สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 หนังสัตว์

หนังเกิดจากเนื้อเยื่อต่างๆประกอบเข้าด้วยกัน และรวมถึงอวัยวะต่างๆเข้าด้วยกัน โดยถ้าพิจารณาถึงหน้าที่ตามธรรมชาติจะพบว่าสามารถแบ่งเนื้อเยื่อได้เป็น กล้ามเนื้อ ประสาท ต่อมและสารคัดหลั่ง ไขมัน เลือด ฯลฯ ในส่วนของอวัยวะจะมีกล้ามเนื้อ ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และเส้นเลือด

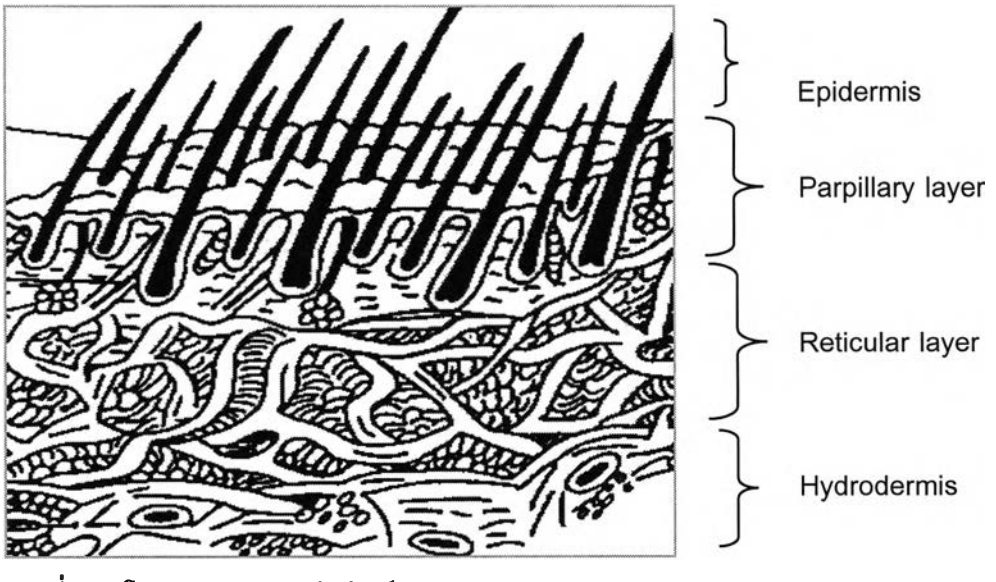
หน้าที่ตามธรรมชาติของผิวหนังเป็นสิ่งที่สำคัญที่สุด หนึ่งในหน้าที่หลักของผิวหนังคือการควบคุมอุณหภูมิของร่างกายให้คงที่โดยอาศัยการระบายความร้อนจากต่อมเหงื่อ ต่อมไขมันจะช่วยรักษาผิวหน้าของหนังโดยอาศัยน้ำมันและลดการระเหยของผิว นอกจากนี้ผิวหนังยังช่วยป้องกันแบคทีเรีย ช่วยป้องกันแสงอัลตราไวโอเลตที่จะเข้ามาทำลายเนื้อเยื่อ

2.1.1 โครงสร้างของหนังสัตว์ ผิวหนังของสัตว์มีกระดูกสันหลังประกอบด้วย 3 ชั้น

ก) ชั้นที่ 1 Epidermis เป็นชั้นนอกสุด ที่เป็นหนังกำพร้า โดยชั้นหนังส่วนนี้จะมีเครา ติน (Keratin) เป็นส่วนประกอบหลัก

ข) ชั้นที่ 2 Dermis แบ่งเป็นอีกชั้นย่อยๆ อีก 2 ชั้น คือ Papillary layer ที่มีโครงสร้าง เป็นอีลาสติน (Elastin) ที่อยู่รอบๆรากขน ซึ่งชั้นหนังส่วนนี้จะช่วยในการปรับอุณหภูมิ หนังอีกชั้นคือ Reticular layer ซึ่งเป็นส่วนที่มีคอลลาเจน (Collagen)อยู่ โดยจะนำหนังส่วนนี้ไปสกัดเจลาติน

ค) ชั้นที่ 3 Hydrodermis เป็นชั้นในสุดที่เป็นหลอดเลือด ไขมัน เนื้อ



รูปที่ 2.1 *โครงสร้างของหนังสัตว์*

กระบวนการฟอกหนังด้วยแคลเซียมออกไซด์ จะส่งผลให้ชั้นหนัง Epidermis สลายตัว ซึ่งถือเป็นกลไกในการกำจัดขน โดยกระบวนการนี้จะไม่ส่งผลกระทบถึงชั้นของคอลลาเจน

2.1.2 โปรตีนในหนังสัตว์ ชนิดของโปรตีนในหนังสัตว์

ก) โกลบูลา โปรตีน (Globular protein) เป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อน ที่สามารถละลายได้ในสารละลาย มีหลายชนิด เช่น

- อัลบูมิน (Albumin) เป็นโปรตีนที่พบได้ในทั่วไปในเนื้อเยื่อพืชและสัตว์ พบในเลือดเป็นซีรัม อัลบูมิน (Serum albumin)
- โกลบูลิน (Globulin) เป็นโปรตีนที่พบในเม็ดโลหิตแดง
- เมลานิน (Melanin) เป็นรงควัตถุสีดำที่พบในเซลล์ผิวหนัง

ข) ไฟบรัส โปรตีน (Fibrous protein) เป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นเส้นใย ไม่ละลายในน้ำ เช่น

- คอลลาเจน (Collagen) เป็นส่วนที่ให้ความแข็งกับเซลล์ พบในกระดูก เอ็น และเนื้อเยื่อ
- อีลาสติน (Elastin) เป็นโปรตีนที่พบในผนังหลอดเลือด เป็นส่วนที่ให้ความยืดหยุ่นกับ เนื้อเยื่อ สามารถถูกย่อยสลายโดยน้ำย่อย
- เคราติน (Keratin) เป็นโปรตีนที่พบใน ผม ขน เขาสัตว์ ไม่ถูกย่อยสลายโดยน้ำย่อย

2.2 คอลลาเจน

คอลลาเจน (Collagen) เป็นศัพท์มาจากภาษากรีกที่มีความหมายว่า “to produce glue” ซึ่งในอดีตคอลลาเจนจากกระดูกและผิวหนังจะถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตกาว ซึ่งคอลลาเจนจากสิ่งมีชีวิตถือเป็นกาวชนิดหนึ่ง

คอลลาเจนเป็นเส้นใยโปรตีนชนิดหนึ่งที่ได้จากผิวหนัง กระดูก เนื้อเยื่อ เส้นเลือด ลำไส้ ฟัน เอ็น ฯลฯ ของสิ่งมีชีวิต คอลลาเจนที่พบในปัจจุบันมีมากกว่า 20 ชนิด แต่คอลลาเจนที่พบส่วนมากมี 4-5 ชนิดคือ

- Type I Collagen พบมากในผิวหนัง เนื้อเยื่อ ซึ่งคอลลาเจนชนิดนี้มี Tensile strength สูงทำให้ช่วยเพิ่มความแข็งแรง และป้องกันแรง ความเค้น ความเครียดที่เกิดขึ้น
- Type II Collagen คอลลาเจนชนิดนี้พบในกระดูกอ่อนมากกว่า 50%
- Type III Collagen ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับโครงสร้างที่เป็นโพรง เช่นลำไส้
- Type IV Collagen ทำหน้าที่คล้ายเมมเบรนพบมากในเลือด และไต

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.1 โครงสร้างของคอลลาเจน

$$(Gly - X - Y)_n$$

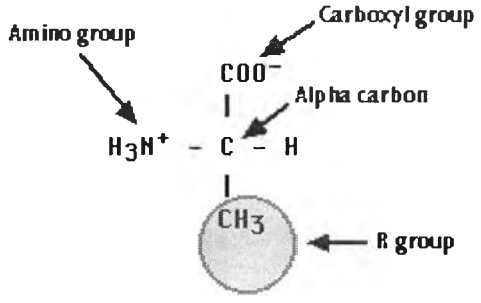
โครงสร้างของคอลลาเจนประกอบด้วยกรดอะมิโนต่อเข้าด้วยกัน โดยมีกรดอะมิโน Glysine เป็นส่วนประกอบหลัก

X แทนกรดอะมิโน ส่วนมากในคอลลาเจนตำแหน่งของ X เป็น proline

Y แทนกรดอะมิโน ส่วนมากในคอลลาเจนตำแหน่งของ Y เป็น hydroxyproline

2.2.2 กรดอะมิโน (Amino acids)

กรดอะมิโนเป็นมอนอเมอร์ของโปรตีน ซึ่งคุณสมบัติและรูปร่างของโปรตีนที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่มาจัดเรียงตัวรวมกัน



รูปที่ 2.2 *สูตรโครงสร้างของกรดอะมิโน Alanine*

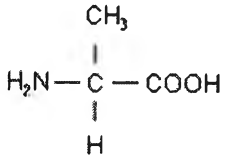
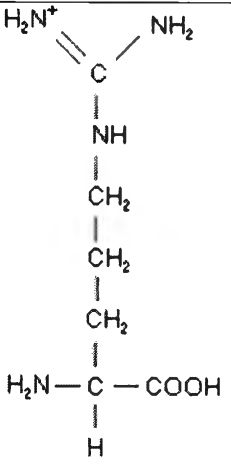
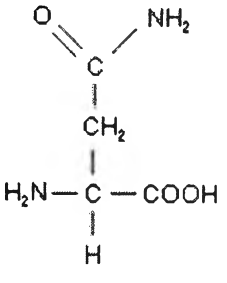
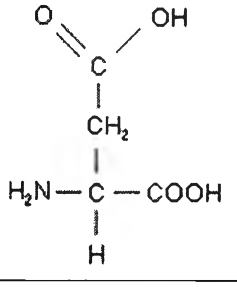
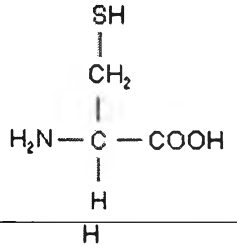
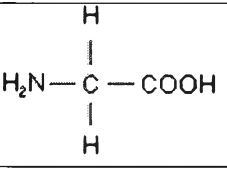
http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/A/AminoAcids.html

โดยทั่วไปกรดอะมิโนทุกชนิดจะประกอบด้วยส่วนประกอบหลักๆดังต่อไปนี้

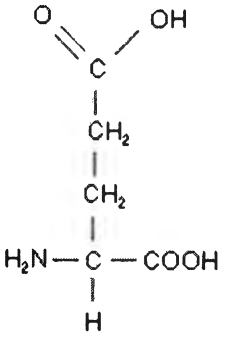
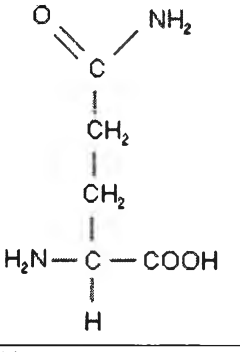
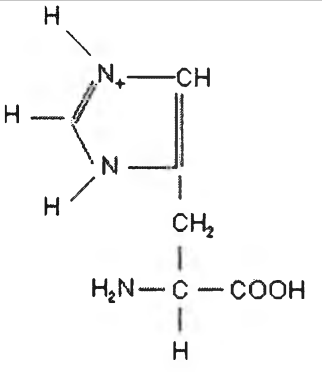
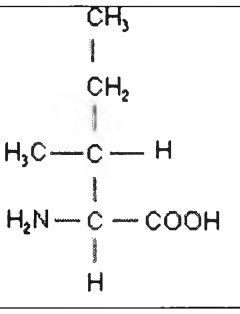
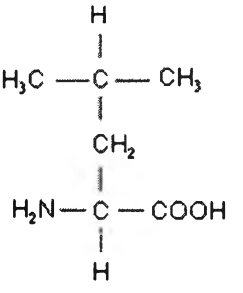
- แอลฟาคาร์บอนอะตอม (Alpha Carbon atom)
- หมู่อะมิโน (NH_2)
- หมู่คาร์บอกซิล (COO-)

ส่วนที่ทำให้กรดอะมิโนแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันคือ R group

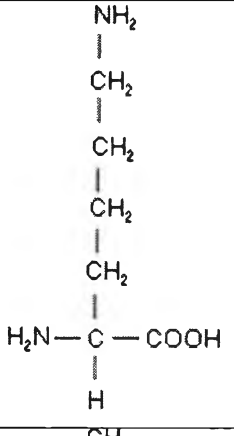
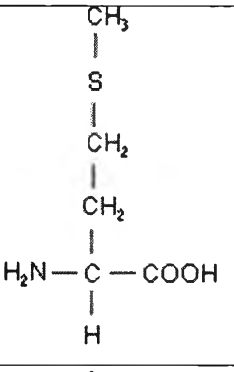
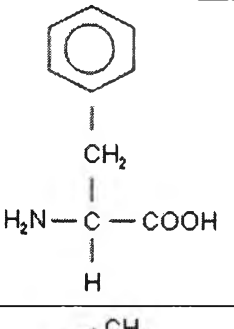
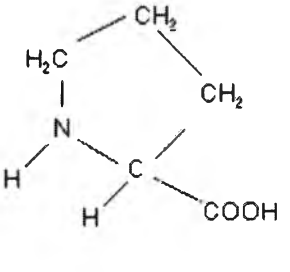
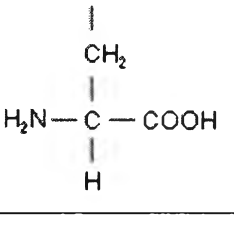
ตารางที่ 2.1 *ชนิด ชื่อย่อ และสูตรโครงสร้างของกรดอะมิโน*

ชนิดกรดอะมิโน	ชื่อย่อ	สูตรโครงสร้าง
Alanine	Ala	
Arginine	Arg	
Asparagine	Asg	
Asparatic acid	Asp	
Cysteine	Cys	
Glysine	Gly	

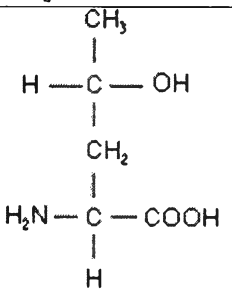
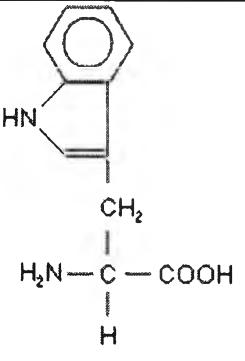
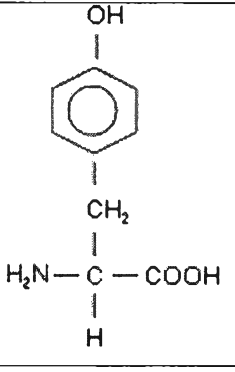
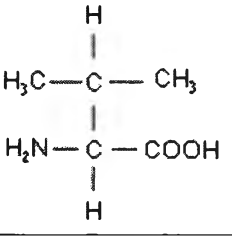
ตารางที่ 2.1(ต่อ) *ชนิด ชื่อย่อ และสูตรโครงสร้างของกรดอะมิโน*

ชนิดกรดอะมิโน	ชื่อย่อ	สูตรโครงสร้าง
Glutamic acid	Glu	
Glutamine	Gln	
Histidine	His	
Isoleucine	Ile	
Leucine	Leu	

ตารางที่ 2.1(ต่อ) *ชนิด ชื่อย่อ และสูตรโครงสร้างของกรดอะมิโน*

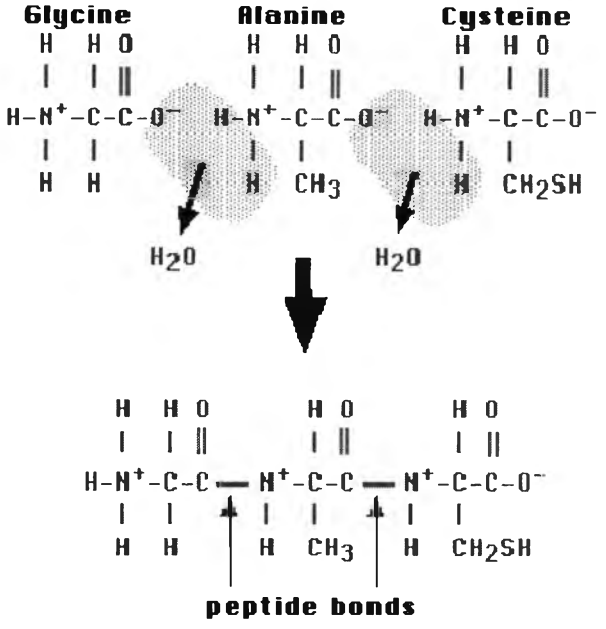
ชนิดกรดอะมิโน	ชื่อย่อ	สูตรโครงสร้าง
Lysine	Lys	
Methionine	Met	
Phenylanine	Phe	
Proline	Pro	
Serine	Ser	

ตารางที่ 2.1(ต่อ) *ชนิด ชื่อย่อ และสูตรโครงสร้างของกรดอะมิโน*

ชนิดกรดอะมิโน	ชื่อย่อ	สูตรโครงสร้าง
Threonine	Thr	
Tryptophan	Trp	
Tyrosine	Tyr	
Valine	Val	

2.2.3 พอลิเปปไทด์ (Polypeptide)

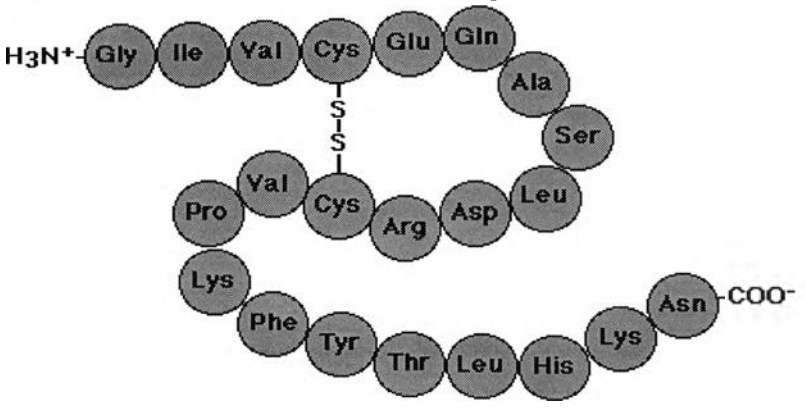
พอลิเปปไทด์ เป็นสายโซ่ที่เกิดจากการรวมตัวกันของกรดอะมิโน โดยกรดอะมิโนแต่ละตัวจะเชื่อมต่อแบบโควาเลนท์โดยพันธะเปปไทด์ (Peptide bond)



รูปที่ 2.3 *การเชื่อมต่อกันของกรดอะมิโน 3 ตัว ด้วยพันธะเปปไทด์*

http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/P/Polypeptides.html

จากรูป 2.3 แสดงการรวมตัวกันของกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ Glycine, Alanine และ Cysteine โดยกรดอะมิโนแต่ละตัวจะมีกลุ่มอะมิโนอยู่ทางฝั่งซ้ายและกลุ่มคาร์บอกซิลอยู่ทางฝั่งขวา ในการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ ออกซิเจนจากกลุ่มคาร์บอกซิลของกรดอะมิโนตัวซ้ายจะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจน 2 อะตอมจากกลุ่มอะมิโนของกรดอะมิโนตัวขวากลายเป็นน้ำ ทำให้คาร์บอนกับไนโตรเจนที่เหลืออยู่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์



รูปที่ 2.4 *พอลิเปปไทด์ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ของกรดอะมิโน*

http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/P/PrimaryStructure.html

2.2.4 Collagen type I

คอลลาเจนที่พบในปัจจุบันมีมากกว่า 20 ชนิด แต่เจลาตินจะถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจากคอลลาเจน Type I เท่านั้น โดย Type I มีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

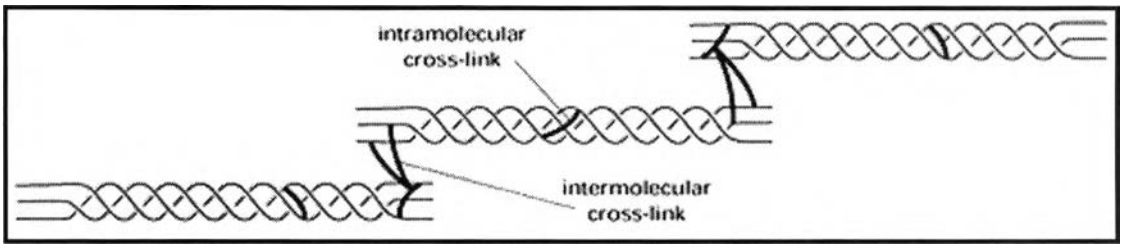
- สังเคราะห์ขึ้นจาก Fibroblast โดย Fibroblast จะขับ procollagen ออกมา
- โมเลกุล 2 ใน 3 ประกอบไปด้วย glycine, proline, hydroxyproline
- คอลลาเจน Type I ประกอบด้วยสายโซ่ของ α1 2 สาย และ α2 1 สาย
- โครงสร้างของโทรโปคอลลาเจน (Tropocollagen) มีความยาว 2600 Å เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 Å มีมวลโมเลกุล 300,000 daltons

2.2.5 พันธะในคอลลาเจน

คอลลาเจนเป็นโปรตีนที่ประกอบขึ้นจากพอลิเปปไทด์ 3 เส้นพันกันเข้ามาเป็น tropocollagen ซึ่งมีโครงสร้างเป็นแบบเกลียว (triple helix structure) ซึ่งความเสถียรของคอลลาเจนเกิดจากพันธะภายในคอลลาเจนซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ

1) Intramolecular crosslink คือพันธะที่เกิดขึ้นภายใน tropocollagen

2) Intermolecular crosslink คือพันธะที่เกิดขึ้นระหว่าง tropocollagen



รูปที่ 2.5 *intramolecular & intermolecular crosslink*

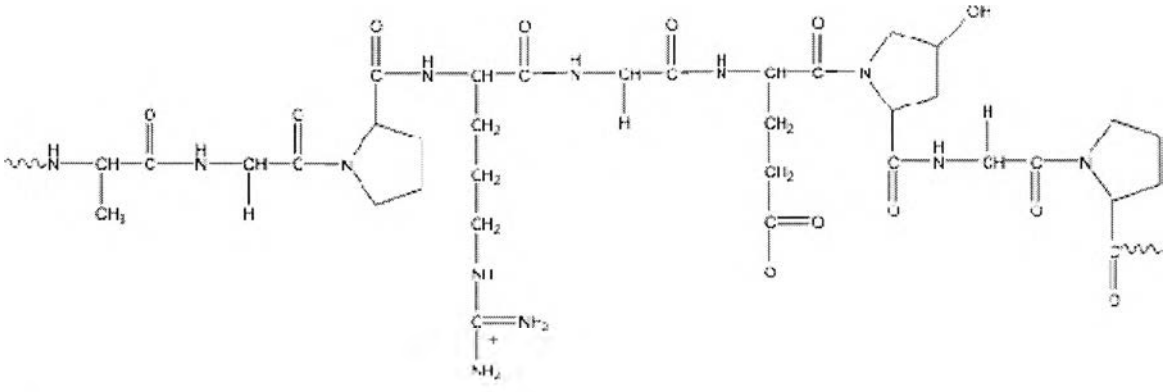
สำหรับพันธะที่เกิดในคอลลาเจนนั้นจะเกิดขึ้นจาก lysine residue โดยถ้า lysine residue 2 ตัวทำปฏิกิริยากันจะเกิดพันธะที่เรียกว่า “Aldol condensation” แต่ถ้า lysine ถูกเปลี่ยนเป็น allysine พันธะที่เกิดขึ้นเรียกว่า “Schiff base intermediates” โดยการเกิด intramolecular หรือ intermolecular crosslink ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของ lysine ตัวที่สอง คือ ถ้า lysine ตัวที่สองอยู่ใน tropocollagen เดียวกันกับ lysine ตัวแรกก็จะเกิด intramolecular crosslink แต่ถ้าอยู่ต่าง tropocollagen กันก็จะเกิด intermolecular crosslink

2.3 เจลาติน

คำว่า “เจลาติน” มาจากคำในภาษาละตินว่า “Gelatum” ซึ่งแปลว่า การแข็งตัว เจลาติน เป็นพอลิเปปไทด์ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 15,000 กรัม ถึงมากกว่า 250,000 กรัม และสังเคราะห์มาจากการไฮโดรไลซิสของคอลลาเจน โดยการใช้ความร้อนและใช้สารช่วยอื่น เช่น กรดหรือด่าง ทำให้โครงสร้างคอลลาเจนถูกทำลายและเปลี่ยนแปลงเป็นสารเจลาติน ซึ่งคอลลาเจนนั้นเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในหนังสัตว์ทั้งหนังสัตว์ใหญ่ (hide) เช่น โค กระบือ และหนังสัตว์เล็ก (skin) เช่น หมู นอกจากนี้คอลลาเจนยังเป็นส่วนประกอบสำคัญใน กระดูก (bone) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสีขาวของสัตว์ (white connective tissues)

การนำเจลาตินมาใช้งานในรูปของกาว มีการบันทึกครั้งแรกประมาณ 4000 ปีก่อนคริสต์ศักราชและมีการใช้งานกันต่อเนื่องมากว่าร้อยปี โดยช่วงแรกกาวจะถูกสกัดขึ้นมาจากการต้มกระดูกและชิ้นหนังในสารละลายด่าง จากนั้นมาทำให้เย็น ต่อมาในช่วงศตวรรษที่ 17 มีการผลิตเจ-ลาตินทางการค้าขึ้นเป็นครั้งแรก และช่วงต้นของศตวรรษที่ 19 กรรมวิธีการผลิตเจลาตินเพื่อผลทางการค้าได้มีการพัฒนาขึ้นเป็นอย่างมาก โดยสามารถที่จะผลิตเจลาตินที่มีมวลโมเลกุลสูง มีคุณสมบัติของเจลที่ดี

จากการที่เจลาตินสังเคราะห์ขึ้นมาจากการไฮโดรไลซิสของคอลลาเจน จึงถือได้ว่าคอลลา-เจนเป็นวัตถุดิบที่แท้จริงในการสังเคราะห์เจลาติน เจลาตินในสถานะของแข็งจะมีลักษณะแข็ง ใสคล้ายแก้ว มีสีเหลืองปนน้ำตาล



รูปที่ 2.6 *สูตรโครงสร้างของเจลาติน*

2.4 กระบวนการผลิตเจลาติน

2.4.1 การปรับสภาพ (Conditioning) กระบวนการผลิตเจลาติน การปรับสภาพเป็นขั้นตอนแรกของการทำเจลาติน เพื่อกำจัดส่วนที่เป็นไข น้ำมัน และแร่ธาตุบางส่วนออก ซึ่งจะทำให้ได้คอลลาเจนที่มีสภาพเหมาะสมก่อนที่จะนำไปสกัดเจลาติน โดยหลังจากทำการล้างและแบ่งออกเป็นชิ้นเล็กๆแล้ว สำหรับวัตถุดิบพวกหนังสุกร จะถูกนำมาแช่ในกรดที่ pH < 2 เป็นเวลา 1-4 วัน ที่อุณหภูมิต่ำ ส่วนวัตถุดิบพวกหนังโค กระบือ จะทำการปรับสภาพโดยการใช้เบส โดยคุมค่า pH อยู่ที่ประมาณ 11-12 โดยทั่วไปสามารถแบ่งวิธีของการปรับสภาพ (conditioning) ออกได้เป็น 2 วิธี วิธีที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ คือ

Type A Gelatin เป็นเจลาตินที่ใช้กรดในการปรับสภาพ (acid process) ส่วนมากใช้กับวัตถุดิบจำพวกหนังสุกร หนังปลา และหนังสัตว์ที่มีอายุน้อย โดยวัตถุดิบจำพวกนี้จะมีความแข็งแรงของพันธะเปปไทด์ในคอลลาเจนค่อนข้างต่ำ หลักพื้นฐานของกระบวนการนี้เริ่มต้นด้วยการปรับสภาพ pH ของคอลลาเจน โดยส่วนมากใช้กรดไฮโดรคลอริค หรือกรดซัลฟิวริก โดยมีความเข้มข้นไม่เกินร้อยละห้าของน้ำหนัก อุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการประมาณ 15-20 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 10-45 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปรับ pH ให้เป็นกลาง

Type B Gelatin เป็นเจลาตินที่ใช้เบสในการปรับสภาพ (alkali process) ใช้กับวัตถุดิบจำพวกหนัง และกระดูกของโค กระบือ ซึ่งมีความแข็งแรงของพันธะเปปไทด์ในคอลลาเจนค่อนข้างสูง และมีความหนาแน่นของการเชื่อมโยงมากกว่า กระบวนการนี้ใช้เวลาประมาณ 5-20 สัปดาห์ แต่โดยทั่วไปทำที่ 8-12 สัปดาห์ โดยขึ้นกับความเป็นด่างของสารละลายเบสที่ใช้ ซึ่งโดยทั่วไปวัตถุดิบจะถูกแช่ในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นเบสคือแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นประมาณ 2-5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบและอุณหภูมิ หลังจากผ่านกระบวนการนี้แล้วจึงนำไปปรับค่า pH

หลังจากทำการปรับสภาพตามวิธีของวัตถุดิบที่ใช้แล้ว กระบวนการต่อไปในการผลิตเจลาติน จะเป็นวิธีการเดียวกันทั้งในส่วนของ Type A gelatin และ Type B gelatin

2.4.2 การสกัด (Extraction) เป็นการนำวัตถุดิบที่ผ่านการปรับสภาพมาผสมกับน้ำอุ่นที่สะอาด และทำการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ การสกัดเจลาตินส่วนใหญ่ทำได้ถึง 6-7 ครั้ง โดยการสกัดครั้งแรกจะเริ่มต้นที่อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส ครั้งสุดท้ายจะทำที่อุณหภูมิใกล้เคียงกับจุดเดือดของน้ำคือประมาณ 95 องศาเซลเซียส คุณสมบัติของเจลาตินที่สกัดได้ในการสกัดแต่ละครั้งจะต่างกัน โดยเจลาตินที่สกัดออกมาได้ก่อนจะมีมวลโมเลกุลสูงกว่า ความหนืดสูงกว่า มีความแข็งแรงของเจลมาก กว่า ส่วนการสกัดครั้งต่อมาเจลาตินที่ได้จะมีมวลโมเลกุลต่ำกว่า ความแข็งแรงของเจลต่ำกว่า

2.4.3 การกรอง (Filtration) หลังจากผ่านส่วนของการสกัด เจลาตินที่สกัดได้จะละลายอยู่ในของเหลว ซึ่งการที่จะแยกเจลาตินส่วนนี้ออกทำได้โดยการกรอง ซึ่งเป็นการแยกส่วนของเจลาตินที่เป็นของเหลวออกจากคอลลาเจนหรือเศษหนังที่เป็นวัตถุดิบที่เหลืออยู่จากการสกัด ใน

ส่วนของการกรองจะเริ่มจากการนำของเหลวที่สกัดได้ไปทำการเหวี่ยงเพื่อแยกอนุภาค (Centrifuge) จากนั้นนำมากรองแยกส่วนที่เป็นของเหลว และของแข็งออก

2.4.4 การทำให้เข้มข้น (Concentration) เป็นการระเหยน้ำออกจากของเหลวที่กรองได้ เพื่อให้ได้เจลาตินในสถานะของเหลวที่มีความหนืดสูง มีสีเหลืองปนน้ำตาลลักษณะคล้ายน้ำผึ้ง

2.4.5 การทำให้แห้ง (Drying) เป็นการนำเอาสารละลายเจลาตินอุ่นมาทำให้แห้ง กลายเป็นของแข็งใสคล้ายแก้ว โดยควบคุมปริมาณความชื้นไว้ที่ 10% จากนั้นนำไปบดหรือหั่นเป็นอนุภาคตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งาน

2.5 คุณสมบัติของเจลาติน

เจลาตินที่มีขายทั่วไปจะอยู่ในรูปของของแข็งลักษณะเป็นก้อน เกล็ด จนถึงแบบผง ลักษณะทั่วไปของเจลาตินจะมีลักษณะคล้ายแก้ว เปราะ มีสีเหลืองอ่อนๆ มีความชื้นประมาณ 9-12 เปอร์เซ็นต์ ค่าความถ่วงจำเพาะประมาณ 1.3-1.4 โดยทั่วไปสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเจลาตินจะวัดจากสารละลายของเจลาติน ซึ่งสมบัติของเจลาตินนั้นจะขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต วิธีการผลิต สภาวะที่ใช้ในการสกัด ความเป็นกรด-ด่าง และสารเติมแต่ง

2.5.1 Amphoteric property สมบัติ Amphoteric ของเจลาตินนั้นเป็นสมบัติที่แสดงถึงค่าประจุทางไฟฟ้าของเจลาตินซึ่งเกิดจาก หมู่ฟังก์ชันของกรดอะมิโน และหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลในเจลาตินที่เกิดขึ้นในระหว่างการไฮโดรไลซิส โดยเมื่อเจลาตินอยู่ในสารละลายที่มีความเป็นกรดสูง เจลาตินจะมีค่าประจุเป็นบวกและจะมีการเคลื่อนที่คล้ายประจุบวกในสนามแม่เหล็ก แต่ถ้าเจลาตินอยู่ในสารละลายที่มีความเป็นด่างสูง เจลาตินจะมีค่าประจุเป็นลบและจะมีการเคลื่อนที่คล้ายประจุลบในสนามแม่เหล็ก สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ทำให้เจลาตินมีค่าประจุรวมเป็นศูนย์ เจลาตินจะไม่เกิดการเคลื่อนที่ เราจะเรียกค่าความเป็นกรด-ด่างที่จุดนี้ว่า isoelectric point (IEP) สำหรับสมบัติ Amphoteric อีกชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับเจลาตินคือ isoionic point ซึ่งค่า isoionic point สามารถหาได้จากการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายเจลาตินที่ใช้เครื่อง mixed-bed ion-exchange resin แยกประจุบวกและลบในสารละลายของเจลาตินที่ไม่ได้เกิดจากเจลาตินออกไป โดยที่ค่า isoionic point เป็นค่าคงที่ของเจลาตินแต่ละตัว ในขณะที่ค่า isoelectric point นั้นจะขึ้นกับปริมาณเกลือที่มีอยู่ในเจลาตินนั้นๆ เจลาตินแบบ A จะมีค่า isoionic point อยู่ในช่วง pH 7-10 เจลาตินแบบ B จะมีค่า isoionic point ที่ต่ำกว่าแบบ A โดยค่า isoionic point ของเจลาตินแบบ B จะขึ้นกับเวลาที่ใช้ในการทำ liming เช่น หลังจากการทำ liming เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เจลาตินจะมีค่า isoionic point เท่ากับ 5.2 และจะตกลงไปที่ 4.8 เมื่อเวลาที่ใช้ในการ liming นานกว่านั้น

2.5.2 สมบัติในการละลายน้ำของเจลาติน (Solubility in water) เจลาตินจะละลายในน้ำเย็นได้บางส่วน อย่างไรก็ตามเมื่อทำการกวน เจลาตินแห้งจะสามารถละลายได้ในน้ำเย็น แต่ในของผสมนั้นต้องมีอัตราส่วนของเจลาตินไม่เกิน 34% โดยทั่วไปเจลาตินจะละลายน้ำที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและจะละลายกลายเป็นสารละลายเนื้อเดียวเมื่อทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที

นอกจากนี้เจลาตินแห้งยังสามารถละลายได้โดยทำการกวนในน้ำร้อนจนกระทั่งละลายเป็นเนื้อเดียวกันจึงหยุดกวน ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีทั่วไปที่ใช้ในการเจือจางเจลาติน นอกจากนี้เจลาตินยังละลายในตัวทำละลายอื่นๆ ได้แก่ สารละลายของ polyhydric alcohol เช่น กลีเซอรอล และโพรพิลีนไกลคอล และตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขั้วสูง เช่น กรดอะซิติก เจลาตินจะไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเป็นขั้วต่ำและตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเช่น อะซีโตน เบนซีน

2.5.3 ความหนืด (Viscosity) ค่าความหนืดของเจลาตินเป็นคุณสมบัติของเจลาตินที่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง มวลโมเลกุล ซึ่งโดยปกติความหนืดของเจลาตินจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเจลาติน และลดอุณหภูมิ ในการวัดความหนืดโดยทั่วไปจะวัดจากสารละลายเจลาตินที่มีความเข้มข้น 6.67 หรือ 12.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสโดยใช้เครื่อง Rheometer

2.5.4 ความสามารถในการเปลี่ยนสถานะเป็นเจล (Gelation) เกิดเมื่อสารละลายเจลาตินที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ถูกทำให้เย็นตัวลงที่อุณหภูมิ 21-25 องศาเซลเซียส จะทำให้สารละลายเจลาตินเปลี่ยนสภาพเป็นเจล และเจลจะเปลี่ยนกลับเป็นสารละลายเจลาตินได้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นจากอุณหภูมิที่เกิดเจล ประมาณ 2-5 องศาเซลเซียส

2.5.5 Colloid and Emulsion เจลาตินมีสมบัติในการรักษาสภาพคอลลอยด์ของสารละลายป้องกันการเกิดผลึก หรืออนุภาค ช่วยให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

2.6 การนำไปใช้งาน

โดยทั่วไปในสารละลายอุ่นเจลาตินจะมีความเป็นคอลลอยด์ และจะไม่ละลายในน้ำเย็น แต่จะละลายอย่างสมบูรณ์ในน้ำร้อนซึ่งคุณสมบัติดังนี้จึงมีการนำเจลาตินไปใช้ในงานอุตสาหกรรมต่างๆเช่น

- *อุตสาหกรรมอาหาร*

เนื่องจากเจลาตินมีคุณสมบัติในการเปลี่ยนรูปเป็นเจล ดังนั้นจึงมีการนำเจลาตินมาใช้งานเป็นส่วนผสมของเยลลี่ นอกจากนี้เจลาตินยังมีคุณสมบัติในการดูดซึมน้ำ ตัวอย่างเช่นในการบรรจุแฮมกระป๋อง เจลาตินจะถูกใส่เข้าไปในกระป๋องก่อนทำการบรรจุแฮม เมื่อนำแฮมกระป๋องมาอุ่น น้ำที่ไหลออกจากแฮมจะถูกดูดซึมโดยเจลาติน และจะกลายเป็นเจลเมื่อเปิดกระป๋อง ในส่วนของการทำหมากฝรั่ง เจลาตินจะถูกใช้งานเป็นตัวประสาน ในผลิตภัณฑ์ที่มาจากนมและอาหารแช่แข็งเจลาตินจะทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง และช่วยรักษาสภาพคอลลอยด์ โดยปริมาณของเจลาตินที่จะนำมาใช้นั้นขึ้นอยู่กับค่าความแข็งของเจลและความหนืด

- *อุตสาหกรรมยา*

ในทางเภสัชกรรมจะใช้เจลาตินในการเคลือบเม็ดยาและผลิตเป็นแคปซูลทั้งชนิดแคปซูลแข็งและแคปซูลนิ่มเพื่อใช้บรรจุยา แต่เนื่องจากในการผลิตเตลาตินจะมีทั้งเจลาติน Type A และ Type B ซึ่งเจลาตินทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน โดยเจลาติน Type B จะให้

ฟิล์มที่แข็งแรงแต่ค่อนข้างเปราะ ส่วนเจลาติน Type A จะช่วยให้ฟิล์มยืดหยุ่นและเพิ่มความใส ให้กับแคปซูลเมื่อนำไปผลิตเป็นแคปซูล ดังนั้นการผลิตแคปซูลชนิดแข็งจะใช้เจลาตินทั้ง 2 ชนิด นี้ผสมกัน นอกจากนี้ยังมีการใช้เจลาตินเป็นสารเพิ่มความหนืดในตำรับยาต่างๆ

- *อุตสาหกรรมภาพถ่าย*

คุณสมบัติที่นำมาใช้ในงานอุตสาหกรรมภาพถ่ายคือความสามารถในการรักษาสภาพคอลลอยด์ของ Silver halide ระหว่างการเคลือบและความสามารถในการพองตัวระหว่างล้างรูปนอกจากนี้ยังมีการใช้เจลาตินเป็นตัวประสานในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง การผลิตกระดาษสำเนาแบบไม่ใช้คาร์บอน และใช้ในการแสดงอีกด้วย

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

- *United States Patent: 2,024,683 [1932]*

กล่าวถึงกระบวนการผลิตเจลาตินในยุคแรกของ Papin ในปี 1682 ซึ่งเป็นการผลิตเจลาตินเพื่อการค้าเป็นครั้งแรก โดยวิธีการใช้ไอน้ำให้ความร้อนแก่กระดูกสัตว์ ต่อมาในช่วงศตวรรษที่ 18 มีการพัฒนาการผลิตขึ้นโดยการใช้กรดอนินทรีย์ช่วยในการสกัด ซึ่งทำให้ได้เจลาตินที่มีคุณสมบัติที่ดีขึ้นกว่าเดิม โดยกรดที่ใช้ในที่นี้คือกรดไฮโดรคลอริค

สำหรับสิทธิบัตรฉบับนี้จะกล่าวถึงการสกัดเจลาตินจากหนังหมูโดยการใช้กรดอินทรีย์เข้ามาช่วยในการสกัดเปรียบเทียบกับการใช้กรดอนินทรีย์ ซึ่งโดยทั่วไปกรด อนินทรีย์ที่ใช้คือ กรดไฮโดรคลอริค กรดซัลฟิวริก ซึ่งผลที่ได้พบว่าเจลาตินที่ใช้กรดอินทรีย์ช่วยในการสกัดมีคุณภาพที่ดีกว่า เนื่องจากกรดอินทรีย์มีการไอออไนซ์ต่ำกว่า ทำให้เศษหนังถูกทำลายน้อยกว่า จึงทำให้เจลาตินที่สกัดออกมาได้มีคุณภาพดีกว่า

- *Patent Specification: 1,106,593 [1968]*

สิทธิบัตรฉบับนี้กล่าวถึงการพัฒนากระบวนการผลิตเจลาตินเพื่อให้ได้เจลาตินที่มีความแข็งแรงของเจลสูง และสามารถละลายได้ในน้ำเย็น ในกระบวนการผลิตโดยทั่วไปหลังจากทำการสกัดเจลาตินแล้ว เจลาตินที่สกัดได้จะถูกนำไปกรอง และระเหยน้ำออก ซึ่งพบว่าเจลาตินที่ได้ก่อนการนำไปกรองนั้นเป็นเจลาตินที่มีความแข็งแรงของเจลสูง และสามารถละลายในของเหลวเช่นน้ำ หรือนมได้โดยไม่ต้องใช้ความร้อนช่วย

สำหรับวิธีของ Patent ฉบับนี้กล่าวถึงการไฮโดรไลซิสคอลลาเจนจากหนังหมู, กระดูก โดยสารละลายเจลาตินที่สกัดได้ จะถูกนำมาผ่านการฉีดฟองอากาศเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสและเพื่อให้เกิดการแผ่ความร้อนอย่างรวดเร็ว ก่อนนำไปทำให้แห้งโดยเจลาตินที่ได้จะมี Bloom strength สูงเนื่องจากถูกทำให้แห้งอย่างรวดเร็ว

- *United States Patent: 2,557,871 [1951]*

สิทธิบัตรฉบับนี้กล่าวถึงการสกัดเจลาติน โดยเป็นการเปรียบเทียบกันระหว่างการสกัดเจลาตินโดยวิธี one cook out กับ multiple cook out วิธี one cook out เป็นการสกัดเจลาตินเพียงครั้งเดียวคือนำเศษหนังไปทำการไฮโดรลิซิสด้วยความร้อนเพียงครั้งเดียว ส่วนวิธี multiple cook out เป็นการสกัดเจลาตินหลายๆครั้ง โดยหนังที่เหลือจากการสกัดเจลาตินครั้งแรกจะนำมาใช้ในการสกัดเจลาตินครั้งที่สอง และครั้งต่อๆไป

การทดลองในส่วนของ one cook out จะทำโดยไฮโดรไลซิสที่ 155 องศาฟาเรนไฮต์ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที ส่วนของ multiple cook out จะแบ่งการสกัดออกเป็นห้าครั้ง โดยที่ครั้งแรกทำที่อุณหภูมิ 140 องศาฟาเรนไฮต์ ส่วนครั้งที่ 2-4 ทำที่อุณหภูมิ 155, 170, 185 องศาฟาเรนไฮต์ตามลำดับ โดยที่ 4 ครั้งแรกนี้จะใช้เวลาในการสกัด 4 ชั่วโมง ส่วนในการสกัดครั้งที่ 5 ทำที่อุณหภูมิ 210 องศาฟาเรนไฮต์ และใช้เวลาในการสกัด 10 ชั่วโมง

ผลที่ออกมาพบว่าในส่วนของ one cook out จะได้เจลาตินที่มีคุณภาพสูงสุดคือมีความแข็งแรงของเจลอยู่ที่ 300 bloom ในส่วนของ multiple cook out คุณภาพของเจลาตินที่ได้จะต่ำกว่าแบบ one cook out โดยที่การสกัดครั้งแรกจะมีค่าความแข็งแรงของเจลอยู่ที่ 285 bloom และจะลดลงมาครั้งละประมาณ 50 bloom ในการสกัดครั้งต่อๆไป

- *Cho และคณะ [2005]*

เป็นการสกัดเจลาตินจากหนังปลาทูน่าครีบเหลือง (Yellowfin tuna) เปรียบเทียบกับเจลาตินที่สกัดจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในที่นี้คือจากหนังวัวและหนังหมู โดยวิธีการสกัดจะเริ่มต้นตั้งแต่การกำจัดสิ่งปนเปื้อนอื่นๆที่ไม่ใช่คอลลาเจนออก โดยการนำมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1-3% และทำการเขย่าด้วย Shaking incubator ที่ 200 rpm เป็นเวลา 1-5 วัน จากนั้นมาทำให้เป็นกลางด้วยกรดไฮโดรคลอริค และทำการสกัดด้วยอัตราส่วนหนังต่อน้ำที่ 1:6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำที่อุณหภูมิ 40-80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1-9 ชั่วโมง แล้วนำไปเหวี่ยงแยกเป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่เหวี่ยงแยกได้มาทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 แล้วนำส่วนของเหลวมาอบเป็นเวลา 1 วัน

ผลการเปรียบเทียบเจลาตินที่สกัดได้พบว่า เจลาตินที่สกัดจากหนังปลาทูน่าครีบเหลืองไม่สามารถเกิดเป็นเจลได้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส แต่เจลาตินที่สกัดได้มีค่าความแข็งแรงของเจล และจุดหลอมเหลวสูงกว่าเจลาตินที่สกัดจากหนังปลาชนิดอื่น แต่ถ้าเปลี่ยนวิธีในการสกัดเป็นเอนไซม์ เจลาตินที่สกัดได้จะมีค่าความแข็งแรงของเจล และจุดหลอมเหลวสูงขึ้นกว่าเดิม ซึ่งจะสามารถนำมาใช้แทนเจลาตินที่สกัดจากหนังสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้

- *Kokil และคณะ [2004]*

กล่าวถึงการนำเจลาตินมาใช้เป็นตัวประสานในการผลิตยาเม็ด โดยเปรียบเทียบผลกระทบที่เกิดขึ้นระหว่างค่าความหนืดของเจลาตินที่แตกต่างกัน พบว่าถ้าความหนืดของเจ

ลาตินที่นำมาใช้มีค่าสูงเกินไปจะทำให้ตัวยาเกิดการเกาะตัวกัน กระจายกันได้ไม่ดีเท่าที่ควร เม็ดยาแข็ง แต่ถ้าความหนืดต่ำเกินไปจะมีผลทำให้เม็ดยานุ่ม การจับตัวกันของตัวยาไม่ดียากแก่การขึ้นรูป เมื่อมวลโมเลกุลและความหนืดของเจลาตินเพิ่ม จะมีผลให้ค่า Compressibility ลดลงแต่ค่า Compactability สูงขึ้น ซึ่งในการผลิตยาเม็ดต้องหาภาวะที่เหมาะสมของค่าทั้งสอง

- *SARASWATHY และคณะ [2001]*

Deglued bone (DGB) เป็นวัตถุดิบที่เหลือจากอุตสาหกรรมการทำกาวจากกระดูก โดยนำกระดูกบดสลายด้วยน้ำที่ความดัน 40 psi เป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง สารละลายที่ได้จะถูกนำมาใช้เป็นกาว ส่วนกระดูกที่เหลือจะนำมาตากแดด และใช้เป็นปุ๋ย ในงานวิจัยนี้กล่าวถึงการผลิต Bone graft จาก DGB ไคโตซาน และเจลาติน โดยไคโตซานเป็นวัตถุดิบที่ได้จากของเหลือจากอุตสาหกรรมอาหารทะเลมีคุณสมบัติในการเพิ่มความเหนียว ส่วนเจลาตินนำมาใช้เป็นตัวประสานในการเตรียม DGB-chitosan composite

2.8 Lowry's Method

เป็นวิธีการวัดปริมาณโปรตีนวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งในงานวิจัยนี้จะนำวิธีการนี้มาตรวจวัดความเข้มข้นของโปรตีนในเจลาตินที่สกัดได้ หลักการที่ใช้ในการวัดโปรตีนของวิธีนี้คือ การเกิดปฏิกิริยาของ Folin-Ciocalteu reagent กับโปรตีน โดย molybdate ใน Folin-Ciocalteu reagent จะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนได้แก่ tyrosine, cystine, cysteine, histidine, และพันธะเปปไทด์ ทำให้ molybdate เปลี่ยนเป็นสารประกอบ molybdium blue ที่ให้สีน้ำเงินที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 745-750 นาโนเมตร สมบัติการดูดกลืนแสงนี้สามารถบอกถึงปริมาณของโปรตีนที่มีอยู่ได้โดยอาศัยกฎของเบียร์ (Beer's law) หรือกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต (Beer and Lambert's law) ซึ่งสรุปได้ว่า "ค่าการดูดกลืนของแสงจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้น" ทำให้สามารถเปลี่ยนค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเป็นปริมาณของสารได้

วิธีการนี้เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป ในกรณีที่สารตัวอย่างมีสารที่จะวิเคราะห์เพียงสารเดียว จะใช้วิธีทำCalibration curve โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน (ในกรณีของเจลาตินใช้ Bovine Serum Albumine เตรียมเป็นสารละลายมาตรฐาน) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่นของแสงที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงชัดเจนที่สุด (ในที่นี้คือที่ 745-750 นาโนเมตร) นำผลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างได้ ก็สามารถหาปริมาณของสารที่จะวิเคราะห์ได้โดยอ่านเทียบจาก Calibration curve

ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถใช้กับสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของโปรตีนต่ำ สีที่เกิดขึ้นสามารถเห็นได้ชัด และสารเคมีราคาไม่สูงนัก