

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

#### 5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) และ ปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*)

ปัจจุบันผู้ประกอบการผลิตซูริมิทำการผลิตซูริมิจากปลาทรายแดง ปลาตาหวาน ปลาจวด และปลาเนื้อขาวอื่นๆ (ขวัญชัย สมุทรพานิช, 2542) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจศึกษาการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานควบคู่กับการศึกษาในปลาทรายแดง เพื่อให้สามารถนำโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทั้งสองชนิดมาใช้ประโยชน์เพื่อผลิตเป็นฟิล์มบริโภาคได้

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาทรายแดงด้วยวิธีมาตรฐาน A.O.A.C. (1995) (ตารางที่ 1) จะพบว่าเนื้อปลาทรายแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยมีปริมาณความชื้น 77.09% โปรตีน 17.77% ไขมัน 4.07% เถ้า 1.01% และคาร์โบไฮเดรต 0.06% ในขณะที่ปลาตาหวานที่ใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยมีปริมาณความชื้น 78.77% โปรตีน 16.79% ไขมัน 3.53% เถ้า 0.90% และคาร์โบไฮเดรต 0.05% เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนจะพบว่าปริมาณโปรตีนทั้งหมดใกล้เคียงกับปลาชนิดอื่นๆ เช่น catfish 17.6% cod 17.6% herring 17.3% haddock 18.3% และ salmon 17.2% เป็นต้น (Pigott and Tucker, 1990) มีปริมาณไขมันค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับปลาบางชนิด เช่น mackerel 12.2% menhaden 11.8% herring 11.3% salmon 13.4% และ brook trout 11.4% ซึ่งจัดเป็นปลาเนื้อแดง และมีปริมาณไขมันใกล้เคียงกับปลาบางชนิดซึ่งเป็นปลาเนื้อขาว เช่น catfish 3.1 – 5.2% และ rainbow trout 6.8% เป็นต้น (Pigott and Tucker, 1990) เนื่องจากปลาทรายแดงและปลาตาหวานเป็นปลาชนิดที่เรียกว่าปลาเนื้อขาว และนิยมนำปลาทรายแดงและปลาตาหวานมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตซูริมิ เนื่องจากมีไขมันและรงควัตถุอื่นๆ อยู่่น้อย ทำให้สามารถกำจัดส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนกล้ำเนื้อออกไปโดยการล้างน้ำได้ง่ายขึ้น ทำให้ได้ซูริมิที่มีคุณภาพดี (Suzuki, 1981) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับปลาทรายแดงสายพันธุ์ *Nemipterus delagoae* พบว่า เนื้อปลาทรายแดงสายพันธุ์ *Nemipterus delagoae* มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดและเถ้าสูงกว่าเล็กน้อย คือ 21.30% และ 1.22% ตามลำดับ และมีปริมาณความชื้นและไขมันต่ำกว่าเล็กน้อย คือ 74.81% และ 1.22% ตามลำดับ (ปิยธิดา ธรรมบำรุง, วัลลภ อิมสุวรรณ และ อุษาพรรณ รุ่งพิสุทธิพงศ์, 2543)

## 5.2 การสกัดโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) และปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*)

การสกัดโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงและปลาตาหวานสามารถทำได้โดยการนำเนื้อปลามานำไปปั่นผสมกับน้ำกลั่นเย็น และนำไปผ่านขั้นตอนการหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกเนื้อปลาออกจากสารละลาย และนำสารละลายมาทำ dialysis เพื่อกำจัดสารโมเลกุลเล็กๆ เช่น สารพวกเกลือแร่ต่างๆ ออก โปรตีนที่สกัดได้และผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งแล้วจะมีลักษณะเป็นผงสีขาวนวล น้ำหนักเบา ในการสกัดจะปั่นผสมเนื้อปลากับน้ำกลั่นเพียงครั้งเดียว ทั้งนี้เนื่องจาก Lin, Park และ Morrissey (1995) รายงานว่า ในน้ำล้างเนื้อปลาในครั้งแรกของกระบวนการผลิตซูริมี มีปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ปนออกมาสูงที่สุด ซึ่งจะมีปริมาณโปรตีน 2.34% การล้างเนื้อปลาด้วยน้ำอีกครั้งจะได้ปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมามากดลงอย่างมาก คือเหลือเพียง 0.97% และมีการเจือปนของ myofibrillar protein ในปริมาณที่มากขึ้น การเจือปนนี้ทำให้ความบริสุทธิ์ของโปรตีนละลายน้ำต่ำลง

จากการสกัดโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงด้วยวิธีการ homogenize เนื้อปลากับน้ำกลั่นและนำไปผ่านขั้นตอนการหมุนเหวี่ยง และการทำ dialysis เพื่อกำจัดสารโมเลกุลเล็กๆ พบว่า ปริมาณโปรตีนละลายน้ำหรือ sarcoplasmic protein จากปลาทรายแดงและปลาตาหวานที่สกัดได้เป็น 16.26% และ 13.26% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในเนื้อปลาทรายแดงและปลาตาหวาน ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ซึ่งในเนื้อปลาทรายแดงและปลาตาหวานจะมีปริมาณโปรตีนทั้งหมดอยู่ 17.77% และ 16.79% ตามลำดับ ปริมาณ sarcoplasmic protein ที่พบในปลาจะแตกต่างกันตามชนิดของปลา โดยที่ปลาเนื้อแดงจะมีปริมาณ sarcoplasmic protein สูงกว่าในปลาเนื้อขาว Suzuki (1981) รายงานว่า ในเนื้อปลา mackerel และปลา sardine มีปริมาณ sarcoplasmic protein อยู่ประมาณ 38% และ 34% ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของจักรีทองเรือง (2544) กล่าวว่า ปริมาณ sarcoplasmic protein ในปลาผิวน้ำ (Pelagic fishes) เช่น ปลาทูน่า ปลาทู และปลาโอ โดยทั่วไปจะมีปริมาณสูงกว่าในปลาหน้าดิน (Demersal fishes) เช่น ปลาทรายแดง ปลาตาหวาน ปลากะพงแดง และปลาเก๋า โดยเฉพาะปริมาณของฮีโมโกลบินและไซโตโครมซี (Cytochrome C) ในกล้ามเนื้อแดงของปลา จึงทำให้ปลากลุ่มนี้ไม่เหมาะต่อการนำมาใช้ผลิตซูริมี

## 5.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) และปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*)

องค์ประกอบและลักษณะโมเลกุลของโปรตีน มีผลต่อชนิดของพันธะที่จะเกิดขึ้นในการสร้างโครงสร้างตาข่ายของฟิล์ม เนื่องจาก chain-to-chain interaction ซึ่งทำให้เกิดโครงสร้างที่

ต่อเนื่องของแผ่นฟิล์มเป็นผลมาจากการคลายตัวของโมเลกุลและลำดับกรดอะมิโนในโมเลกุลของโปรตีน ซึ่งถ้ากรดอะมิโนที่มีอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนมีลักษณะที่มีขั้ว หรือเป็น hydrophobic หรือมีหมู่ thiol อยู่มากจะเป็นการเพิ่มปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายโมเลกุลโปรตีน (Boye, Ma, and Harwalker, 1997) จากผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) และปลาตาหวาน (*Priacanthus tayenus*) ด้วยวิธี AccQ.Tag ของ Waters (Liu et al., 1995) (ตารางที่ 2) พบว่าโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงและปลาตาหวานที่สกัดได้มีชนิดและปริมาณกรดอะมิโนใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงและปลาตาหวานกับโปรตีนชนิดอื่นๆ พบว่า โปรตีนละลายน้ำได้จากปลามีชนิดและปริมาณกรดอะมิโนใกล้เคียงกับโปรตีนจากไข่ขาว โปรตีนจากนมวัว และโปรตีนจากถั่วเหลือง โดยเฉพาะ lysine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีหมู่  $\epsilon$ -amino group สามารถเกิดปฏิกิริยากับสารต่างๆ ได้ดี โดยจะมีปริมาณอยู่ในช่วง 70-90 mg/g ซึ่งแตกต่างกับโปรตีนจากข้าวสาลี และถั่วลิสง ซึ่งมีปริมาณ lysine อยู่เพียง 30-40 mg/g (Damodaran, 1996)

#### 5.4 การศึกษาผลของปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชและ pH ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆ ของการตัดแปรรูปฟิล์มบรีโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช

##### 5.4.1 การผลิตฟิล์มบรีโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงตัดแปรรูปด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช

ในการผลิตฟิล์ม จะอาศัยหลักการทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ เพื่อให้เกิดการเปิดหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ที่สามารถเกิด interaction กัน และเกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เมื่อทำให้แห้งจึงเกิดเป็นโครงสร้างของแผ่นฟิล์มขึ้นได้ โดยพันธะโควาเลนต์ที่สำคัญในการเกิดโครงสร้างตาข่ายของโปรตีน คือ พันธะไดซัลไฟด์ ของ cystein residue (Krochta, 1997)

ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์ (2545) ศึกษาการผลิตฟิล์มบรีโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง (*Nemipterus hexodon*) พบว่า แผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ pH เท่ากับ 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ให้ค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด โดยแผ่นฟิล์มมีลักษณะเนื้อสัมผัสอ่อน โปร่งแสง ยืดหยุ่นเล็กน้อย ฉีกขาดและดึงให้ขาดได้ง่าย จากการทดลองผลิตฟิล์มบรีโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงตัดแปรรูปด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช พบว่า แผ่นฟิล์มที่ผลิตได้โดยทั่วไปมีลักษณะเป็นแผ่นต่อเนื่องกันซึ่งเกิดจากการเกิดโครงสร้างตาข่ายระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับไดอัลดีไฮด์สตาร์ช แผ่นฟิล์มมีลักษณะแข็งแรงขึ้น

มากเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ไม่มีการตัดแปดด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช โปรตีนที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง โดยส่วนใหญ่แล้วจะมีลักษณะเป็น globular มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จากการวิเคราะห์โดยวิธี SDS-PAGE โดย Iwata และคณะ (2000) ซึ่งใช้โปรตีนละลายน้ำจากปลา blue marlin พบว่าโปรตีนละลายน้ำจากปลาทะเลชนิดนี้มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงต่ำกว่า 94 kDa ลักษณะเช่นนี้ทำให้สายของโปรตีนที่คลายออกเมื่อปรับ pH หรือให้ความร้อนแก่สารละลายค่อนข้างสั้น ทำให้โครงสร้างตาข่ายไม่หนาแน่น แต่เมื่อทำการตัดแปดด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช จะทำให้เกิดการเชื่อมขวางระหว่างโปรตีนกับไดอัลดีไฮด์สตาร์ช ฟิล์มจึงมีความแข็งแรงมากขึ้น ผลดังกล่าวเป็นไปตามรายงานของ Banker (1966) ซึ่งกล่าวว่าการขึ้นรูปฟิล์มต้องการโพลีเมอร์สายยาวเพื่อทำให้โครงสร้างตาข่ายแข็งแรง และความแข็งแรงจะเพิ่มขึ้น เมื่อสายโพลีเมอร์ที่ยาวขึ้น

วิธีที่นิยมใช้ทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ และเกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายของแผ่นฟิล์มนั้นมี 2 วิธี คือ การให้ความร้อนและการปรับ pH ของสารละลายโปรตีน (Krochta, 1997) โปรตีนที่อยู่ใน pH ตามธรรมชาติ โดยมากจะมีประจุสุทธิเป็นลบ เมื่อมีการปรับ pH เข้าสู่ isoelectric points ของโปรตีน ประจุสุทธิจะกลายเป็นศูนย์ แรงผลักรันของประจุระหว่างโมเลกุลจะต่ำที่สุด และโปรตีนส่วนมากจะเกิดการตกตะกอน ถ้า pH ต่ำกว่า Isoelectric point หรือภาวะเป็นกรด โปรตีนจะเสียสภาพความเป็นลบ และจะมีประจุบวกอย่างเดียว ประจุที่เหมือนกันจะผลักรัน และจะป้องกันไม่ให้โปรตีนเกิดการรวมตัวกันได้ ในพื้นที่ที่มีความหนาแน่นของประจุมาก แรงผลักรันภายในประจูด้วยกันเองอาจจะมากพอที่จะทำให้โปรตีนเกิดการคลายตัว ในบางกรณีการคลายตัวอาจจะรุนแรงพอที่จะทำให้เกิดการเปิดออกของ hydrophobic group และไม่สามารถเกิดการรวมตัวกันใหม่ให้เกิดโครงสร้างเดิมได้ (Morrissey, Mulvihill, and O'Veill, 1987) การคลายตัวด้วยกรดที่ความเข้มข้นมากพอที่อุณหภูมิสูงขึ้น จะทำให้เกิดการปลดปล่อย amide nitrogen จาก glutamine และ asparagines group และในที่สุดจะนำไปสู่การสลายพันธะเพปไทด์ ซึ่งเป็นการเสียสภาพธรรมชาติอย่างถาวร และจะเกิดการตกตะกอนของโปรตีน เมื่อนำมาผลิตฟิล์ม จะทำให้โครงสร้างตาข่ายของฟิล์มไม่ค่อยแข็งแรง (Catsimpoolas and Meyer, 1970) ในขณะที่ pH สูงกว่า Isoelectric point ของโปรตีน โมเลกุลของโปรตีนจะถูกกระตุ้น (activate) ให้อยู่ในสภาพที่พร้อมจะเกิดปฏิสัมพันธ์กับโมเลกุลของโปรตีนที่อยู่ใกล้เคียง และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของ functional properties ต่างๆ ในโมเลกุลของโปรตีน เนื่องมาจากการคลายตัวและการเปิดหมู่ sulfhydryl ออกมา (Pol et al., 2002)

ดังนั้น งานวิจัยนี้ เลือกแปร pH ที่สูงกว่า Isoelectric point ของโปรตีนละลายน้ำได้ โดยเมื่อปรับ pH ของสารละลายโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงเป็น 8 9 10 11 และ 12 พบว่า ที่ pH 8 ไม่สามารถนำสารละลายมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ เนื่องจากโปรตีนที่ละลายน้ำ

ได้จากปลาทรายแดงที่สกัดได้เป็นโปรตีนจำพวก sarcoplasmic proteins ซึ่งมีค่า isoelectric point อยู่ในช่วงประมาณ 6.8-7.8 (Suzuki, 1981) ที่ pH 8 เป็นภาวะที่ใกล้เคียงกับค่า pI ของโปรตีน โมเลกุลของโปรตีนมีประจุโดยรวมเกือบจะเท่ากับศูนย์ ทำให้เกิดการตกตะกอน โปรตีนจะมีการคลายตัวน้อยมาก จึงเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายโพลีเพปไทด์น้อย และเมื่อให้ความร้อนกับสารละลายจะมองเห็นเป็นตะกอนขุยขาวๆ เมื่อนำมาขึ้นรูปจะไม่สามารถขึ้นรูปได้

จากที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สามารถผลิตฟิล์มบิโภาคได้จากโปรตีนที่ละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ตัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชได้ที่ pH เท่ากับ 9 10 11 และ 12 เท่านั้น

#### 5.4.2 การศึกษาผลของปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชและ pH ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของการตัดแปรฟิล์มบิโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช

ในการเตรียม film-forming solution ที่ pH ของสารละลายเท่ากัน (รูปที่ 14) พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ช จะทำให้ค่าการต้านทานแรงดึงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  เนื่องจากเกิดการเชื่อมขวาง (cross-linking) ระหว่างโปรตีนละลายน้ำได้จากปลากับไดอัลดีไฮด์สตาร์ช จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน พบว่าโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีลักษณะสำคัญสามารถทำปฏิกิริยากับอัลดีไฮด์ ได้แก่ lysine 84.2 mg/g, arginine 57.2 mg/g, tyrosine 30.8 mg/g และ histidine 29.3 mg/g สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gennadios และคณะ (1998) รายงานว่าโปรตีนจากไข่ขาวที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับไดอัลดีไฮด์สตาร์ชทำให้ฟิล์มโปรตีนจากไข่ขาวมีความแข็งแรงมากขึ้น เนื่องจาก functional group ของกรดอะมิโนเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการเชื่อมขวางกับโปรตีน นอกจากนี้ มีรายงานการขึ้นรูปไดอัลดีไฮด์สตาร์ชร่วมกับ zein (3:1) ทำให้สามารถผลิต bioplastics ที่มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าของการใช้ native starch ร่วมกับ zein (3:1) เนื่องจากไดอัลดีไฮด์สตาร์ชทำให้เกิดการเชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลของ zein (Spence, Jane, and Pometto, 1995) นอกจากนี้ ฟิล์มที่ตัดแปรด้วยสารประกอบอัลดีไฮด์ ทำให้ฟิล์มมีค่าการต้านทานแรงดึงเพิ่มขึ้น ได้แก่ ฟิล์ม zein ที่ตัดแปรด้วย formaldehyde (Clark and Galow, 1949) ฟิล์ม collagen ที่ตัดแปรด้วย glutaraldehyde (Weadock, Olson, and Silver, 1984) ฟิล์มโปรตีน cottonseed ที่ตัดแปรด้วย glutaraldehyde, glyoxal และ gossypol (Marquie et al., 1995, 1997)

เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีน จะทำให้ฟิล์มมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นประมาณ 57% และเมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ชจาก 7.5 หรือ 10% จะทำให้ค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่  $p > 0.05$

(รูปที่ 14) แสดงว่าการเชื่อมขวางระหว่างโปรตีนปลาที่ละลายน้ำได้กับไดอัลดีไฮด์สตาร์ชถึงจุดอิ่มตัว (saturation point) ที่ปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% เนื่องจากเกิด steric hindrances ทำให้หมู่อัลดีไฮด์บนสายไดอัลดีไฮด์สตาร์ชไม่สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ reactive amino acid ที่เหลือบนสายโปรตีนได้ (Gennadios et al., 1998)

เมื่อพิจารณาที่ pH ของสารละลาย film-forming solution ต่างๆกัน จะพบว่าการปรับ pH มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการในโมเลกุลโปรตีนที่สำคัญคือ เมื่อปรับ pH ให้ห่างจาก pI ของโปรตีนมากขึ้น จะทำให้โปรตีนนั้นๆ มีความสามารถในการทนความร้อนได้ดีขึ้น ซึ่งทำให้การคลายตัวและการเปิดออกของหมู่ฟังก์ชันต่างๆเมื่อให้ความร้อนเป็นไปได้ยากขึ้น ทำให้โมเลกุลของโปรตีนเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างกันได้น้อย ความแข็งแรงของฟิล์มหรือค่าการต้านทานแรงดึงขาดจึงต่ำ (Byler and Purcell, 1989) สอดคล้องกับการทดลองนี้ เมื่อปรับ pH เพิ่มขึ้นที่ pH 12 จะพบว่าค่าการต้านทานแรงดึงขาดจะลดลง ในขณะที่ pH 9 ความร้อนสามารถทำให้เกิดการเสียสภาพของโมเลกุลโปรตีนได้มาก เกิดการเปิดออกของหมู่ฟังก์ชันมากขึ้น การเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลโปรตีนมีมาก โครงสร้างตาข่ายจึงแข็งแรงขึ้น

ลักษณะของฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชที่ผลิตได้มีความต้านทานแรงดึงขาดน้อย (6.72 MPa) เมื่อเทียบกับฟิล์มสังเคราะห์ เช่น polyester film (178 MPa), poly(vinylidene chloride) film (93 MPa), cellulose acetate film (66 MPa), high density polyethylene (25.9 MPa) และ low density polyethylene (12.9 MPa) แต่มากกว่าฟิล์มโปรตีนชนิดอื่นๆ ได้แก่ soy protein film (1.9 MPa), wheat gluten protein film (0.9 MPa) และ corn zein protein film (0.4 MPa) (Cuq et al., 1995a)

เมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มที่ pH ของสารละลาย film-forming solution เท่ากัน พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ช จะทำให้ฟิล์มมีค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (รูปที่ 15) การเชื่อมขวางด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชนี้ แตกต่างจากการทำให้เกิดการเชื่อมขวางโดยใช้วิธีทางกายภาพ และการใช้สารเคมีที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำอื่นๆ ที่พบว่าฟิล์มจะมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น และค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มจะลดลง ยกตัวอย่างเช่น ฟิล์ม collagen ที่เชื่อมขวางด้วย glutaraldehyde (Weadock, Olson, and Silver, 1984) และฟิล์ม soy protein isolate ที่เชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลโปรตีนด้วยการให้ความร้อน (Gennadios et al, 1998) แต่จากการทดลองนี้ พบว่า การทำให้เกิดการเชื่อมขวางด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช จะทำให้โครงสร้างตาข่ายของแผ่นฟิล์มมีความแข็งแรงและความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น เนื่องจากไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเป็น biopolymer ซึ่งสายยาวของไดอัลดีไฮด์สตาร์ชถูกยึด ("fixed")

อยู่ภายในโครงสร้างของฟิล์มโปรตีน จึงไม่จำกัดความสามารถในการยืดหยุ่นของ protein matrix (Gennadios et al., 1998)

ในการเตรียมสารละลายสำหรับขึ้นรูปฟิล์มที่ pH ของสารละลายต่างกัน พบว่า เมื่อ pH ของสารละลายสูงขึ้น ค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดจะสูงขึ้นเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่  $p \leq 0.05$  (รูปที่ 15) เนื่องจากที่ pH สูง โปรตีนสามารถคลายตัวได้ดี ทำให้โครงสร้างมีลักษณะคลายตัวเป็นเส้น มีหมู่ฟังก์ชันเปิดออกมามากและพร้อมที่จะเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายของโปรตีน แต่สายโปรตีนดังกล่าวจะมีประจุเป็นลบสูงทำให้เกิดการผลักกันเอง จึงเกิดปฏิสัมพันธ์กันได้ยาก และเกิดเป็นแ่งๆไม่ต่อเนื่อง ทำให้ฟิล์มมีลักษณะอ่อนแต่ยังยึดตัวได้ดี ลักษณะดังกล่าวนี้เป็นไปตามที่ Guilbert (1986) กล่าวไว้ว่า ความสามารถในการยึดตัวของฟิล์มขึ้นกับระยะห่างระหว่างจุดที่เกิดปฏิสัมพันธ์บนสายโพลีเมอร์ ถ้าระยะห่างดังกล่าวมากฟิล์มจะมีความสามารถในการยึดตัวได้ดีกว่า

ฟิล์มโปรตีนมีสมบัติการต้านทานน้ำที่ต่ำ เนื่องจากโปรตีนมีโครงสร้างที่เป็น hydrophilic (Gennadios et al., 1994) ดังนั้น การปรับปรุงความสามารถในการต้านทานน้ำของฟิล์มโปรตีน โดยการทำให้เกิดการเชื่อมขวางจึงมีความสำคัญ เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มบริเวณได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ผลิตโดยใช้ pH และปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชปริมาณต่างกัน พบว่า โดยส่วนใหญ่จะมีแนวโน้มไปในทางตรงกันข้ามกับค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม การเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ชที่ pH ของสารละลายเท่ากัน (รูปที่ 16) พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ชปริมาณ 7.5% จะทำให้ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาสดลงประมาณ 24-35 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  แต่เมื่อเพิ่มปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเป็น 10% ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มโปรตีนจะไม่ลดลงอีก โดยสาเหตุที่ทำให้ฟิล์มโปรตีนมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง คือ การเกิดเชื่อมขวาง (cross-linking) ระหว่างไดอัลดีไฮด์สตาร์ชกับโปรตีนละลายน้ำได้จากปลา เนื่องจากหมู่อัลดีไฮด์ของไดอัลดีไฮด์สตาร์ชสามารถเกิดการเชื่อมขวางกับหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนบนสายโปรตีน ทำให้หมู่อะมิโนไม่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ ฟิล์มโปรตีนจึงดูดซับน้ำได้น้อยลง ส่งผลให้สมบัติการละลายน้ำลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Weakley และ Mehlretter (1961) ที่ศึกษาการไม่ละลายน้ำของ casein โดยเชื่อมขวางกับไดอัลดีไฮด์สตาร์ช และงานวิจัยของ Spence, Jane และ Pometto (1995) ที่ศึกษาการดูดซับน้ำที่น้อยลงของ zein bioplastics โดยเชื่อมขวางกับไดอัลดีไฮด์สตาร์ช นอกจากนี้การใช้สารประกอบอัลดีไฮด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำอื่นๆ ก็สามารถปรับปรุงสมบัติการต้านทานน้ำของฟิล์มโปรตีนได้ ยกตัวอย่างเช่น zein film ที่เชื่อมขวางกับ formaldehyde ทำให้ฟิล์มมีสมบัติความต้านทานน้ำเพิ่มขึ้น (Clark and Gralow, 1949) ฟิล์มโปรตีน cottonseed ที่เชื่อมขวางกับ formaldehyde และ glutaraldehyde ทำให้ฟิล์มมีค่าการ

ละลายทั้งหมดลดลง (Marquie et al., 1995) และ พิล์ม soy protein isolate ที่เชื่อมขวางกับ formaldehyde ทำให้สมบัติการละลายน้ำของฟิล์มลดลง (Rhim and Weller, 2000) แสดงว่ามี การเชื่อมขวางระหว่างหมู่อัลดีไฮด์กับหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนบนสายโปรตีน

จากการวิเคราะห์ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนผ่านแผ่นฟิล์มโปรตีนที่ละลาย น้ำได้จากปลาทรายแดงที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช พบว่า แผ่นฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชที่สามารถนำมาวัดค่าการซึมผ่าน ของก๊าซออกซิเจนได้มีเพียงภาวะที่ผลิตโดยใช้ pH 9 และ 10 (รูปที่ 17) เนื่องจากแผ่นฟิล์มที่ ภาวะอื่นๆไม่สามารถทนขั้นตอนการดูดอากาศออกจากระบบได้ แผ่นฟิล์มจะขาดก่อนการวัดค่า ต่างๆจะเสร็จสิ้น

ฟิล์มโปรตีนจะมีสมบัติการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่า non-ionic polysaccharide film เนื่องจากโครงสร้างโดยธรรมชาติของโปรตีนที่มีขั้ว และเป็นเส้นตรง (linear) มากกว่า ทำให้ฟิล์มโปรตีนมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลสูง จึงทำให้ช่องว่างระหว่าง โมเลกุลมีขนาดเล็ก (Miller and Krochta, 1997) จากการทดลองนี้ ที่ pH ของสารละลาย film-forming solution เท่ากัน พบว่า เมื่อปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเพิ่มขึ้น ค่าการซึมผ่านของก๊าซ ออกซิเจนผ่านแผ่นฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาจะลดลง (รูปที่ 17) เนื่องจากผลของการเชื่อม ขวางระหว่างไดอัลดีไฮด์สตาร์ชกับโปรตีน ทำให้ช่องว่างภายใน protein matrix ลดลง จึงทำให้ค่า การซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนลดลง ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนในฟิล์มบริโคได้จากโปรตีน ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีนมีค่า 5.18 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa ซึ่งต่ำกว่าฟิล์มสังเคราะห์ เช่น polyester film (17.3 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa), cellophane (252 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa), high density polyethylene (427 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa) และ low density polyethylene (1870 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa) และต่ำกว่าฟิล์มโปรตีนชนิดอื่นๆ ได้แก่ gluten (6.1 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa), soy protein film (6.1 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa MPa), collagen (23.3 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa), และ whey protein isolate film (76.1 mL.μm/m<sup>2</sup>.d.kPa) (McHugh and Krochta, 1994b)

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มที่ pH ของสารละลายเท่ากัน (รูปที่ 18) พบว่า เมื่อปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเพิ่มขึ้น ค่าการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มจะเพิ่มขึ้นอย่างมี นัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  ผลที่ได้นี้ตรงข้ามกับงานวิจัยที่ศึกษาการดัดแปรฟิล์มโปรตีนด้วยสาร aldehydes ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ Weadock, Olson และ Silver (1984) พบว่าการใช้ glutaraldehyde กับฟิล์ม collagen ทำให้ฟิล์มมีปริมาณความชื้นลดลง Ghorpade และคณะ (1995) พบว่า ฟิล์ม soy protein isolate ที่เชื่อมขวางด้วย formaldehyde ทำให้ฟิล์มมีค่าการซึม ผ่านของไอน้ำลดลงเล็กน้อย เนื่องจากการเชื่อมขวางของหมู่อะมิโนกับ aldehydes ทำให้หมู่อะมิ



โน ที่เป็น hydrophilic site บนสายโปรตีนไม่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ จึงจับกับโมเลกุลน้ำได้น้อยลง แต่จากการทดลองนี้ พบว่า การเชื่อมขวางของโปรตีนกับไดอัลดีไฮด์สตาร์ซทำให้ฟิล์มโปรตีนมีค่าการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้น เนื่องจากไดอัลดีไฮด์สตาร์ซเป็นโพลีเมอร์ที่มีหมู่ aldehyde 2 หมู่ และหมู่ hydrophilic hydroxyl 1 หมู่ในแต่ละ repeating unit บนสายโพลีเมอร์ (Ernst et al., 1962) จึงทำให้ไดอัลดีไฮด์สตาร์ซสามารถจับกับน้ำได้ดี นอกจากนี้ โมเลกุลที่ใหญ่ของไดอัลดีไฮด์สตาร์ซ ยังทำให้ช่องว่างภายใน protein matrix ขยายกว้างขึ้น ดังนั้นอัตราการแพร่ของโมเลกุลน้ำผ่านฟิล์มจึงเพิ่มขึ้น (Rhim et al., 1998)

สารละลายโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงที่ pH ต่างกัน หมู่ฟังก์ชันต่างๆ ในโมเลกุลโปรตีนก็จะมี activity ต่างกันไป จากการทดลองนี้ ที่ pH ใกล้กับค่า pi ของโปรตีน ค่าการซึมผ่านของไอน้ำจะมากกว่าที่ pH ห่างจากค่า pi ของโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Brandenburg, Weller และ Testin (1993) ที่ศึกษาค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก soy protein isolate เนื่องจาก ที่ pH สูงๆ โปรตีนจะคลายตัวได้ดี แต่สายโปรตีนมีประจุเป็นลบสูง ทำให้เกิดการผลักกันเอง และเกิดปฏิสัมพันธ์กันได้ยาก ส่งผลให้ค่าการซึมผ่านไอน้ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ สารละลายสำหรับขึ้นรูปฟิล์มที่มีค่า pH สูงมากๆ จะมีความหนืดสูงขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนคลายตัวออกมามาก จึงอาจมีฟองอากาศที่มองไม่เห็นแทรกอยู่มาก ซึ่งจะรบกวนการเกิดพันธะข้ามของโปรตีนได้เช่นกัน (McHugh, Aujard, and Krochta, 1994)

การวิเคราะห์ค่าสีของแผ่นฟิล์มจากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ซด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter รุ่น CR-300 ในระบบ Hunter L a b (ตารางที่ 3) พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ซ จะทำให้ฟิล์มมี yellowness (ค่า +b) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  ส่วนค่า L และค่า -a จะลดลง (lightness ลดลง และ greenness เพิ่มขึ้น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  การเกิด interaction ระหว่างโปรตีนและ bifunctional aldehydes ทำให้เกิดสีเหลืองหรือน้ำตาล เนื่องจากสาร intermediates หรือ final products ของ Maillard reaction (Cheftel et al., 1985) ดังนั้น การเกิด yellowness ของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ซแสดงถึงผลของการเกิดการเชื่อมขวาง (cross-linking) ภายในโครงสร้างฟิล์ม โดยเมื่อเพิ่มปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ซจาก 2.5 เป็น 7.5% จะทำให้ฟิล์มมี yellowness เพิ่มขึ้นอย่างมาก (ค่าเฉลี่ยของ +b เพิ่มขึ้นประมาณ 63%) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ซถึง 10% จะทำให้ฟิล์มมี yellowness เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (+b values) จากลักษณะเช่นนี้แสดงผลสอดคล้องกับค่าการต้านทานแรงดึงขาด กล่าวคือ การเกิดการเชื่อมขวางระหว่างโปรตีนละลายน้ำได้จากปลากับไดอัลดีไฮด์สตาร์ซมาถึงจุดอิ่มตัว เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ซประมาณ 7.5% ของปริมาณโปรตีน มีรายงานของฟิล์มที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ซ ทำให้ฟิล์มมีสีเหลืองน้ำตาล ได้แก่ ฟิล์ม collagen ในสภาวะสารละลายเป็นกลางหรือต่าง

(Nayudamma, Joseph, and Bose, 1961) พิล์ม casein ในสภาวะสารละลายเป็นต่าง (Weakley and Mehlretter, 1961) พิล์ม zein (Spence, Jane, and Pometto, 1995) พิล์มจากไข่ขาว (Gennadios et al., 1998) และพิล์ม soy protein isolate (Rhim et al., 1998) Nayudamma, Joseph และ Bose (1961) ทำการวิเคราะห์สารประกอบสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง dialdehyde starch กับกรดอะมิโนด้วย Infrared spectrum พบว่า สารประกอบสีน้ำตาลเกิดในลักษณะ Schiff base structure นอกจากนี้ สารประกอบอัลดีไฮด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น glutaraldehyde และ glyceraldehydes ให้สารประกอบสีน้ำตาล เมื่อทำปฏิกิริยากับโปรตีนหลายชนิด (Habeeb and Hiramoto, 1968; Richards and Knowles, 1968) อย่างไรก็ตาม พิล์มบริโคมได้จากปลาทรายแดงที่สกัดได้จะมีสีเหลืองอ่อนๆอยู่แล้ว เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มบริโคมได้เป็นโปรตีนและมีคาร์โบไฮเดรตอยู่เล็กน้อย การทดลองหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret assay พบว่าโปรตีนที่ใช้เป็นวัตถุดิบไม่ได้ประกอบด้วยโปรตีน 100% และในการวิเคราะห์องค์ประกอบของเนื้อปลาทรายแดง พบว่ามีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบอยู่เล็กน้อยคือ 0.06% ทำให้อาจมีคาร์โบไฮเดรตปนอยู่ในโปรตีนที่เป็นวัตถุดิบเล็กน้อย จึงสามารถเกิดปฏิกิริยา Maillard ซึ่งเป็น non-enzymatic browning ขึ้นได้ (Lee, 1996) แต่เนื่องจากปริมาณน้ำตาลมีอยู่น้อยมากจึงเกิดได้เพียงเล็กน้อย และเห็นเป็นเพียงสีเหลืองอ่อนๆ เท่านั้น

#### 5.4.3 การติดตามผลการเกิดเชื่อมขวางของโปรตีนที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชโดยวิธี SDS-PAGE

จากผลการวิเคราะห์รูปแบบของโปรตีนในโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชที่ปรับ pH เป็น 9 ในการวิเคราะห์ใช้ 12.5% separating gel และ 4% stacking gel ใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์ ใช้โปรตีนมาตรฐานที่มีมวลโมเลกุล 97, 66, 45, 30, 20.1 และ 14.4 kDa ได้ผลดังรูปที่ 19 ช่อง B เป็นโปรตีนละลายน้ำได้จากปลา ช่อง C เป็นฟิล์มโปรตีนที่ไม่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช และช่อง D ถึง G เป็นฟิล์มโปรตีนที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชปริมาณ 2.5%, 5%, 7.5% และ 10% ของปริมาณโปรตีน ตามลำดับ พบว่า ในฟิล์มโปรตีนที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช เมื่อปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเพิ่มขึ้น intensity ของ bottom bands จะลดลง และ aggregate bands จะมี intensity เพิ่มขึ้น ซึ่งในการวิเคราะห์ด้วยวิธี SDS-PAGE นี้ ในการเตรียมตัวอย่าง จะใช้ 2-mercaptoethanol ซึ่งเป็นสารที่มีหน้าที่ตัดพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ซึ่งเป็นพันธะโควาเลนต์ที่สำคัญในการเกิดโครงสร้างตาข่ายของโปรตีน (Iwata et al., 2000) ดังนั้น aggregate bands ใน electrophoretic pattern ของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช เกิดจากพันธะ covalent cross-

linking ระหว่างไดออลดีไฮด์สตาร์ชกับโมเลกุลโปรตีน มากกว่าที่จะเกิดจากพันธะ intermolecular disulfide bonds ระหว่างสายโปรตีน ทำให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้น จึงเคลื่อนที่ได้ช้ามากในอะครีลาไมด์เจลความเข้มข้น 12.5%

จากผลการทดลองที่กล่าวมา สามารถสรุปได้ว่า ภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการดัดแปรฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงด้วยไดออลดีไฮด์สตาร์ช คือ ที่ pH 9 และใช้ปริมาณไดออลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีน โดยทำให้แผ่นฟิล์มมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น 55-60% เนื่องจากสมบัติทางกลของฟิล์มบริโกลได้มีความสำคัญเบื้องต้นต่อการนำฟิล์มไปใช้ประโยชน์กับอาหาร ทำให้สามารถต้านทานแรงระหว่างการนำไปใช้ การขนส่ง และการจัดการกับอาหาร อย่างไรก็ตาม การดัดแปรฟิล์มโปรตีนด้วยไดออลดีไฮด์สตาร์ชไม่สามารถปรับปรุงสมบัติการซึมผ่านไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์มได้ จึงนำภาวะการดัดแปรฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงด้วยไดออลดีไฮด์สตาร์ชที่ pH 9 และใช้ปริมาณไดออลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีนไปศึกษาต่อในการทดลองขั้นต่อไป

## 5.5 การศึกษาผลของการเติมไขมันที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

### 5.5.1 การผลิตฟิล์มบริโกลได้จากสารละลายอีมีลชันของโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ไดออลดีไฮด์สตาร์ช และไขมัน

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของการเติมไขมันที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ดัดแปรด้วยไดออลดีไฮด์สตาร์ช เนื่องจากได้ทดลองผลิตแผ่นฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ดัดแปรด้วยไดออลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีน ปรับ pH ของสารละลายเป็น 9 พบว่าฟิล์มยังมีสมบัติการซึมผ่านไอน้ำที่ไม่ดี แต่หากมีการเติมสารประกอบลิปิดแล้ว คาดว่าจะทำให้สามารถปรับปรุงสมบัติการซึมผ่านไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์มได้ เนื่องจากลักษณะที่เป็น hydrophobic ของสารประกอบลิปิด

ในการทดลองขั้นนี้ใช้สารประกอบลิปิด คือ ไขมัน มาปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ดัดแปรด้วยไดออลดีไฮด์สตาร์ช โดยใช้ระดับความเข้มข้นของไขมัน 3 ระดับ คือ 20% 30% และ 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จากการทดลอง พบว่าแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้มีลักษณะพื้นผิวต่อเนื่องเป็นเนื้อเดียวกัน โดยทำการควบคุมความหนาของฟิล์มให้คงที่ ด้วยการคำนวณปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในสารละลาย film-forming solution ซึ่งในที่นี้คือ

โปรตีน พลาสติไซเซอร์ ไดอัลดีไฮด์สตาร์ช และไขมัน ที่เติมลงไปให้เท่ากัน เนื่องจากความหนาของฟิล์มเป็นปัจจัยสำคัญมีผลต่อสมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์ม (Banker, 1966, Cuq et al., 1996)

#### 5.5.2 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆของฟิล์มบริเวณใต้จากปลาทรายแดงที่ผลิตโดยใช้ปริมาณไขมันต่างกัน

ฟิล์มโปรตีนมีสมบัติในการเป็นตัวกันก๊าซที่ดี แต่มีสมบัติการเป็นตัวกันความชื้นที่ต่ำ ส่วนสารประกอบลิปิดมีสมบัติการเป็นตัวกันความชื้นที่ดี แต่มีสมบัติการเป็นตัวกันก๊าซที่ต่ำ การรวมสารประกอบโปรตีนและลิปิดเข้าด้วยกัน สามารถปรับปรุงสมบัติการเป็นตัวกันความชื้นและก๊าซของฟิล์มได้ (McHugh and Krochta, 1994b) จากการทดลองนี้ เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (รูปที่ 20) พบว่า เมื่อปริมาณของไขมันเพิ่มขึ้นจาก 20% เป็น 30% และ 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จะทำให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีนลดลง 37% อย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  เนื่องจากไขมันมีความเป็น hydrophobic สูง และเป็นสารประกอบที่มีจุดหลอมเหลวสูง (melting point =  $61^{\circ}\text{C}$ ) จึงแสดงสมบัติเป็นตัวกันไอน้ำที่ดี (Kemper and Fennema, 1984a; Kester and Fennema, 1989) โดยไขมันประกอบด้วยเอสเทอร์ของ long-chain fatty alcohols และ acids ถึง 71%, long-chain hydrocarbons 15%, free fatty acids 8% และ unidentified components 6% (Tulloch, 1970) จากองค์ประกอบของไขมันที่มีความเป็น hydrophobic สูงนี้น่าจะเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ไขมันมีสมบัติของการเป็นตัวกันไอน้ำที่ดี ถึงแม้ว่าส่วนที่เป็นเอสเทอร์ของไขมันจะมีหมู่ที่มีขั้ว ได้แก่ carboxyl residue ของกรดไขมัน แต่เนื่องจากหมู่นี้ถูกฝังอยู่ภายในโมเลกุล และถูกกันด้วย hydrocarbon สายยาว จึงแสดงสมบัติ hydrophilic ออกมาเพียงเล็กน้อย (Kester and Fennema, 1989) สอดคล้องกับรายงานของ Avena-Bustillos และ Krochta (1993) พบว่า ฟิล์ม emulsion ระหว่าง caseinate กับไขมัน แสดงสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำต่ำกว่า stearic acid และ acetylated monoglyceride และรายงานของ McHugh และ Krochta (1994d) พบว่า ฟิล์ม emulsion ระหว่าง whey protein กับไขมัน แสดงสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำต่ำกว่า palmitic acid และ stearyl alcohol นอกจากนี้ Tanaka และคณะ (2001a) ศึกษาสมบัติการแพร่ผ่านไอน้ำของฟิล์ม emulsion ระหว่างโปรตีนละลายน้ำได้จากปลา กับไขมันอิ่มตัวต่างๆ ได้แก่ lauric acid, palmitic acid และ stearic acid พบว่า ไขมันปริมาณ 20-40% ของปริมาณโปรตีนให้ค่าสมบัติการแพร่ผ่านไอน้ำต่ำกว่า lauric acid, palmitic acid และ stearic acid ที่ปริมาณเท่ากัน ดังนั้น การนำไขมันมาดัดแปรใช้กับฟิล์มโปรตีนจึงสามารถปรับปรุงสมบัติการแพร่ผ่านไอน้ำของฟิล์มได้

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบสมบัติการซึมผ่านไอน้ำของการเติมไขมันในฟิล์มที่ไม่ได้ดัดแปรและดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีน (รูปที่ 20) พบว่า ฟิล์มที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีน จะให้ค่าการซึมผ่านไอน้ำลดลง 37% ซึ่งน้อยกว่าฟิล์มที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชที่ให้ค่าการซึมผ่านไอน้ำลดลงถึง 67% เนื่องจากฟิล์มโปรตีนที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชมีความเป็น hydrophilic สูงอยู่แล้ว จึงทำให้สมบัติการแพร่ผ่านไอน้ำลดลงน้อยกว่าฟิล์มโปรตีนที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช อย่างไรก็ตาม ฟิล์มที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีน จะให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำสูงกว่าฟิล์มที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชในทุกปริมาณไขมันที่ใส่

เมื่อพิจารณาค่าสีของฟิล์มบรีโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงดัดแปรด้วยไขมันปริมาณ 20% 30% และ 40% (ตารางที่ 4) พบว่า เมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ผลิตได้มีค่า  $+b$  สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  แสดงว่าแผ่นฟิล์มมีลักษณะเป็นสีเหลืองมากขึ้น และค่า  $L$  ลดลงเล็กน้อย แสดงว่าฟิล์มมีความสว่างลดลงเล็กน้อย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gontard และคณะ (1994) พบว่า ฟิล์ม emulsion ระหว่าง wheat gluten กับไขมัน จะมีลักษณะทึบแสงมากขึ้นกว่าฟิล์มโปรตีน wheat gluten ที่ไม่มีการเติมไขมัน แสดงว่า ผลึกของไขมันจะกระจายอยู่ใน protein network โดยไม่ได้มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน

สมบัติทางกลของฟิล์มบรีโกลได้มีความสำคัญเบื้องต้นต่อการนำฟิล์มไปใช้ประโยชน์กับอาหาร โดยทั่วไป ฟิล์มบรีโกลได้จำเป็นต้องมีค่าต้านทานแรงดึงขาดที่สูงเพื่อให้สามารถต้านทานแรงระหว่างการนำไปใช้ การขนส่ง และการจัดการกับอาหาร จากการทดลองนี้สมบัติทางกลของ composite film ระหว่างโปรตีนกับไขมันแสดงดังรูปที่ 21 และ 22 เมื่อพิจารณาค่าการต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์ม (รูปที่ 21) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณไขมันจาก 20% เป็น 30% และ 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ ค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  คือลดลงจาก 6.23 MPa เป็น 5.90 MPa และ 5.52 MPa ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม (รูปที่ 22) พบว่า ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มลดลงเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญที่  $p > 0.05$  Gontard และคณะ (1992, 1994) กล่าวว่า ไขมันมีองค์ประกอบที่เป็น hydrophobic สูง จะให้ผลที่เป็น negative effect ต่อสมบัติทางกลของ composite film ซึ่งคล้ายกับผลของการลดปริมาณน้ำหรือ glycerol ลง ดังนั้น ไขมันจึงมีผลเป็น anti-plasticizing ของแผ่นฟิล์ม เนื่องจากไขมันมีสมบัติทางกลที่มีความเปราะมาก และจากลักษณะที่เป็น hydrophobic จึงสามารถลดปริมาณน้ำในฟิล์มให้น้อยกว่าฟิล์มที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยไขมัน

สมบัติความต้านทานน้ำของฟิล์มบรีโกลได้ เป็นสมบัติที่สำคัญต่อการนำไปใช้ประโยชน์ ยกตัวอย่างเช่น การป้องกันอาหารในสภาวะที่มี water activity สูง หรือเมื่อฟิล์มต้อง

สัมพันธ์กับน้ำในระหว่างกระบวนการผลิต (เช่น ป้องกันการเกิด exudation ของผลิตภัณฑ์สดหรือแช่แข็ง) ในทางกลับกัน ผลิตภัณฑ์บางชนิด อาจต้องการฟิล์มบริโภาคที่มีความสามารถในการละลายน้ำสูง ยกตัวอย่างเช่น การนำฟิล์มมาใช้บรรจุส่วนประกอบอาหาร ที่สามารถนำมาละลายในน้ำหรืออาหารร้อน (Gontard et al., 1994) จากการทดลองนี้ เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มที่ตัดแปรด้วยไขมัน (รูปที่ 23) พบว่า เมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นจาก 20% เป็น 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มจะเพิ่มขึ้นจาก 22.88% เป็น 24.08% อย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  ถึงแม้ว่า โปรตีนจะสามารถจับกับไขมันด้วยพันธะ hydrophobic แต่เนื่องจากไขมันมีโมเลกุลใหญ่ จึงน่าจะไปลดความเสถียรของ protein structural matrix บางส่วน นั่นคือลดแรงดึงดูดของโมเลกุล (inter-molecular interactions) ระหว่างสายของโปรตีน ทำให้โปรตีนสามารถละลายออกมาได้มากขึ้น (Gontard et al., 1994, 1995)

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนผ่านแผ่นฟิล์มโปรตีนที่ตัดแปรด้วยไขมัน (ตารางที่ 5) พบว่า เมื่อปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเพิ่มขึ้น จะทำให้ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาเพิ่มขึ้น เนื่องจากไขมันมีโมเลกุลใหญ่ จึงน่าจะไปลดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ทำให้สายโพลีเมอร์เปิดออกมากขึ้น และเพิ่มช่องว่างภายใน protein matrix ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนจึงสูงขึ้น (Gontard et al., 1994)

## 5.6 การศึกษาผลของปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชและ pH ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของการตัดแปรฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชและไขมัน

### 5.6.1 การผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวานตัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช

งานวิจัยนี้มีความสนใจศึกษาการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานควบคู่กับการศึกษาในปลาทรายแดง เนื่องจากในปัจจุบันบริษัทผู้ผลิตซูริมิไม่ได้ทำการผลิตซูริมิจากปลาทรายแดงเพียงชนิดเดียว แต่มีการผลิตซูริมิจากปลาตาหวาน ปลาจวด และปลาเนื้อขาวอื่นๆ ด้วย (ขวัญชัย สมุทรพาณิชย์, 2542) ดังนั้น การศึกษาการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานและปลาทรายแดงควบคู่กันไป ทำให้สามารถผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาได้หลากหลายยิ่งขึ้น

จากการทดลองผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวานตัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช พบว่า แผ่นฟิล์มที่ผลิตได้โดยทั่วไปมีลักษณะเป็นแผ่นต่อเนื่องกันซึ่งเกิดจากการเกิดโครงสร้างตาข่ายระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับไดอัลดีไฮด์สตาร์ช แผ่นฟิล์มมีลักษณะ

แข็งแรงขึ้นมากเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ไม่มีกรดแอมิโนด้วยไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซี เช่นเดียวกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

เมื่อปรับ pH ของสารละลายโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาตาหวานเป็น 8 9 10 11 และ 12 พบว่า ที่ pH 8 และ 9 ไม่สามารถนำสารละลายโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวานมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ เนื่องจากเป็นสภาวะที่ใกล้เคียงกับค่า pI ของโปรตีนละลายน้ำจากปลา (pI 6.8-7.8) ทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน และไม่สามารถนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มที่มีความเรียบสม่ำเสมอได้ สภาวะการผลิตฟิล์มจากปลาตาหวานนี้แตกต่างจากการผลิตฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงที่ไม่สามารถขึ้นรูปได้ที่ pH 8 เท่านั้น

จากที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สามารถผลิตฟิล์มบรีโกลได้จากโปรตีนที่ละลายน้ำจากปลาตาหวานที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซีได้ที่ pH เท่ากับ 10 11 และ 12 เท่านั้น

#### 5.6.2 การศึกษาผลของปริมาณไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซีและ pH ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของการดัดแปรฟิล์มบรีโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานด้วยไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซี

ในการเตรียมสารละลายสำหรับขึ้นรูปฟิล์มที่ pH ของสารละลายเท่ากัน (รูปที่ 24) พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซี จะทำให้ค่าการต้านทานแรงดึงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  เนื่องมาจากเกิดการเชื่อมขวางระหว่างโปรตีนละลายน้ำได้กับไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซี เมื่อพิจารณาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนปลาละลายน้ำได้จากปลาตาหวาน พบว่า มีชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่ใกล้เคียงกันกับปลาทรายแดง อย่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่  $p > 0.05$  โดยโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวานประกอบด้วยกรดอะมิโน ได้แก่ lysine 86.9 mg/g, arginine 50.4 mg/g, tyrosine 26.9 mg/g และ histidine 25.3 mg/g ที่สามารถทำปฏิกิริยากับ aldehyde ได้

ค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่ pH ของสารละลายเท่ากัน (รูปที่ 24) พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซี 7.5% จะทำให้ฟิล์มมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นประมาณ 72% และเมื่อเติมไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซีจาก 7.5 หรือ 10% จะทำให้ค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p > 0.05$  แสดงว่าการเชื่อมขวางระหว่างโปรตีนปลาที่ละลายน้ำได้กับไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซีมาถึงจุดอิ่มตัว เนื่องจากการเกิด steric hindrances ทำให้หมู่ aldehyde บนสายไดอัลดีไฮด์ไฮดรอกซีไม่สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ reactive amino ที่เหลือบนสายโปรตีนได้ (Gennadios et al., 1998) ลักษณะเช่นนี้เหมือนกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

เมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มที่ pH ของสารละลายสำหรับ ขึ้นรูปฟิล์มเท่ากัน (รูปที่ 25) พบว่า เมื่อปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเพิ่มขึ้น จะทำให้ฟิล์มมีค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดเพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มที่ pH ต่างกัน พบว่า เมื่อ pH ของสารละลายสูงขึ้น ค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดจะสูงขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากที่ pH สูงๆโปรตีนสามารถคลายตัวได้ดี มีหมู่ฟังก์ชันเปิดออกมามากและพร้อมที่จะเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายของโปรตีน แต่สายโปรตีนดังกล่าวจะมีประจุเป็นลบสูงทำให้เกิดการผลักกันเอง จึงเกิดปฏิสัมพันธ์กันได้ยาก และเกิดเป็นแห่งๆไม่ต่อเนื่อง ทำให้ฟิล์มมีลักษณะอ่อนแต่ยังยึดตัวได้ดี (Guilbert, 1986) เช่นเดียวกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดที่ pH ของสารละลายเท่ากัน (รูปที่ 26) พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ชปริมาณ 7.5% จะทำให้ค่าการละลายทั้งหมด ของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาสดลงประมาณ 37 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  แต่เมื่อเพิ่มปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเป็น 10% ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มโปรตีนจะไม่ลดลงอีก โดยสาเหตุที่ทำให้ฟิล์มโปรตีนมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง คือ การเกิดเชื่อมขวางระหว่างหมู่อัลดีไฮด์ของไดอัลดีไฮด์สตาร์ชกับหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนบนสายโปรตีน ทำให้หมู่อะมิโนไม่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ ฟิล์มโปรตีนจึงดูดซับน้ำได้น้อยลง ส่งผลให้สมบัติการละลายน้ำลดลง (Gennadios et al., 1998) ผลที่ได้เช่นเดียวกับโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

จากการวิเคราะห์ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนผ่านแผ่นฟิล์มโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาตาหวานที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช พบว่า แผ่นฟิล์มบริเวณที่ได้จากโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวานดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชที่สามารถนำมาวัดค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนได้มีเพียงภาวะที่ผลิตโดยใช้ pH 10 (ตารางที่ 6) เนื่องจากแผ่นฟิล์มที่ภาวะอื่นๆไม่สามารถทนขั้นตอนการดูดอากาศออกจากระบบได้ แผ่นฟิล์มจะขาดก่อนการวัดค่าต่างๆจะเสร็จสิ้น พบว่า เมื่อปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเพิ่มขึ้น ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนผ่านแผ่นฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาจะลดลง เนื่องจากผลของการเชื่อมขวางระหว่างไดอัลดีไฮด์สตาร์ชกับโปรตีน ทำให้ช่องว่างภายใน protein matrix ลดลง ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนจึงลดลง

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มที่ pH ของสารละลายเท่ากัน (รูปที่ 27) พบว่า เมื่อปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชเพิ่มขึ้น ค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  สาเหตุเนื่องจากไดอัลดีไฮด์สตาร์ชมี functional group ที่สามารถเกิดพันธะกับน้ำได้ ดังนั้นอัตราการแพร่ของโมเลกุลน้ำผ่านฟิล์มจึงเพิ่มขึ้น (Rhim et al., 1998) ผลการทดลองที่ได้เช่นเดียวกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

การวิเคราะห์ค่าสีของแผ่นฟิล์มจากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชด้วยเครื่อง Minolta Croma Meter รุ่น CR-300 ในระบบ Hunter L a b



(ตารางที่ 7) พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ช จะทำให้ฟิล์มมี yellowness (ค่า +b) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  ส่วนค่า L และค่า -a จะลดลง (lightness ลดลง และ greenness เพิ่มขึ้น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  การเกิด interaction ระหว่างโปรตีนและ bifunctional aldehydes ทำให้เกิดสีเหลืองหรือน้ำตาล เนื่องจากสาร intermediates หรือ final products ของ Maillard reaction (Cheftel et al., 1985) ดังนั้น การเกิด yellowness ของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช แสดงถึงผลของการเกิดการเชื่อมขวางภายในโครงสร้างฟิล์ม โดยเมื่อเพิ่มปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชจาก 2.5 เป็น 7.5% จะทำให้ฟิล์มมี yellowness เพิ่มขึ้นอย่างมาก (ค่าเฉลี่ยของ +b เพิ่มขึ้น  $\sim 80\%$ ) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณไดอัลดีไฮด์สตาร์ชถึง 10% จะทำให้มีฟิล์มมี yellowness เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (+b values) แสดงว่าการเกิดการเชื่อมขวางระหว่างโปรตีนละลายน้ำได้จากปลากับไดอัลดีไฮด์สตาร์ชมาถึงจุดอิ่มตัว ("saturation" point) เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ชประมาณ 7.5% ของปริมาณโปรตีน เช่นเดียวกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

### 5.6.3 การติดตามผลการเกิดเชื่อมขวางของโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวานที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช โดยวิธี SDS-PAGE

จากผลการวิเคราะห์รูปแบบของโปรตีนในโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาตาหวานดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชที่ปรับ pH เป็น 10 ในการวิเคราะห์ใช้ 12.5% separating gel และ 4% stacking gel ใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์ ใช้โปรตีนมาตรฐานที่มีมวลโมเลกุล 97, 66, 45, 30, 20.1 และ 14.4 kDa ได้ผลดังรูปที่ 28 ช่อง B เป็นโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง ช่อง C เป็นโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวาน ช่อง D เป็นฟิล์มโปรตีนที่ไม่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช และช่อง D ถึง G เป็นฟิล์มโปรตีนที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชปริมาณ 2.5 5 7.5 และ 10% ของปริมาณโปรตีน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาส่วนของโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงเปรียบเทียบกับปลาตาหวาน พบว่า ช่อง B ไม่เกิดแถบเด่นชัดที่โปรตีนมาตรฐานที่มีมวลโมเลกุล 20.1-14.4 kDa ในขณะที่ช่อง C แยกเป็นแถบที่ชัดเจนกว่าที่โปรตีนมาตรฐานที่มีมวลโมเลกุล 20.1-14.4 kDa แสดงว่าโปรตีนทั้งสองชนิดมีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่างกัน จึงส่งผลต่อสภาวะการขึ้นรูปฟิล์มที่ต่างกัน และเมื่อพิจารณาฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวานที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช พบว่า เมื่อเติมไดอัลดีไฮด์สตาร์ช เพิ่มขึ้น จะทำให้ intensity ของ bottom bands ลดลง และ intensity ของ aggregate bands จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากในการวิเคราะห์ด้วยวิธี SDS-PAGE นี้ ในการเตรียมตัวอย่าง จะเติม 2-mercaptoethanol ใน buffer system ซึ่งเป็นสารที่มีหน้าที่ตัดพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ดังนั้น aggregate bands ของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช จึงเกิดจากพันธะ covalent cross-linking

ระหว่างไดอัสตีไฮด์สตาร์ชกับโปรตีน มากกว่าเกิดจากพันธะ intermolecular disulfide bonds ระหว่าง protein chains

จากผลการทดลองที่กล่าวมา สามารถสรุปได้ว่า ภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการดัดแปรฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานด้วยไดอัสตีไฮด์สตาร์ช คือ ที่ pH 10 และใช้ปริมาณไดอัสตีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีน โดยทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น 55-60% อย่างไรก็ตาม การดัดแปรฟิล์มโปรตีนด้วยไดอัสตีไฮด์สตาร์ชไม่สามารถปรับปรุงสมบัติการซึมผ่านไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์มได้ จึงนำภาวะการดัดแปรฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานด้วยไดอัสตีไฮด์สตาร์ชที่ pH 10 และใช้ปริมาณไดอัสตีไฮด์สตาร์ช 7.5% ของปริมาณโปรตีนไปศึกษาต่อในการทดลองขั้นต่อไป

## 5.7 การศึกษาผลของการเติมไขมันที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวาน

### 5.7.1 การผลิตฟิล์มบริโกลได้จากสารละลายอีมีลชันของโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวาน ไดอัสตีไฮด์สตาร์ช และไขมัน

การทดลองขั้นนี้ใช้ไขมัน มาปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ดัดแปรด้วยไดอัสตีไฮด์สตาร์ช โดยใช้ระดับความเข้มข้นของไขมัน 3 ระดับ คือ 20% 30% และ 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จากการทดลอง พบว่าแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้มีลักษณะพื้นผิวต่อเนื่องเป็นเนื้อเดียวกัน โดยทำการควบคุมความหนาของฟิล์มให้คงที่ ด้วยการคำนวณปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในสารละลาย film-forming solution ซึ่งในที่นี้คือ โปรตีน พลาสตีไซเซอร์ ไดอัสตีไฮด์สตาร์ช และไขมัน ที่เติมลงไปให้เท่ากัน

### 5.7.2 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆของฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานที่ผลิตโดยใช้ปริมาณไขมันต่างๆกัน

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (รูปที่ 29) พบว่า เมื่อปริมาณของไขมันเพิ่มขึ้นจาก 20% เป็น 30% และ 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จะทำให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p < 0.05$  โดยในฟิล์มที่ไม่ได้ดัดแปรด้วยไดอัสตีไฮด์สตาร์ช ค่าการซึมผ่านของไอน้ำลดลง 70% ส่วนฟิล์มที่ดัดแปรด้วยไดอัสตีไฮด์สตาร์ช ค่าการซึมผ่านของไอน้ำของแผ่นฟิล์มจะลดลงเพียง 40% เนื่องจากไขมันมีความเป็น hydrophobic สูง และเป็นสารประกอบที่มีจุดหลอมเหลวสูง (melting point =  $61^{\circ}\text{C}$ ) จึงแสดงสมบัติเป็นตัวกั้นไอน้ำที่ดี (Kamper and

Fennema,1984; Kester and Fennema,1989) ผลการทดลองเช่นนี้เป็นลักษณะเดียวกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

เมื่อพิจารณาค่าสีของฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานดัดแปรด้วยไขมันปริมาณ 20% 30% และ 40% ด้วยระบบ Hunter L a b (ตารางที่ 8) พบว่า เมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ผลิตได้มีค่า +b สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  แสดงว่าแผ่นฟิล์มมีลักษณะเป็นสีเหลืองมากขึ้น และค่า L ลดลงเล็กน้อย แสดงว่าฟิล์มมีความสว่างลดลงเล็กน้อย เช่นเดียวกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

เมื่อพิจารณาค่าการต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานดัดแปรด้วยไขมัน (รูปที่ 30) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณไขมันจาก 20% เป็น 30% และ 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ ค่าการต้านทานแรงดึงขาดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  คือ ลดลงจาก 5.96 MPa เป็น 5.54 MPa และ 5.19 MPa ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม (รูปที่ 31) พบว่า ค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มลดลงเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญที่  $p > 0.05$  ผลการทดลองเช่นเดียวกับโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานดัดแปรด้วยไดอัลติไฮด์สตาร์ช 7.5% และไขมัน (รูปที่ 32) พบว่า เมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นจาก 20% เป็น 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มจะเพิ่มขึ้นจาก 24.23% เป็น 26.54% อย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  เนื่องจากไขมันจะไปลดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุล (inter-molecular interactions) ของสายโปรตีน ทำให้โปรตีนสามารถละลายออกมาได้มากขึ้น เช่นเดียวกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง (Gontard et al., 1994, 1995)

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนผ่านแผ่นฟิล์มโปรตีนละลายน้ำจากปลาตาหวานที่ดัดแปรด้วยไขมัน (ตารางที่ 9) พบว่า เมื่อไดอัลติไฮด์สตาร์ชปริมาณเพิ่มขึ้น จะทำให้ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาเพิ่มขึ้น เนื่องจากไขมันมีโมเลกุลใหญ่ จึงจะไปลดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ทำให้สายโพลีเมอร์เปิดออกมากขึ้น และเพิ่มช่องว่างภายใน protein matrix ทำให้ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนสูงขึ้น ลักษณะเช่นนี้เหมือนกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง (Gontard et al., 1994)

การดัดแปรฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาตาหวานที่ภาวะ pH 10 ด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% และไขผึ้ง 40% ของปริมาณโปรตีน ทำให้ฟิล์มมีสมบัติทางกายภาพใกล้เคียงกับฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 สมบัติทางกายภาพของโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ชและไขผึ้งจากปลาทรายแดงและปลาตาหวาน

สมบัติทางกายภาพ	ปลาทรายแดง ภาวะ pH 9 DAS 7.5% Beeswax 40%	ปลาตาหวาน ภาวะ pH 10 DAS 7.5% Beeswax 40%
Tensile strength (MPa)	5.52 ± 0.26	5.09 ± 0.24
Elongation at break (%)	94.26 ± 21.19	86.26 ± 25.36
Water vapor permeability (g.m/m <sup>2</sup> .s.Pa) x 10 <sup>-10</sup>	1.36 ± 0.17	1.27 ± 0.36
Total soluble matter (%)	24.27 ± 0.26	27.08 ± 0.46
Oxygen permeability (mL.µm/m <sup>2</sup> .d.kPa)	9.67	8.78

ฟิล์มโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาที่ดัดแปรด้วยไดอัลดีไฮด์สตาร์ช 7.5% และไขผึ้ง 40% ของปริมาณโปรตีนสามารถปรับปรุงให้ฟิล์มมีสมบัติการต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นและค่าการซึมผ่านไอน้ำลดลง ทำให้สามารถนำฟิล์มไปใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายขึ้น อย่างไรก็ตามการจะนำฟิล์มไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใดนั้น ควรคำนึงถึงลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิด เพื่อให้สามารถรักษาคุณภาพของอาหารนั้นๆ ให้คงไว้ได้นานที่สุด