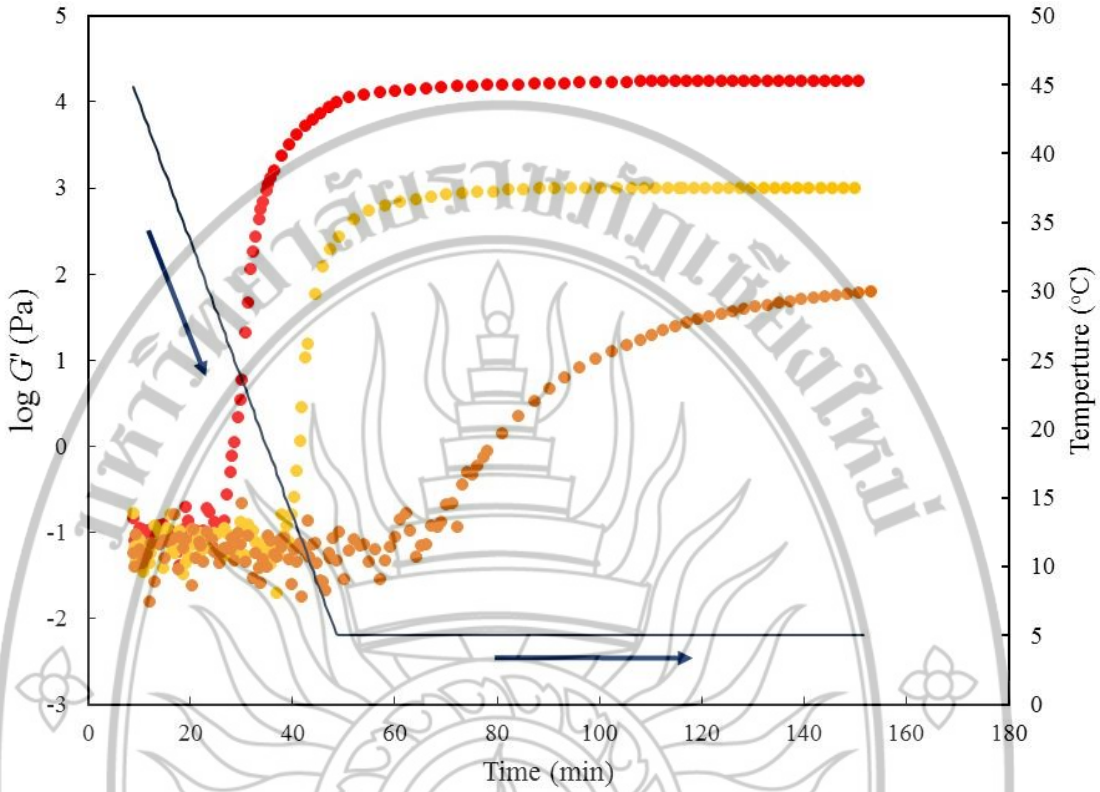
สมบัติทางด้านความร้อนของสารละลายเจลาตินวิเคราะห์ด้วยหลักการ Differential Scanning Calorimetry เพื่อกำหนดตำแหน่งอุณหภูมิและความเข้มของสัญญาณที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเทอร์โมไดนามิกส์แบบที่หนึ่งของสารละลายเจลาติน ได้แก่ การเกิดเจลเจลาตินในขณะลดอุณหภูมิและการหลอมของเจลในขณะเพิ่มอุณหภูมิ จากนั้นนำมาคำนวณการเปลี่ยนแปลงค่าเอนทาลปี (enthalpy, ΔH) จากการดูด (endotherm) หรือคายพลังงาน (exotherm) ของพื้นที่ใต้เส้นกราฟนั้นๆ



ภาพที่ 4.8 สมบัติเชิงความร้อนของสารละลายเจลาตินที่ทุกตัวอย่างระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 แบ่งเป็น การเกิดเจลเจลาตินในขณะทำให้สารละลายเย็น หรือการหลอมตัวของเจลเจลาติน ด้วยอัตราการลดหรือเพิ่มอุณหภูมิ 0.5 องศาเซลเซียสต่อนาที แสดงเจลาตินกระบือสกัดด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ล่าง) เจลาตินกระบือสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (บน) เจลาตินโค (กลาง)

ภาพที่ 4.8 แสดงการคายพลังงานของสารละลายเจลาติน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ เจลาตินกระบือสกัดด้วยสารละลายด่างด่าง เจลาตินกระบือสกัดด้วยสารละลายกรด เปรียบเทียบกับเจลาตินโคมาตรฐานในทางการค้า การทดลองลดอุณหภูมิทุกตัวอย่างจากอุณหภูมิเริ่มต้น 40 องศาเซลเซียสจนถึง 0 องศาเซลเซียสด้วยอัตราเร็ว 0.5 องศาเซลเซียสต่อนาที สัญญาณการเปลี่ยนแปลงความร้อนที่ไหลออกจากตัวอย่างสารละลายเจลาตินกระบือสกัดด้วยด่างมีการคายพลังงานสูงสุดที่อุณหภูมิ 3.81 องศาเซลเซียส คือ 2.2 จูลต่อ 100 กรัมสารละลายเจลาติน การคายพลังงานนี้อธิบายได้ถึงการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างโมเลกุลของพอลิเมอร์โปรตีนจากแบบสายตรงให้พันกันเป็นเกลียวได้ (a coil-to-helix transition) (Alqahtani et al, 2016) โดยการพันเกลียวนี้เริ่มเกิดขึ้นเมื่อลดอุณหภูมิของสารละลายเจลาติน โครงสร้างเกลียวเกิดความแข็งแรงและประสานกันเป็นโครงร่างตาข่ายที่แข็งแรง ซึ่งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันเกิดขึ้นกับเจลาตินอีกสองชนิด โดยมีการเกิดเจลในกรณีเจลาตินกระบือสกัดด้วยกรดมีการคายพลังงานสูงสุด 7.62 จูลต่อ 100 กรัมสารละลายเจลาติน ที่อุณหภูมิ 10.75 องศาเซลเซียส และ เจลาตินโคมีการคายพลังงานสูงสุด 3.42 จูลต่อ 100 กรัมสารละลายเจลาติน ที่อุณหภูมิ 8.44 องศาเซลเซียส

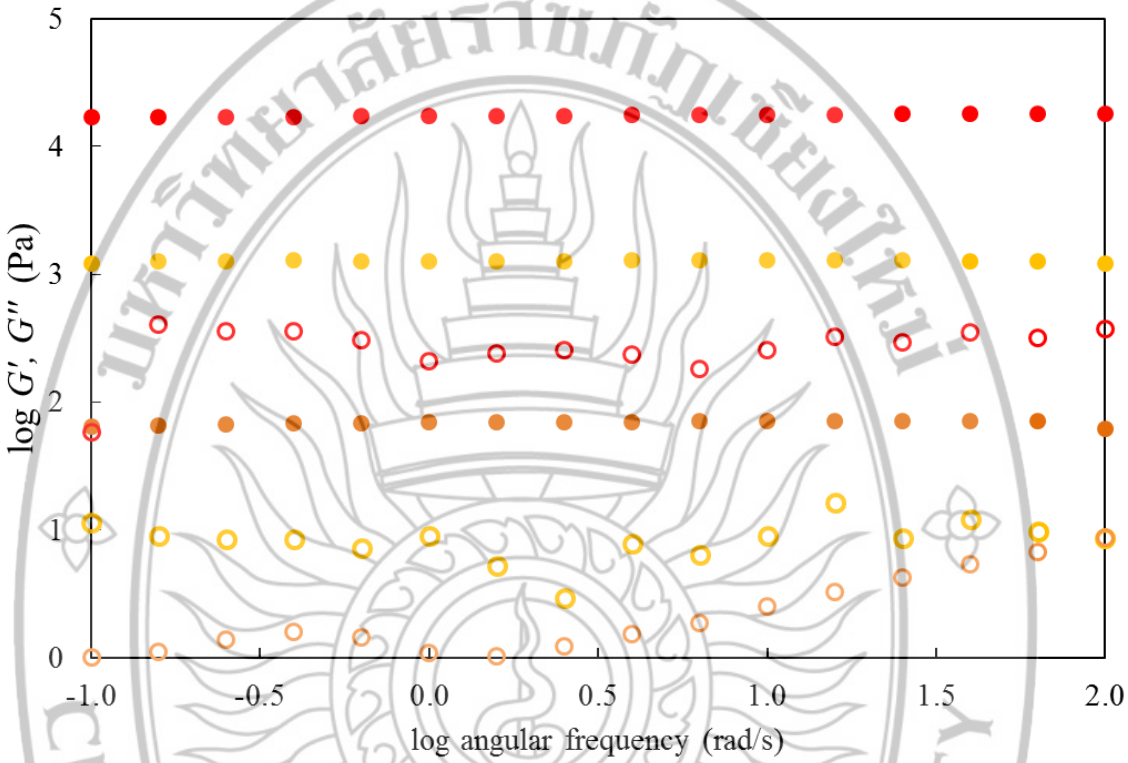
การเพิ่มอุณหภูมิให้กับสารละลายเจลาตินทั้ง 3 ตัวอย่างจากอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ขึ้นไปที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสด้วยความเร็วคงที่ 0.5 องศาเซลเซียสต่อนาที พบว่า สัญญาณการเปลี่ยนแปลงความร้อนไหลออกจากตัวอย่างสารละลายเจลาตินกระบือสกัดด้วยด่างมีการดูดเอาพลังงานเข้าไประบบเจล คือ 2.69 จูลต่อ 100 กรัมสารละลายเจลาติน ที่อุณหภูมิ 22.35 องศาเซลเซียส โดยการดูดพลังงานนี้เกิดขึ้นในเจลเจลาตินที่มีการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเนื้ออ่อน (soft solid) กลับไปเป็นสารละลายได้ (thermoreversible gel) โดยเปลี่ยนโครงสร้างจากโมเลกุลจากแบบพันเป็นเกลียวให้กลับเป็นสายตรงพอลิเมอร์โปรตีน (a helix-to-coil transition) ส่งผลเจลเจลาตินเกิดการหลอม ซึ่งเจลาตินกระบือสกัดด้วยกรดมีการใช้พลังงานหลอมเจลสูงสุด 22.21 จูลต่อ 100 กรัมสารละลายเจลาติน ที่อุณหภูมิ 29.62 องศาเซลเซียส และ เจลาตินโคมีการคายพลังงานสูงสุด 18.44 จูลต่อ 100 กรัมสารละลายเจลาติน ที่อุณหภูมิ 28.32 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.9 วิทยากระแสของสารละลายเจลาตินที่ทุกตัวอย่างระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 แบ่งเป็นในขณะทำให้สารละลายเจลาตินเกิดเจล ด้วยอัตราการลดอุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียสต่อนาที ความถี่เชิงมุมคงที่ 1 เรเดียนต่อวินาทีและการสูญเสียสภาพของตัวอย่างคือไม่เกินร้อยละ 1 แสดงเจลาตินกระบือสกัดด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ล่าง) เจลาตินกระบือสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (บน) และเจลาตินโค (กลาง)

ภาพที่ 4.9 แสดงวิทยากระแสหรือการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการไหลของสสารภายใต้แรงกระทำ วิทยากระแสของสารละลายเจลาตินทุกตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อลดอุณหภูมิลงจากอุณหภูมิเริ่มต้น 45 องศาเซลเซียส อัตราเร็ว 1 องศาเซลเซียสต่อนาที ทั้งนี้ในการลดอุณหภูมิดังกล่าวตัวอย่างได้รับการแรงกระทำในรูปแบบของการให้ตัวอย่างเคลื่อนที่เป็นจังหวะซ้ำๆกัน มีคาบการเคลื่อนที่ในของการสั่นเป็นจังหวะกลับไปมาคงที่ด้วยความถี่เชิงมุมคงที่ 1 เรเดียนต่อวินาที และควบคุมการเสียสภาพของตัวอย่างไม่เกินร้อยละ 1 เพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างถาวรจนไม่สามารถผันกลับสู่สภาพเดิมได้ในระหว่างการเคลื่อนที่เป็นจังหวะดังกล่าว โดยการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการไหลดังกล่าวแสดงในรูปของค่าโมดูลัสยืดหยุ่น (elastic modulus, G') ที่กล่าวถึงคุณสมบัติตัวอย่างที่มีพฤติกรรมคล้าย

ของแข็งและค่าโมดูลัสการไหล (viscous modulus, G'') กล่าวถึงคุณสมบัติตัวอย่างที่มีพฤติกรรมคล้ายของเหลว ในระหว่างการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ลดต่ำลงจนถึงอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.10 วิทยากระแสของเจลเจลาตินที่ทุกตัวอย่างระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่แปรไปตามความถี่เชิงมุมคงที่ 0.1-100 เรเดียนต่อวินาที (หรือลอการิทึมฐานสิบในช่วง -1.0 – 2.0 เรเดียนต่อวินาที) และการสูญเสียสภาพของตัวอย่างคือไม่เกินร้อยละ 1 อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แสดงเจลาตินกระบือสกัดด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ล่าง) เจลาตินกระบือสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก (บน) และเจลาตินโค (กลาง) โดย วงกลมทึบแสดงค่าโมดูลัสยืดหยุ่น (G') วงกลมโปร่งแสดงค่าโมดูลัสการไหล (G'')

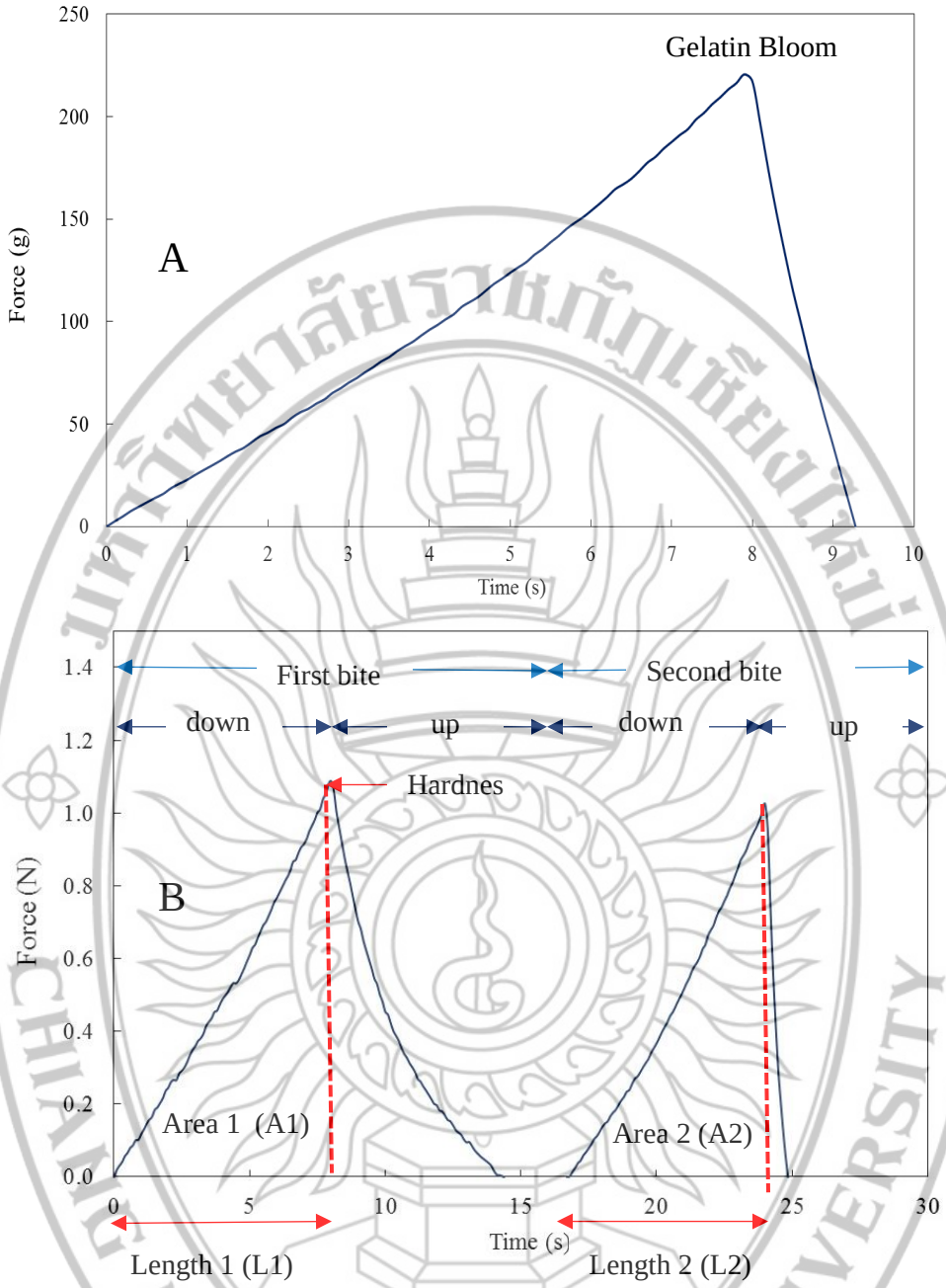
การศึกษาความคงตัวของเจลาตินภายหลังเกิดเจลด้วยวิธีทางวิทยากระแสในภาพที่ 4.10 การผันแปรความถี่เชิงมุมในการเคลื่อนที่ระบบเจลเป็นจังหวะลูกคลื่นในช่วง 0.1-100 เรเดียนต่อวินาที พบว่าเจลเจลาตินทุกตัวอย่างมีค่าโมดูลัสยืดหยุ่นมากกว่าโมดูลัสการไหล (ความแตกต่างประมาณ 10 เท่าหรือ 1 ลอกไซเคิล) และเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโมดูลัสยืดหยุ่นตามค่าความถี่เชิงมุมที่เพิ่มขึ้น แสดงว่าเจลเจลาตินทุกตัวอย่างมีการประสานของสายเพปไทด์ที่แน่นหนาและเกิด

โครงสร้างเจลที่มีความแข็งแรง เจลาตินกระบือชนิด A มีความคงตัวของเจลมากที่สุด รองลงมาคือ เจลาตินกระบือชนิด B และเจลาตินจากโค ตามลำดับ

การลดอุณหภูมิตัวอย่างสารละลายเจลาตินกระบือสกัดด้วยด่าง พบว่า ในช่วง 1 ชั่วโมงที่บ่มตัวอย่างมีพฤติกรรมเป็นของเหลวหรือมีค่าโมดูลัสการไหล (ข้อมูลไม่ได้แสดงในกราฟ) จนตัวอย่างมีอุณหภูมิต่ำถึง 10 องศาเซลเซียส จึงเกิดการพัฒนาค่าโมดูลัสยืดหยุ่นต่อเนื่องจนสิ้นสุดระยะเวลา 160 นาที ส่วนค่าโมดูลัสการไหลนั้นมีการเพิ่มขึ้นน้อยมากจนสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้การเปลี่ยนพฤติกรรมที่เป็นของเหลวจนเกิดเจลเจลาตินดังกล่าวเพราะอุณหภูมิที่ต่ำลงทำให้โมเลกุลของสายเพปไทด์มีการเคลื่อนตัวได้ช้าลงและเมื่อโมเลกุลเคลื่อนตัวมาใกล้ในระยะห่างที่จะเกิดการพันเป็นสายเกลียวได้และเกิดเป็นโครงสร้างการพันเกลียวที่แน่นหนาและเป็นระเบียบ เรียกว่า ร่างแหสามมิติ ซึ่งการเกิดเจลเจลาตินกระบือสกัดด้วยกรดใช้เวลาในการเกิดเจล นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิเริ่มต้น 23 องศาเซลเซียส และเจลาตินโคใช้เวลาในการเกิดเจล นาน 40 นาที ที่อุณหภูมิเริ่มต้น 18 องศาเซลเซียส โดยเจลที่ได้จากตัวอย่างทั้งสองมีค่าค่าโมดูลัสยืดหยุ่นมากกว่าเจลาตินกระบือสกัดด้วยด่าง และการเกิดเจลเมื่อทดสอบทางกลด้วยวิทยากระแสให้ผลการวิเคราะห์ที่สอดคล้องในการเกิดเจลกับการเปลี่ยนสมบัติทางความร้อนดังที่กล่าวมาแล้ว

เนื้อสัมผัสของเจลาติน เป็นผลมาจากอิทธิพลของคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่สืบเนื่องมาจากวัตถุดิบและวิธีการสกัด อิทธิพลทางเคมี เช่น ปริมาณโปรตีนและชนิดของกรดอะมิโน (prolein/hydroxyprolein) ส่วนอิทธิพลทางกายภาพเช่น สมบัติทางความร้อนและวิทยากระแสของการจัดเรียงโมเลกุลโปรตีนจนเกิดเจล เนื้อสัมผัสของเจลาตินเป็นตัวบ่งชี้ถึงโครงสร้างภายในอาหารที่แสดงผลออกมาในรูปแบบของพฤติกรรมการไหล หรือการสูญเสียรูปร่างจากการกดทับของแรงจากเครื่องวัดเนื้อสัมผัส ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีหลักการทำงานเลียนแบบการเคี้ยวของมนุษย์ โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงกระทำบนตัวอย่างกับระยะเวลาในการทดสอบ (ธัญญากรณ์, 2550)

ความแข็งแรงของเจลเป็นตัวแปรสำคัญหนึ่งในการกำหนดคุณภาพและมาตรฐานของเจลาติน ความแข็งแรงของเจลนั้นเกี่ยวข้องกับความสามารถของเจลาตินในการอุ้มน้ำและเกิดโครงสร้างสามมิติในระหว่างที่มีการลดอุณหภูมิ การทดสอบความแข็งแรงของเจลาตินตามวิธีการมาตรฐานสถาบันผู้ผลิตเจลาตินประเทศสหรัฐอเมริกา (2012) กำหนดขึ้นมาเพื่อการจัดเกรดและควบคุมคุณภาพเจลาตินในทางการค้า โดยกำหนดความเข้มข้นเจลาตินไว้ที่ ร้อยละ 6.67 มวลต่อปริมาตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสนาน 16-18 ชั่วโมง ก่อนนำไปวัดเนื้อสัมผัสด้วยการกดบนเจลาตินด้วยหัววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 นิ้วที่ความเร็ว 0.5 มิลลิเมตรต่อนาที กดบนตัวอย่างเจลลึก 4 มิลลิเมตร ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแรงกด (นิวตัน) และเวลา (วินาที) (GMIA, 2013) ดังแสดงในภาพที่ 4.7A



ภาพที่ 4.11 ลักษณะกราฟจากการวัดค่า กรัม บลูม (A) และ การวัดเนื้อสัมผัสด้วยวิธี TPA (B)

โดยการวัดด้วยวิธี TPA มีค่าอื่นๆที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

ค่าความแข็ง (Hardness) : จุดสูงสุดในการกดครั้งที่ 1

ความสามารถเกาะรวมตัวกัน (Cohesiveness) : A2/A1

ความยืดหยุ่น (Springiness) : L2/L1

ความเหนียวเป็นยางหรือกาว (Gumminess) : A2/A1 x Hardness

การทนต่อการเคี้ยว (Chewiness) : Gumminess x Springiness

ตารางที่ 4.5 ผลการวัดเนื้อสัมผัสของเจลเจลาติน

ค่าทดสอบ	เจลาตินกระบือสกัดด้วยสารละลายกรดโฮโดรคลอริก	เจลาตินกระบือสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียม ไฮดรอกไซด์	เจลาตินโค
ค่าความแข็งแรงของเจล (กรัม บลูม)	236.76a±1.23	135.33c±3.34	220.67b±2.35
ค่าความแข็ง (นิวตัน)	2.23a±0.12	1.33c±0.21	2.16b±0.12
ความสามารถเกาะรวมตัวกัน	0.84a±0.12	0.73b±0.13	0.83a±0.08
ความยืดหยุ่น	0.98±0.42	0.97±0.42	0.99±0.10
ความเหนียวเป็นยาง (นิวตัน)	1.88a±0.43	0.96c±0.24	1.80b±0.23
การทนต่อการเคี้ยว (นิวตัน)	1.84a±0.35	0.95c±0.17	1.78b±0.23

หมายเหตุ ตัวเลขในตารางแสดงค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละแถวแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่นัยสำคัญ 0.05 ($p<0.05$)

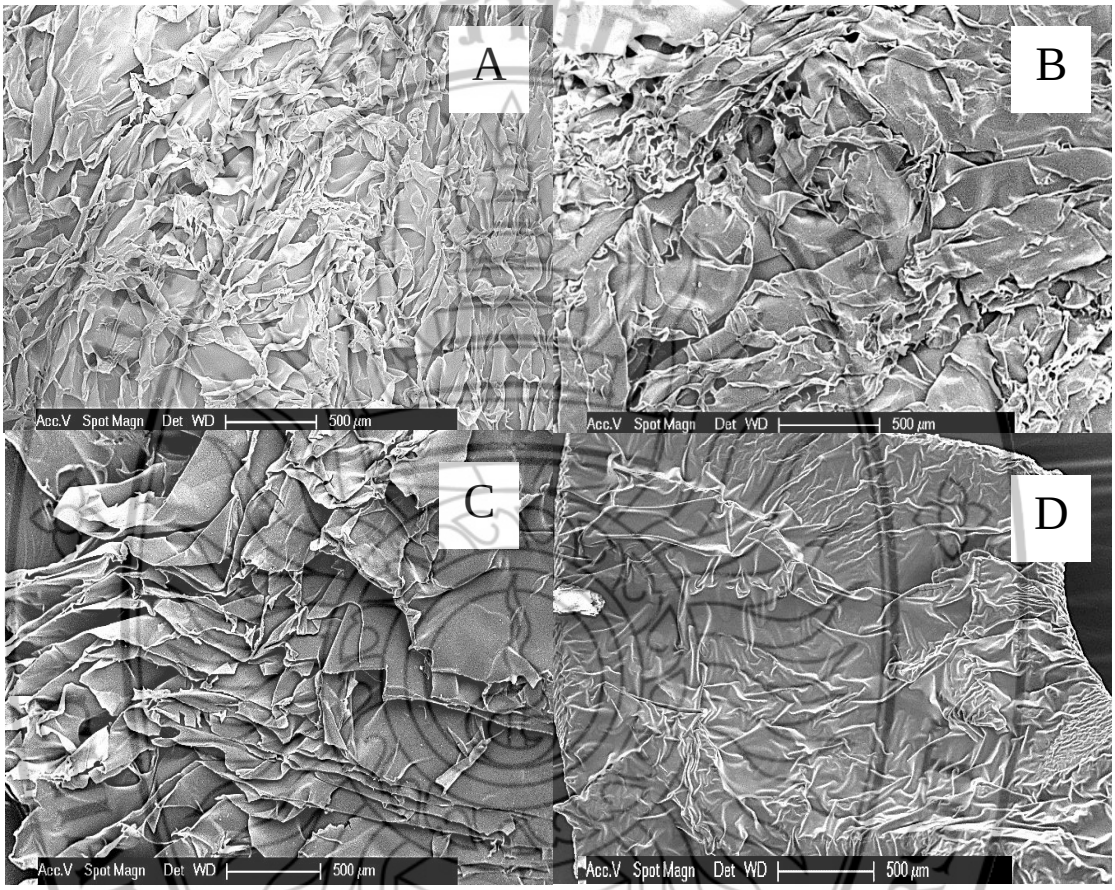
ภาพที่ 4.7A ค่าแรงกดที่อ่านได้สูงสุดแสดงถึงความแข็งแรงของเจล โดยคุณภาพตามมาตรฐานของสถาบันผู้ผลิตเจลาตินประเทศสหรัฐอเมริกา (2012) กำหนดไว้ว่า เจลาตินที่เหมาะสมในการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารทั่วไปต้องมีค่าอยู่ในช่วง 50 ถึง 300 กรัม บลูม ตารางที่ 4.5 ค่าความแข็งแรงของเจลเจลิตินทุกตัวอย่างได้มาตรฐานสากลและเจลาตินกระบือสกัดด้วยกรด มีค่าบลูมสูง และเจลาคินโคมีค่าบลูมปานกลาง ส่วนเจลาตินกระบือสกัดด้วยด่างมีแนวโน้มค่าบลูมต่ำ (ค่าบลูมสูงอยู่ในช่วง 225 ถึง 325 กรัม บลูม, ค่าบลูมปานกลางอยู่ในช่วง 175 ถึง 225 กรัม บลูม และค่าบลูมต่ำอยู่ในช่วง 50 ถึง 125 กรัม บลูม) ทั้งนี้ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงของบลูมในทุกตัวอย่างนั้นมีสาเหตุจากแหล่งของวัตถุดิบ เช่น เจลาตินโคสกัดจากกระดูกซึ่งเป็นแหล่งของคอลลาเจนอยู่มาก วิธีการสกัดในการสกัดเอาเจลาตินให้ออกมาจากคอลลาเจนที่คลายตัวให้ได้ปริมาณผลผลิตที่มากที่สุดและได้คุณลักษณะเจลาตินที่แข็งแรง โครงสร้างทางเคมี คือความยาวของสายกรดอะมิโน ที่มีสายยาวก่อให้เกิดการเกาะเกี่ยวกันของสายโปรตีน ทำให้เกิดบริเวณเชื่อมต่อที่ซับซ้อน (jungtion zones) โดยผ่านพันธะไฮโดรเจนของหมู่พันธะไฮดรอกซิล (-OH) และองค์ประกอบของอิมิโน (imino) สองชนิด (prolein/hydroxyprolein) ช่วยในการเชื่อมต่อสายเพบไทด์ที่มีพันธะไฮดรอกซิล (-OH) อิสระกับโมเลกุลของน้ำจึงทำให้เกิดความเสถียรระหว่างพันธะไฮโดรเจน รวมทั้งความเข้มข้นของเจลาตินสกัดและการกระจายตัวของมวลโมเลกุลในเจลาติน (Chancharern et al, 2016; Mulyani et al, 2017b; Sompie, et at, 2015)

การทดสอบเนื้อสัมผัสเจลเจลาตินด้วยวิธี Texture Profile Analysis (TPA) ซึ่งเลียนแบบการกัดเคี้ยวในช่องปากสองครั้ง (two bite test) โดยมีความสัมพันธ์ระหว่างแรงที่กระทำกับตัวอย่างต่อเวลาผ่านการกดหัววัดเคลื่อนที่มากดเจลเจลาตินเป็นจังหวะ การกดหัววัดลงและยกหัววัดขึ้น จำนวน 2 รอบ แรงที่กระทำนั้นอาจทำให้ตัวอย่างรักษาสภาพโครงสร้างเจล หรือทำให้เจลเสียสภาพไปขึ้นกับความแข็งแรงของโครงสร้างเจลและร่างแหโปรตีนภายใน จากนั้นนำผลการวัดมาวิเคราะห์ค่าทดสอบและเสนออกมาในรูปแบบการพรรณนาคำศัพท์ที่แสดงถึงคุณภาพทางประสาทสัมผัสดังแสดงในภาพที่ 4.7B

ผลการทดสอบด้วยวิธี TPA เจลเจลาติน พบว่า เจลาตินกระบือ ชนิด A มีค่าพรรณนาหลายค่ามากกว่าเจลาตินกระบือ ชนิด B ได้แก่ ค่าความแข็ง (แรงที่ใช้ในการกดเจลระหว่างฟันกรามเพื่อเปลี่ยนรูปร่างตัวอย่าง) ความสามารถเกาะรวมตัวกัน(ความแข็งแกร่งของพันธะภายในเจลที่ทำต่อแรงกดก่อนที่เจลจะเปลี่ยนสภาพไป) การทนต่อการเคี้ยว(ระยะเวลานานที่ใช้ในการเคี้ยวบดเจลจนกระทั่งกลืนได้) และความเหนียวเป็นยาง (พลังงานที่ใช้เคี้ยวเจลจนกระทั่งกลืนได้) ยกเว้น ความยืดหยุ่น (ความสามารถในการคืนตัวกลับมาเหมือนเดิมเมื่อมีการถอนแรงกดออกจากเจล) ของเจลาตินกระบือชนิด A และ ชนิด B ที่ไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าดังกล่าวระหว่างเจลาตินโค ชนิด B และ เจลาตินกระบือ ชนิด B นั้นให้ค่าผลการวัดเนื้อสัมผัสที่แตกต่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่างของวัตถุดิบและสภาวะที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกัน ส่วนเจลาตินกระบือชนิด A ที่ได้จากงานวิจัยนี้ พบว่าสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Mulyani et al (2017) รายงานว่า เจลาตินจากหนังกระบือที่สกัดด้วย กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.9 โมล่าห์ หรือสกัดด้วยกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1.5 โมล่าห์ หรือสกัดด้วยกรดซิทริก ความเข้มข้น 0.6 โมล่าห์ ใช้เวลาสกัดนาน 4 ชั่วโมง โดยมีค่า บลูม อยู่ในช่วง 230-260 กรัม บลูม โดยความผันแปรของคุณสมบัติเจลาตินอาจเกิดจากความแตกต่างของวัตถุดิบกระบือ

โครงสร้างจุลภาคของเจลาตินสกัดจากหนังกระบือเปรียบเทียบกับเจลาตินโคและแผ่นหนังกระบือที่ใช้เป็นวัตถุดิบแสดงดังในภาพที่ 4.8 โครงสร้างของเจลาตินเจลที่มีความแข็งแรงสูงเกิดจากการจัดเรียงตัวและการเกาะกันของโมเลกุลโปรตีนเกิดเป็นเจลร่างแห จึงได้เจลที่มีความเสถียร (Benjakul et al, 2009) ทั้งนี้พบว่าเจลาตินกระบือ ชนิด A มีการจัดเรียงโครงสร้างที่เป็นระเบียบ มีความหนาแน่นของตาข่ายโปรตีน รูพรุนในตาข่ายมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 4.8A) ในขณะที่รูพรุนของเจลาตินโคมีขนาดรูพรุนที่ใหญ่กว่าและมีโครงสร้างของโปรตีนที่จัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 4.9B) โดยความไม่เป็นระเบียบของโครงสร้างเห็นได้ชัดเจนในเจลาตินสกัดด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีลักษณะการซ้อนทับของแผ่นเจลาตินขนาดใหญ่ (ภาพที่ 4.9C) ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับวัตถุดิบแผ่นหนังกระบือตากแห้งก่อนนำมาสกัดที่อัดแน่นด้วยเส้นใยคอลลาเจน (ภาพที่ 4.9D) ดังนั้น การใช้สายละลายในการเตรียมตัวอย่างเพื่อย่อยสลายคอลลาเจนและสกัดเจลาตินออกจากหนังกระบือจึงมีความสำคัญในการเตรียมตัวอย่าง

เพราะมีผลต่อร้อยละผลผลิตที่ได้ ชนิดของเจลาตินและคุณลักษณะโครงสร้างภายในเจลเจลาตินที่สกัดได้ อีกทั้งยังส่งผลต่อสมบัติทางความร้อน วิทยากระแสและเนื้อสัมผัสของเจลเจลาตินด้วย



ภาพที่ 4.12 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบส่องกราด ถ่ายที่กำลังขยาย 500 เท่า
(A) เจลาตินหนังกระบือสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก
(B) เจลาตินโค
(C) เจลาตินหนังกระบือสกัดด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์
(D) แผ่นหนังกระบือตากแห้ง