

ผลของแวนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์และกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจาก
โปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน

นางสาวนันทิพย์ จุ่มสันเทียะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF MICROBIAL TRANSGLUTAMINASE AND GLYCEROL ON PROPERTIES
OF SOY PROTEIN ISOLATE AND GELATIN COMPOSITE FILMS

Miss Nuntip Joomsuntia

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของแพรอนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์และ
กลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจาก
โปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน

โดย

นางสาวนันทิพย์ จุ่มสันเทียะ

สาขาวิชา

เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

อาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กัลยา เลหาสงคราม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรวัฒน์ ทัดติยกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. วาณี ชนเห็นชอบ)

นันทิพย์ จูมสันเทียะ : ผลของแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์และกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน. (EFFECTS OF MICROBIAL TRANSGLUTAMINASE AND GLYCEROL ON PROPERTIES OF SOY PROTEIN ISOLATE AND GELATIN COMPOSITE FILMS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวณิช, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย, 85 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาติน การเติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ และความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน การวิจัยในส่วนแรกเป็นการศึกษาผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินและการเติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบ โดยแปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเป็น 5 อัตราส่วน ได้แก่ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 และแปรความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน พบว่าเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้นความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเชิงประกอบมีค่าเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) ฟิล์มเชิงประกอบมีความโปร่งแสงเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามความโปร่งแสงของฟิล์มเชิงประกอบทุกตัวอย่างมีค่าต่ำกว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและฟิล์มเจลาติน ปริมาณความชื้นของตัวอย่างฟิล์มมีค่าลดลงเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) ในขณะที่อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินที่ต่างกันไม่มีผลต่อความหนาและสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์ม ($p > 0.05$) สำหรับการเติมแทรนส์กลูตามิเนสพบว่าผลทำให้ฟิล์มเชิงประกอบมีความหนา ความต้านทานแรงดึงขาด การยืดตัวถึงจุดขาด และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ ในขณะที่ปริมาณความชื้นของฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสมีค่าลดลง ($p < 0.05$) ส่วนความโปร่งแสงของฟิล์มที่เติมและไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนสมีค่าใกล้เคียงกัน ความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสที่ต่างกัน (4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน) ไม่มีผลสำคัญต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบ รูปแบบของโปรตีนที่วิเคราะห์โดย SDS-PAGE ยืนยันการเกิดการเชื่อมข้ามของสายโปรตีนโดยแทรนส์กลูตามิเนส โดยพบว่าแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 84, 66 และ 45 kDa ซึ่งได้แก่หน่วยย่อยแอลฟาไพรม์ แอลฟา และเบต้า ของเบต้า-คอนไกลูบินของถั่วเหลืองมีความเข้มลดลงในตัวอย่างฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูตามิเนส ในขณะที่มีการปรากฏของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง สำหรับงานวิจัยส่วนที่สองเป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน โดยแปรความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ความหนา ปริมาณความชื้นและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเชิงประกอบมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าลดลง ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความโปร่งแสงของฟิล์ม จากงานวิจัยนี้พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงพร้อมทั้งมีการยืดตัวถึงจุดขาดสูง ได้แก่ ฟิล์มที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 ซึ่งเติม แทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน และกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน โดยตัวอย่างฟิล์มดังกล่าวมีความต้านทานแรงดึงขาดเท่ากับ 2.59 MPa และการยืดตัวถึงจุดขาดเท่ากับ 217.59% เมื่อนำตัวอย่างฟิล์มนี้มาศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้น พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นเป็นรูปตัวเอสหรือ type II isotherm โดยมีการเปลี่ยนแปลงของความชื้นในอัตราต่ำในช่วงวอเตอร์เอกทิวิตีเท่ากับ 0.50-0.85

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ.....
 สาขาวิชา..... เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
 ปีการศึกษา.....2553..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5072324623: MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS: PROTEIN FILM/COMPOSITE FILM/SOY PROTEIN ISOLATE/GELATIN/
TRANSGLUTAMINASE/GLYCEROL

NUNTIP JOOMSUNTIA : EFFECTS OF MICROBIAL TRANSGLUTAMINASE AND
GLYCEROL ON PROPERTIES OF SOY PROTEIN ISOLATE AND GELATIN COMPOSITE
FILMS. THESIS ADVISOR : THANACHAN MAHAWANICH, Ph. D., THESIS CO-ADVISOR
: ASST. PROF. KIATTISAK DUANGMAL, Ph. D., 85 pp.

The objective of this research was to investigate the effects of soy protein isolate-to-gelatin ratio, transglutaminase treatment, as well as glycerol concentration on properties of composite film. The effects of soy protein isolate-to-gelatin ratio and transglutaminase treatment on film properties were monitored in the first part of this study. Five soy protein isolate-to-gelatin ratios (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 and 0:100) and three levels transglutaminase (0, 4 and 8 units/g protein) were used in film preparation. Tensile strength and elongation at break were found to increase with increasing gelatin concentration ($p \leq 0.05$). The composite films exhibited increased transparency as gelatin concentration increased. However, all composite film samples were less transparent than those films made from single type of protein. Reduced moisture content was demonstrated as gelatin concentration increased ($p \leq 0.05$). On the other hand, soy protein isolate-to-gelatin ratio was shown to have no significant effect on film thickness and water vapor permeability ($p > 0.05$). Transglutaminase treatment resulted in films with increased thickness, tensile strength, elongation at break and water vapor permeability ($p \leq 0.05$), with a decrease in moisture content ($p \leq 0.05$). Transglutaminase-treated and untreated films were similar in transparency. Different enzyme concentrations (4 and 8 units/g protein) did not significantly affect film properties. Cross-linking of proteins resulted from transglutaminase treatment was confirmed by SDS-PAGE protein pattern. Decreases in band intensity of 84, 66 and 54 kDa proteins, which correspond to the α' -, α - and β -subunits of soy β -conglycinin, were observed in the enzyme-treated films, with a concomitant increase in band intensity of proteins with higher molecular weight. The second part of this research was the study of the effect of glycerol concentration on film properties. Glycerol concentration was varied at the levels of 55, 60 and 65% by weight of protein. As glycerol concentration increased, film thickness, moisture content and elongation at break were found to increase significantly ($p \leq 0.05$) while tensile strength decreased with increasing glycerol concentration ($p \leq 0.05$). Glycerol concentration had no effect on water vapor permeability and transparency. From this study, it was revealed that the composite film with soy protein isolate-to-gelatin ratio of 25:75 and 60% glycerol that was treated by 8 units of transglutaminase/g protein was high in both tensile strength (2.59 MPa) and elongation at break (217.59%). This film sample possessed an S-shaped or type II moisture sorption isotherm, with reduced rate of moisture change in the 0.50-0.85 water activity range.

Department : Food Technology Student's Signature

Field of Study : Food Technology Advisor's Signature

Academic Year : 2010 Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช อาจารย์ที่ปรึกษา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ ดวงมาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้

ขอขอบพระคุณกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ซึ่งประกอบด้วยรองศาสตราจารย์ ดร. กัลยา เลหาสงคราม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรวัฒน์ ทัตติยกุล และรองศาสตราจารย์ ดร. วาณิชนเห็นชอบ ที่ให้ความรู้ พร้อมทั้งชี้แนะแนวทางการวิจัย และให้คำแนะนำในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอบคุณเพื่อน พี่และน้อง ในหลักสูตรปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลอดจนเพื่อนๆ ทุกคนสำหรับกำลังใจ และความช่วยเหลือที่มีให้ตลอด ขอขอบคุณพี่อ้อด เสกสรร วงศ์ศิริ สำหรับคำแนะนำในด้านเทคนิคการทำ SDS-PAGE และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ สำหรับความรัก ความเอาใจใส่ และกำลังใจที่ให้แก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 วารสารปริทัศน์.....	2
2.1 फिल्मย่อยสลายได้.....	2
2.1.1 พอลิเมอร์ชีวภาพที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฟิล์มย่อยสลายได้.....	2
2.1.2 การเกิดเป็นฟิล์ม.....	3
2.1.3 การผลิตฟิล์มโปรตีน.....	3
2.1.4 ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติของฟิล์ม.....	6
2.1.4.1 โครงสร้างของพอลิเมอร์.....	6
2.1.4.2 ชนิดของตัวทำละลาย.....	6
2.1.4.3 ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ในสารละลาย.....	6
2.1.4.4 อุณหภูมิที่ใช้เพื่อระเหยตัวทำละลาย.....	6
2.1.5 การปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน.....	7
2.1.5.1 วิธีทางเคมี.....	7
2.1.5.2 วิธีทางกายภาพ.....	8
2.1.5.3 การใช้เอนไซม์.....	9
2.1.5.4 การผลิตเป็นฟิล์มเชิงประกอบ.....	10
2.2 โปรตีนถั่วเหลืองสกัด.....	12
2.2.1 การผลิตโปรตีนถั่วเหลืองสกัด.....	12
2.2.2 องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง.....	12
2.2.3 การเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง.....	13
2.2.4 สมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง.....	14
2.3 เจลาติน.....	14
2.3.1 การผลิตเจลาติน.....	14
2.3.2 องค์ประกอบของเจลาติน.....	15
2.3.3 การเกิดเป็นฟิล์มของเจลาติน.....	15

บทที่	หน้า
2.3.4 สมบัติของฟิล์มเจลลาติน	15
2.4 พลาสติไซเซอร์.....	16
2.5 แทรนส์กลูตามิเนส	18
3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย.....	22
3.1 วัตถุประสงค์และสารเคมี.....	22
3.1.1 วัตถุประสงค์.....	22
3.1.2 สารเคมี.....	22
3.2 อุปกรณ์.....	23
3.3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย.....	23
3.3.1 ผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลลาตินและการเติมทรานส์กลูตามิเนส จากจุลินทรีย์ต่อสมบัติของฟิล์ม	23
3.3.2 ผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลือง สกัดและเจลลาติน	25
3.3.3 การวิเคราะห์สมบัติของฟิล์ม	25
3.3.3.1 ความหนา	25
3.3.3.2 ปริมาณความชื้น	25
3.3.3.3 สมบัติเชิงกล.....	25
3.3.3.4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ.....	26
3.3.3.5 ความโปร่งแสง.....	26
3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณและรูปแบบของแถบโปรตีน (protein pattern) ของตัวอย่าง ฟิล์ม.....	26
3.3.5 การศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้น (moisture sorption isotherm) ของตัวอย่าง ฟิล์ม.....	27
3.3.6 การศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์ม	27
3.3.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	27
4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	28
4.1 ผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลลาตินและการเติมทรานส์กลูตามิเนสจาก จุลินทรีย์ต่อสมบัติของฟิล์ม	28
4.1.1 ความหนา.....	28
4.1.2 ปริมาณความชื้น	29
4.1.3 ความต้านทานแรงดึงขาด	31
4.1.4 การยืดตัวถึงจุดขาด.....	32
4.1.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ	34

บทที่	หน้า
4.1.6 ความโปร่งแสง	36
4.2 ผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน.....	38
4.2.1 ความหนา.....	38
4.2.2 ปริมาณความชื้น	39
4.2.3 ความต้านทานแรงดึงขาด	41
4.2.4 การยืดตัวถึงจุดขาด.....	41
4.2.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ	43
4.2.6 ความโปร่งแสง	44
4.3 รูปแบบของแถบโปรตีนของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมเทรนส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์	47
4.4 พฤติกรรมการดูดความชื้นของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน	49
4.5 ลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน	50
5 สรุปผลการทดลอง	57
รายการอ้างอิง.....	59
ภาคผนวก.....	69
ภาคผนวก ก. วิธีการวิเคราะห์	70
ภาคผนวก ข. กราฟมาตรฐานและรูปตัวอย่างฟิล์ม	76
ภาคผนวก ค. ข้อมูลการวิเคราะห์.....	83
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	85

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 อันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนที่ทำให้เกิดโครงสร้างที่เสถียรของเจล	5
2.2 กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเจลาติน	16
3.1 ส่วนผสมสำหรับฟิล์มที่แปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาติน	24
4.1 ความหนา (mm) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ.....	39
4.2 ปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนักสด) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ.....	40
4.3 ความต้านทานแรงดึงขาด (MPa) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ.....	42
4.4 การยืดตัวถึงจุดขาด (%) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ.....	43
4.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (g mm/m ² h Pa) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ.....	45
4.6 ค่าแสงส่องผ่าน (%) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ.....	46
ค.1 ความหนา ปริมาณความชื้น และความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเชิงประกอบที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินและความเข้มข้นของทรานส์กลูทามิเนสต่างๆ	83
ค.2 การยืดตัวถึงจุดขาด สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ และค่าแสงส่องผ่านของฟิล์มเชิงประกอบที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินและความเข้มข้นของทรานส์กลูทามิเนสต่างๆ.....	84
ค.3 ข้อมูลพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 °C ของฟิล์มเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 ซึ่งเติมทรานส์กลูทามิเนสจากจุลินทรีย์เข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน และกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน	84

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แผนภูมิการผลิตฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไป.....	4
2.2 ขั้นตอนการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองสกัด.....	13
2.3 กลีเซอรอล.....	17
2.4 ปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยกลูตามีนและไลซีนที่เร่งโดยแทรนส์กลูตามิเนส	19
4.1 ความหนาของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสต่างๆ	29
4.2 ปริมาณความชื้นของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสต่างๆ	30
4.3 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสต่างๆ	32
4.4 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสต่างๆ	33
4.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสต่างๆ	35
4.6 ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสต่างๆ	38
4.7 รูปแบบของแถบโปรตีนของฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 ที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส และฟิล์มเจลาตินที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส	48
4.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 °C ของฟิล์มเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 ซึ่งเติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน และกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน	50
4.9 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25	52
4.10 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75	53
4.11 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25	54

ภาพที่	หน้า
4.12 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75	55
ข.1.1 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry	76
ข.2.1 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ไม่เติมทรานส์กลูตามิเนส	77
ข.2.2 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/ g โปรตีน	77
ข.2.3 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/ g โปรตีน	78
ข.2.4 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ไม่เติมทรานส์กลูตามิเนส และเติมกลีเซอรอล เข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีน	78
ข.2.5 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ไม่เติมทรานส์กลูตามิเนส และเติมกลีเซอรอล เข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน	79
ข.2.6 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ไม่เติมทรานส์กลูตามิเนส และเติมกลีเซอรอล เข้มข้น 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน	79
ข.2.7 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/ g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีน	80
ข.2.8 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/ g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน	80
ข.2.9 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/ g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน	81
ข.2.10 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/ g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีน	81
ข.2.11 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/ g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน	82
ข.2.12 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/ g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน	82

บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบันได้มีความสนใจเพิ่มมากขึ้นเกี่ยวกับฟิล์มย่อยสลายได้ (biodegradable film) ที่ผลิตจากพอลิเมอร์ชีวภาพ เนื่องจากสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่ายจึงเป็นการลดปัญหาด้านมลพิษทางสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามการนำฟิล์มดังกล่าวมาใช้งานยังมีค่อนข้างจำกัด ทั้งนี้เนื่องจากฟิล์มที่ผลิตจากพอลิเมอร์ชีวภาพยังมีสมบัติบางประการที่ด้อยกว่าฟิล์มที่ทำจากวัสดุบรรจุภัณฑ์สังเคราะห์ โพรตีนถั่วเหลืองเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้เป็นวัสดุเติมในการผลิตฟิล์มย่อยสลายได้ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของแก๊ส ไอสารอินทรีย์ และน้ำมันค่อนข้างดี แต่มีข้อจำกัดสำคัญด้านสมบัติเชิงกล การปรับปรุงความแข็งแรงของฟิล์มโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีทางเคมี วิธีทางกายภาพ การใช้เอนไซม์ รวมทั้งการผลิตเป็นฟิล์มเชิงประกอบร่วมกับพอลิเมอร์ชีวภาพชนิดอื่นซึ่งให้ฟิล์มที่มีความแข็งแรงสูงกว่า เช่น เซลลูโลส (Wu *et al.*, 2009) ไคติน (Lu, Weng and Zhang, 2004) และกลูเต็น (Park, Hettiarachchy and Were, 2000) เจลาตินเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพอีกชนิดหนึ่งซึ่งให้ฟิล์มที่มีสมบัติที่ดึกกล่าวคือมีความแข็งแรงและมีความใส ดังนั้นการนำเจลาตินมาใช้ผลิตเป็นฟิล์มเชิงประกอบร่วมกับโปรตีนถั่วเหลือง นอกจากจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงแล้ว ยังอาจช่วยปรับปรุงลักษณะปรากฏของฟิล์มด้วย แทรนส์กลูตามิเนสเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้ปรับปรุงสมบัติต่างๆ ของโปรตีนที่สัมพันธ์กับการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ โดยทรานส์กลูตามิเนสช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยกลูตามีนและไลซีนของโปรตีน จึงสามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงความแข็งแรงของฟิล์มโปรตีนได้ ข้อดีของการใช้เอนไซม์เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มคือไม่มีปัญหาด้านความเป็นพิษ นอกจากความแข็งแรงแล้ว สมบัติที่เป็นที่ต้องการของฟิล์มอีกประการหนึ่งคือความยืดหยุ่น ในการผลิตฟิล์มโปรตีนมักมีการเติมพลาสติกไซเซอร์เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ฟิล์ม ซึ่งความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์นอกจากจะมีผลต่อความยืดหยุ่นแล้วยังอาจมีผลต่อสมบัติอื่นของฟิล์มโปรตีนด้วย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาติน การเติมทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ และความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์ (กลีเซอรอล) ต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 फिल्मย่อยสลายได้

ฟิล์มย่อยสลายได้ หมายถึง วัสดุแผ่นบางที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ โดยขึ้นรูปให้เป็นแผ่นฟิล์มก่อนแล้วจึงนำมาห่อหุ้มผลิตภัณฑ์ มีวัตถุประสงค์ในการใช้เพื่อป้องกันหรือชะลอการผ่านเข้าออกของแก๊ส ไอน้ำ สารระเหย สารละลาย จุลินทรีย์ หรือสารอื่นๆ อันเป็นผลให้ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (Gennadios and Weller, 1990)

2.1.1 พอลิเมอร์ชีวภาพที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฟิล์มย่อยสลายได้

ฟิล์มย่อยสลายได้ผลิตจากพอลิเมอร์ชีวภาพชนิดต่างๆ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทหลัก ได้แก่ พอลิแซ็กคาไรด์ ลิพิด และโปรตีน

พอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดสามารถนำมาใช้ผลิตเป็นฟิล์ม ได้แก่ แอลจินेट เพกติน คาร์ราจีแนน สตาร์ช สตาร์ชดัดแปร กัม เซลลูโลสดัดแปร และไคโตซาน (Conca and Yang, 1993; Nisperos-Carriedo, 1994; Krochta and De Mulder-Johnston, 1997) ฟิล์มประเภทนี้มีข้อจำกัดสำคัญในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ เนื่องจากสมบัติชอบน้ำ (hydrophilicity) ของพอลิแซ็กคาไรด์ อย่างไรก็ตามฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดที่สามารถเกิดเป็นเจลสามารถชะลอการสูญเสียความชื้นของอาหารได้ในช่วงอายุการเก็บรักษานั้นๆ นอกจากนี้ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดมีสมบัติในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันของลิพิดและองค์ประกอบอื่นๆ (Kester and Fennema, 1986)

ลิพิดมักใช้ในรูปแบบของสารเคลือบ (coating) มากกว่านำมาผลิตเป็นฟิล์ม โดยมีสมบัติที่โดดเด่นในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ เนื่องจากสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ของลิพิด นอกจากนี้ยังมีการใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่น เช่น การลดการเสียดสีของผิวผลไม้ระหว่างการขนส่งและการป้องกันการเกิดสีน้ำตาล ลิพิดที่นิยมนำมาใช้เป็นสารเคลือบ ได้แก่ ไชผึ้งและไฮคาร์บอน นอกจากนี้ยังอาจใช้ลิพิดในการผลิตเป็นฟิล์มเชิงประกอบร่วมกับพอลิแซ็กคาไรด์หรือโปรตีนเพื่อช่วยปรับปรุงสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ

การผลิตฟิล์มจากโปรตีนได้รับความสนใจมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากฟิล์มโปรตีนสามารถป้องกันการซึมผ่านของแก๊สและไฮสสารอินทรีย์ได้ค่อนข้างดี นอกจากนี้ยังให้คุณค่า

ทางอาหารในกรณีของฟิล์มบริโภคได้ (มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด, 2535) โปรตีนที่มีการนำมาผลิตเป็นฟิล์ม ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนข้าวโพด (ซีน) โปรตีนข้าวสาลี (กลูเตน) โปรตีนไข่ขาว โปรตีนถั่วลิสง เจลาติน คอลลาเจน และโปรตีนนมทั้งเวย์โปรตีนและเคซีน (Krochta and De Mulder-Johnston, 1997) อย่างไรก็ตามเนื่องจากโปรตีนมีหมู่เคมีที่มีสมบัติชอบน้ำอยู่มาก ฟิล์มโปรตีนจึงมีข้อจำกัดสำคัญในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำเช่นเดียวกับฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์

ฟิล์มย่อยสลายได้อาจผลิตจากพอลิเมอร์ชนิดเดียวหรือหลายชนิด ฟิล์มที่ประกอบด้วยพอลิเมอร์เพียงชนิดเดียวเรียกว่าฟิล์มเชิงเดี่ยว ส่วนฟิล์มเชิงประกอบคือฟิล์มที่ประกอบด้วยพอลิเมอร์ตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป ฟิล์มเชิงประกอบอาจอยู่ในรูปของฟิล์มอิมัลชัน (emulsion film) หรือฟิล์มสองชั้น (bilayer film) ก็ได้ (McHugh, 1996)

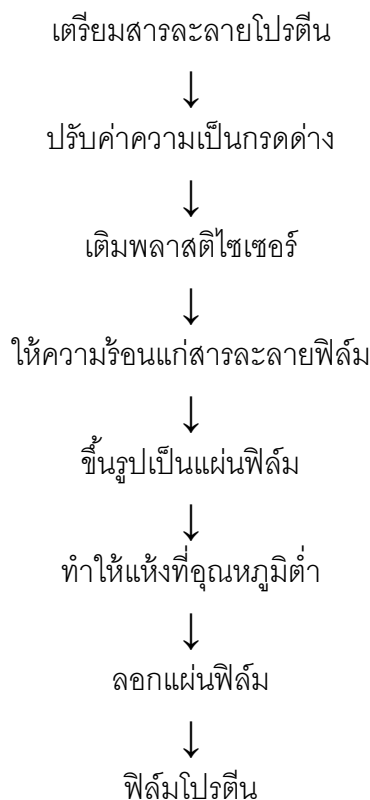
2.1.2 การเกิดเป็นฟิล์ม

องค์ประกอบหลักของฟิล์มย่อยสลายได้ คือ พอลิเมอร์ชีวภาพที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งมีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์ม ตัวทำละลาย และวัตถุเจือปน (additive) ที่เติมลงไปเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม (Kester and Fennema, 1986) ในการเกิดเป็นฟิล์มมีอันตรกิริยาที่เกี่ยวข้อง 2 ชนิด ได้แก่ แรงโคฮีชัน (cohesion) และแรงแอดฮีชัน (adhesion) แรงโคฮีชันเป็นอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ด้วยกันเองทำให้เกิดการยึดเหนี่ยวกันของโมเลกุลพอลิเมอร์และช่วยป้องกันหรือต้านทานการแยกจากกัน ปัจจัยที่มีผลต่อแรงโคฮีชัน ได้แก่ โครงสร้างและสมบัติทางเคมีของพอลิเมอร์ ระบบของสารละลาย และภาวะในการเตรียมฟิล์ม โดยแรงโคฮีชันมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุล ความสม่ำเสมอของโครงสร้างของโมเลกุลพอลิเมอร์ โครงสร้างที่เป็นกิ่งก้าน และการกระจายของหมู่ที่มีขั้วบนโมเลกุลพอลิเมอร์ ระดับของแรงโคฮีชันมีผลต่อสมบัติต่างๆ ของฟิล์ม ได้แก่ ความแน่น (compactness) ความเป็นรูพรุน (porosity) สภาพให้ซึมผ่านได้ (permeability) ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (flexibility) และความเปราะ (brittleness) ส่วนแรงแอดฮีชันเป็นอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์กับสารอื่นที่ใช้ในการเตรียมฟิล์ม เช่น อันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์กับพลาสติกไซเซออร์ (Banker, 1966; Oakenfull, Pearce and Burley, 1997)

2.1.3 การผลิตฟิล์มโปรตีน

การผลิตฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไปเริ่มจากการเตรียมสารละลายโปรตีน ซึ่งต้องปรับค่าความเป็นกรดต่างให้เหมาะสมต่อการละลายของโปรตีนแต่ละชนิด ในการเตรียมฟิล์มโปรตีน

มักมีการเติมพลาสติกไซเซออร์ เช่น กลีเซอรอลหรือซอร์บิทอล เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ฟิล์ม จากนั้นจึงนำสารละลายฟิล์มไปให้ความร้อนเพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน โดยโมเลกุลโปรตีนจะเกิดการคลายตัวและหมู่เคมีที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำที่อยู่ด้านในของโครงสร้างโปรตีนจะปรากฏขึ้นที่ผิวด้านนอก ซึ่งหมู่เคมีที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำดังกล่าวจะเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันได้ในกระบวนการเกิดเป็นฟิล์ม เมื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มแล้วจึงระเหยตัวทำละลายออกบางส่วน ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มโปรตีนแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แผนภูมิการผลิตฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไป

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kester และ Fennema (1986) และ Gennadios และ Weller (1990)

การผลิตฟิล์มโปรตีนอาศัยหลักการเกิดเจลของโปรตีนและการระเหยตัวทำละลายออกจนได้โครงร่างตาข่ายของโปรตีน (Greener-Donhowe and Fennema, 1994) โปรตีนจะเกิดเป็นเจลเมื่อโมเลกุลโปรตีนเกิดการรวมตัวกันเนื่องจากปัจจัยบางอย่าง (Oakenfull *et al.*, 1997) ซึ่งปัจจัยที่สำคัญคือการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วนของโปรตีน โดยจะมีการปรากฏขึ้นของหมู่เคมีที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ ซึ่งหมู่เคมีเหล่านี้สามารถเกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างกันได้ด้วยผลของอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกและอันตรกิริยาทางเคมีอื่นๆ ที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายของโปรตีน การเกิดเจลของโปรตีนจะเกิดขึ้นในช่วงระหว่างการละลายและการตกตะกอน

ของโปรตีนซึ่งเป็นช่วงแคบๆ เท่านั้น หากโปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติในระดับที่น้อยเกินไป จะไม่สามารถเกิดเป็นโครงสร้างของเจลได้ แต่หากโปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติในระดับที่มากเกินไปจะทำให้เกิดการรวมตัวกันตกตะกอนของโปรตีน

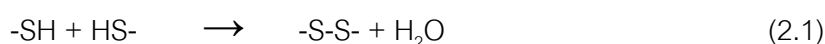
เสถียรภาพของโครงสร้างเจลของโปรตีนขึ้นกับอันตรกิริยาทางเคมีโดยรวมที่เกิดขึ้นในโครงสร้าง ซึ่งอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลโปรตีนมี 2 ประเภทหลัก ได้แก่ พันธะโควาเลนต์และอันตรกิริยาอื่นที่เป็นนอนโควาเลนต์ ตารางที่ 2.1 แสดงอันตรกิริยาชนิดต่างๆ ที่สามารถเกิดขึ้นได้ในโครงสร้างเจลของโปรตีน

ตารางที่ 2.1 อันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนที่ทำให้เกิดโครงสร้างที่เสถียรของเจล (ที่มา: Oakenfull *et al.*, 1997)

ชนิดของอันตรกิริยา	ตัวอย่าง
อันตรกิริยาที่เป็นนอนโควาเลนต์	
Hydrogen bonds	-H-O-H-, -H-N-H-
Hydrophobic interactions	-CH ₃ -CH ₃ -
Electrostatic-salt links	-COO ⁻ - ⁺ N ₃ H-
Electrostatic-metal ion bridges	-COO ⁻ -Ca ²⁺ -OOC-
พันธะโควาเลนต์	
Disulfide bonds	-S-S-
Gamma glutamyl bonds	-CH ₂ -CH ₂ -CO-NH-CH ₂ -CH ₂ -

พันธะไฮโดรเจนและอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกเป็นอันตรกิริยาที่เกิดจากการใช้อิเล็กตรอนร่วมกันของหมู่เคมีที่เกิดอันตรกิริยา โดยเฉพาะหมู่ไฮดรอกซิลจะสามารถใช้อิเล็กตรอนร่วมกับหมู่เคมีข้างเคียงที่มีอิเล็กตรอนอิสระได้ อันตรกิริยาทั้งสองชนิดนี้มีค่าพลังงานพันธะไม่สูง สามารถแตกออกได้ง่าย

พันธะโควาเลนต์ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายของโปรตีนหลายชนิด คือ พันธะไดซัลไฟด์ระหว่างหน่วยย่อยซิสเตอีน โดยเป็นการเกิดออกซิเดชันของหมู่ซัลไฟด์ไรด (สมการที่ 2.1) พันธะไดซัลไฟด์มีความแข็งแรงสูง แต่สามารถถูกทำลายได้โดยสารรีดิวซ์บางชนิด (Oakenfull *et al.*, 1997)



2.1.4 ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติของฟิล์ม

2.1.4.1 โครงสร้างของพอลิเมอร์

พอลิเมอร์ส่วนใหญ่มีลักษณะกิ่งผลึกกิ่งอสัณฐาน กล่าวคือมีทั้งส่วนที่เป็นผลึกและส่วนที่เป็นอสัณฐานอยู่ในโมเลกุลพอลิเมอร์ โครงร่างตาข่ายของพอลิเมอร์ที่มีความเป็นผลึกสูงจะมีความแข็งแรงสูงกว่า แต่มีความยืดหยุ่นต่ำกว่าโครงร่างตาข่ายของพอลิเมอร์ที่มีความเป็นผลึกต่ำ นอกจากนี้ความแข็งแรงของโครงร่างตาข่ายมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อความยาวของโมเลกุลพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น (Banker, 1966)

2.1.4.2 ชนิดของตัวทำละลาย

พอลิเมอร์แต่ละชนิดละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วใกล้เคียงกัน การละลายของพอลิเมอร์ในตัวทำละลายสามารถสังเกตได้จากการที่พอลิเมอร์ดูดซับตัวทำละลายเข้าเป็นส่วนหนึ่งและทำให้เกิดการพองตัว

2.1.4.3 ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ในสารละลาย

การที่จะเกิดโครงร่างตาข่ายที่แข็งแรงได้จำเป็นต้องมีการเคลื่อนไหวที่เพียงพอของสายโซ่พอลิเมอร์ในตัวทำละลาย ถึงแม้ว่าความเข้มข้นที่ต่ำจะมีผลทำให้สายโซ่พอลิเมอร์สามารถเคลื่อนไหวได้มาก ซึ่งทำให้เกิดการพันกันและเกิดอันตรกิริยาระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ได้ก็ตาม แต่ก็เกิดการแยกตัวของโครงร่างตาข่ายบางส่วนที่เกิดขึ้นก่อนและตกตะกอนไป จึงทำให้ได้โครงร่างตาข่ายที่ไม่แข็งแรง ส่วนสารละลายพอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้นสูงจะมีการเคลื่อนไหวของสายโซ่พอลิเมอร์ได้น้อย การพันกันและการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์จึงเกิดขึ้นได้น้อย โครงร่างตาข่ายที่ได้ก็จะไม่แข็งแรงเช่นกัน (Banker, 1966)

2.1.4.4 อุณหภูมิที่ใช้เพื่อระเหยตัวทำละลาย

ในการให้ความร้อนแก่สารละลายพอลิเมอร์เพื่อระเหยตัวทำละลาย โมเลกุลจะเกิดการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน หลังจากนั้นเมื่อทำให้สารละลายพอลิเมอร์เย็นลง โมเลกุลจะเคลื่อนที่ช้าลงและเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ การให้ความร้อนมีผลต่อการเกิดโครงร่างตาข่ายกล่าวคือ การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงมากจนเกิดการระเหยของตัวทำละลายอย่างรวดเร็วจะส่งผลให้สารละลายพอลิเมอร์มีความเข้มข้นสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โมเลกุลพอลิเมอร์จะถูกจำกัดการเคลื่อนที่ก่อนที่จะเกิดอันตรกิริยาระหว่างกัน ดังนั้นโครงร่างตาข่ายที่ได้จึงไม่แข็งแรง ในทางตรงกันข้ามการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำเพื่อระเหยตัวทำละลายอย่างช้าๆ

จะทำให้สารละลายพอลิเมอร์ที่ได้มีความเข้มข้นต่ำมาก ซึ่งมีผลให้โมเลกุลพอลิเมอร์บางส่วนรวมตัวกันตกตะกอนอย่างช้าๆ แยกออกจากส่วนที่ตกตะกอนเร็วกว่าและเกิดโครงร่างตาข่ายไปก่อนแล้ว จึงได้โครงร่างตาข่ายที่ไม่แข็งแรง (Banker, 1966)

2.1.5 การปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน

ฟิล์มโปรตีนมีข้อจำกัดสำคัญในด้านสมบัติเชิงกลและการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำซึ่งจำกัดการนำไปใช้ประโยชน์ จึงมีความพยายามในการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนโดยวิธีต่างๆ ดังนี้

2.1.5.1 วิธีทางเคมี

สารเคมีที่นิยมนำมาใช้ในการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ แอลดีไฮด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น ฟอรัมาลดีไฮด์ เนื่องจากแอลดีไฮด์สามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนปฐมภูมิและหมู่ซัลฟ์ไฮดริล เกิดเป็นพันธะเชื่อมข้ามภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุลของโปรตีน (Feeney, Blankenhorn and Dixon, 1975) อย่างไรก็ตามการใช้แอลดีไฮด์เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนอาจมีข้อจำกัดในด้านความเป็นพิษ (Galletta *et al.*, 1998)

Hernández-Muñoz, Villalobos และ Chiralt (2004a) ศึกษาผลของการใช้แอลดีไฮด์ต่อสมบัติของฟิล์มกลูเตนิน ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยเตรียมสารละลายฟิล์มเข้มข้น 7.5% โดยน้ำหนัก และใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์โดยเติมในปริมาณ 33% โดยน้ำหนัก แอลดีไฮด์ที่ศึกษามี 3 ชนิด ได้แก่ ฟอรัมาลดีไฮด์ กลูทาราลดีไฮด์ และไกลออกซัล (glyoxal) แปรความเข้มข้นของแอลดีไฮด์เป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 4 และ 8% โดยน้ำหนักของโปรตีน พบว่าฟิล์มที่เติมแอลดีไฮด์มีความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength, TS) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมแอลดีไฮด์ ฟิล์มที่เติมฟอรัมาลดีไฮด์มีค่า TS สูงกว่าฟิล์มที่เติมกลูทาราลดีไฮด์และไกลออกซัลตามลำดับ ฟิล์มที่เติมกลูทาราลดีไฮด์และฟิล์มที่เติมไกลออกซัลมีค่า TS เพิ่มขึ้น 63 และ 34% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่ได้เติมแอลดีไฮด์ ในขณะที่ฟิล์มที่เติมฟอรัมาลดีไฮด์เข้มข้น 2% มี TS สูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 13.8 MPa สำหรับการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break, EB) และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำโมเลกุลของฟิล์มที่เติมแอลดีไฮด์พบว่ามีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่ได้เติมแอลดีไฮด์ โดยฟิล์มที่เติมฟอรัมาลดีไฮด์ กลูทาราลดีไฮด์ และไกลออกซัลมีค่า EB ลดลง 62, 42 และ 21% ในขณะที่สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มที่เติมแอลดีไฮด์ทั้งสามชนิดมีค่าเท่ากับ 3.0×10^{11} , 2.8×10^{11} และ 3.0×10^{11} g m/m² s Pa ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่ได้เติมแอลดีไฮด์ (4.3×10^{11} g m/m² s Pa)

Kim, Sessa และ Lawton (2004) ปรับปรุงฟิล์มขึ้นโดยใช้ 1,3-dimethylaminopropyl-3-ethyl-carbodiimide hydrochloride (EDC) เป็นสารเชื่อมข้าม โดยเตรียมสารละลายฟิล์มในเอทานอลเข้มข้น 10% โดยน้ำหนัก เติม EDC เข้มข้น 60 mg/g ขึ้นพบว่าฟิล์มที่เติม EDC มีค่า TS และ EB สูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติม EDC โดยฟิล์มที่เติมและไม่เติม EDC มีค่า TS เท่ากับ 43 และ 33 MPa ตามลำดับ ในขณะที่ EB มีค่าเท่ากับ 3.60 และ 2.23% ตามลำดับ

2.1.5.2 วิธีทางกายภาพ

การใช้รังสีเป็นวิธีทางกายภาพวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนได้ โดยกรดอะมิโนที่มีหมู่สายข้างอะโรมาติก เช่น ไทโรซีนและเฟนิลอะลานีน สามารถดูดกลืนรังสีซึ่งสามารถเร่งให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามของโมเลกุลโปรตีน (Fujimori, 1965) นอกจากนี้การใช้ความร้อนยังเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน

Quattara และคณะ (2002) ใช้รังสีแกมมาเพื่อทำให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามในฟิล์มโปรตีนนม เตรียมฟิล์มโดยแปรอัตราส่วนของแคลเซียมเคซีนเนต (CAS) ต่อเวย์โปรตีนสกัด (whey protein isolate, WPI) หรือเวย์โปรตีนเข้มข้น (whey protein concentrate, WPC) เป็น 5 อัตราส่วน ได้แก่ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 นำฟิล์มที่ได้ไปฉายรังสีแกมมาที่มีปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 32 kGy พบว่าเมื่อฉายรังสีแกมมาสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำที่ความชื้นสัมพัทธ์ 100% ของฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของ CAS:WPI เท่ากับ 100:0 และ 25:75 และฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของ CAS:WPC เท่ากับ 100:0 และ 0:100 มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของ CAS:WPI เท่ากับ 25:75 และฉายรังสีแกมมาสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุด (1.38 g mm/m² day mmHg) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่ฉายรังสี (2.07 g mm/m² day mmHg)

Hernández-Muñoz, Villalobos และ Chiralt (2004b) ศึกษาผลของการใช้ความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มกลูเตนิน ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยเตรียมสารละลายฟิล์มเข้มข้น 7.5% โดยน้ำหนัก และใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์โดยเติมในปริมาณ 33% โดยน้ำหนัก ให้ความร้อนโดยแปรอุณหภูมิเป็น 6 ระดับ คือ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า TS ของฟิล์มเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น โดยฟิล์มที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 70 และ 85 °C มีค่า TS เท่ากับ 0.6, 5.9, 13.8 และ 15.8 MPa ตามลำดับ ในขณะที่ EB ของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น โดยฟิล์มที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 55, 70 และ 85

°C มีค่า EB เท่ากับ 370, 260, 20 และ 19% ตามลำดับ สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจนถึง 55 °C

Soliman และ Furuta (2009) ศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาต่อสมบัติของฟิล์มขึ้น เติร์มฟิล์มเข้มข้น 14% โดยน้ำหนักในเอทานอล ใช้พอลิเอทิลีนไกลคอลเป็นพลาสติกไซเซอร์โดยเติมในปริมาณ 18.5% โดยน้ำหนัก แปรปริมาณรังสีดูดกลืนของรังสีแกมมาเป็น 5 ระดับ คือ 0, 10, 20, 30 และ 40 kGy พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีดูดกลืน TS ของฟิล์มมีแนวโน้มลดลง โดยฟิล์มมีค่า TS เท่ากับ 11.22, 7.73, 8.86, 6.32 และ 5.60 MPa ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม EB ของฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเท่ากับ 3.1, 3.6, 2.5, 3.2 และ 3.1% ตามลำดับ ในขณะที่สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มมีค่าลดลง ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มขึ้น

2.1.5.3 การใช้เอนไซม์

การใช้เอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม ข้อดีของการใช้เอนไซม์คือมีความจำเพาะเจาะจงกับปฏิกิริยาและสับสเตรท นอกจากนี้ยังมีความปลอดภัยเมื่อเทียบกับการใช้สารเคมี เอนไซม์ที่มีการนำมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ แทรนส์กลูตามิเนส และเพอร์ออกซิเดส

Stuchell และ Krochta (1994) ศึกษาการใช้เพอร์ออกซิเดสปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด และรายงานว่าการใช้เพอร์ออกซิเดสไม่มีผลสำคัญต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด อย่างไรก็ตามฟิล์มที่เติมเพอร์ออกซิเดสมี TS เพิ่มขึ้นในขณะที่มี EB ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ โดยผู้วิจัยรายงานว่า การใช้เอนไซม์นอกจากจะทำให้เกิดการเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนแล้วยังทำให้เกิดดีเกรเดชันของโปรตีนด้วย

Mariniello และคณะ (2003) ศึกษาผลของทรานส์กลูตามิเนสต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากเพกตินและแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน (defatted soy flour) พบว่าฟิล์มเชิงประกอบที่เติมทรานส์กลูตามิเนสมี TS สูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ โดยฟิล์มทั้งสองตัวอย่างมีค่า TS เท่ากับ 12.4 และ 6.8 MPa ตามลำดับ ในขณะที่ EB ของฟิล์มเชิงประกอบที่เติมทรานส์กลูตามิเนสมีค่าต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ โดยฟิล์มทั้งสองตัวอย่างมีค่า EB เท่ากับ 7.2 และ 11.6% ตามลำดับ

Tang และ Jiang (2007) ศึกษาผลของแทรนส์กลูทามิเนสต่อสมบัติของฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนต่างๆ ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลืองสกัด โซเดียมเคซีนเนต เวย์โปรตีนเข้มข้น เจลาติน กลูเต็น และโปรตีนถั่วลิสงสกัด เตรียมสารละลายฟิล์มเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักและเติมแทรนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน พบว่า TS และ EB ของฟิล์มโปรตีนที่เติมแทรนส์กลูทามิเนสมีค่าสูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

อย่างไรก็ตามมีบางงานวิจัยรายงานว่าการใช้เอนไซม์ไม่ช่วยปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน เช่น Carvalho และ Grosso (2004) รายงานว่าฟิล์มเจลาตินที่เติมแทรนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 10 หน่วย/g โปรตีน มีค่า TS ไม่แตกต่างจากฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมและไม่เติมแทรนส์กลูทามิเนสมีค่า TS เท่ากับ 14.63 และ 15.12 MPa ตามลำดับ ในขณะที่ฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูทามิเนสมีค่า EB ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมและไม่เติมแทรนส์กลูทามิเนสมีค่า EB เท่ากับ 33.21 และ 39.24% ตามลำดับ

ในทำนองเดียวกัน Bae และคณะ (2009) รายงานว่าแทรนส์กลูทามิเนสไม่ช่วยปรับปรุงสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากเจลาตินปลาและนาโนเคลย์ โดยในงานวิจัยนี้เติมแทรนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก บ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 60 °C โดยแปรเวลาเป็น 4 ระดับ ได้แก่ 0, 10, 30 และ 50 นาที พบว่าฟิล์มเชิงประกอบที่ได้มี TS ลดลงเมื่อระยะเวลาในการบ่มเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มที่ไม่บ่ม (0 นาที) มีค่า TS เท่ากับ 61.30 MPa ในขณะที่ฟิล์มที่บ่มเป็นเวลา 30 นาทีมีค่า TS เท่ากับ 57.36 MPa อย่างไรก็ตามระยะเวลาการบ่มสารละลายฟิล์มไม่มีผลต่อค่า EB ของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยฟิล์มที่ไม่บ่ม (0 นาที) และฟิล์มที่บ่มเป็นเวลา 30 นาทีมีค่า EB เท่ากับ 13.94 และ 15.78% ตามลำดับ

2.1.5.4 การผลิตเป็นฟิล์มเชิงประกอบ

การผลิตเป็นฟิล์มเชิงประกอบเป็นการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโดยอาศัยสมบัติที่เป็นที่ต้องการของพอลิเมอร์แต่ละชนิด เนื่องจากพอลิเมอร์แต่ละชนิดให้ฟิล์มที่มีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันไป ฟิล์มเชิงประกอบอาจเป็นฟิล์มที่มีส่วนผสมของโปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ หรือไขมัน ตัวอย่างเช่นการใช้ไขมันร่วมกับโปรตีนหรือพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อปรับปรุงสมบัติในการป้องกันความชื้นผ่านของไอน้ำ ในขณะที่โปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ช่วยให้ความแข็งแรงและปรับปรุงโครงสร้างของฟิล์มให้มีความแน่นมากขึ้น โปรตีนต่างชนิดก็มีการนำมาใช้ร่วมกันในฟิล์มเชิงประกอบ ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่มีการนำมาใช้ร่วมกับโปรตีนถั่วเหลืองเพื่อผลิตเป็นฟิล์ม ได้แก่ สตาร์ช เวย์โปรตีน และโซเดียมแอลจีเนต (Rhim *et al.*, 1999; Sabato *et al.*, 2001; Tang

et al., 2003) พิล์มเชิงประกอบอาจอยู่ในรูปของฟิล์มอิมัลชันหรือฟิล์มสองชั้นก็ได้ (McHugh, 1996)

Chittrakorn (1997) ผลิตฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนข้าวเข้มน้ำและสตาร์ชข้าวคัดแปร พบว่าฟิล์มเชิงประกอบมีสภาพให้ซึ้มน้ำได้ของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มเชิงเดี่ยวที่ผลิตจากจากสตาร์ชข้าวคัดแปร นอกจากนี้ฟิล์มเชิงประกอบมีค่า TS ที่ต่ำกว่าแต่มีค่า EB ที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มเชิงเดี่ยวจากสตาร์ชข้าวคัดแปร

Rhim และคณะ (1999) ศึกษาสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและโพรพิลีนไกลคอลแอลจีเนต พบว่า TS ของฟิล์มเชิงประกอบเพิ่มสูงขึ้นเมื่อปริมาณโพรพิลีนไกลคอลแอลจีเนตสูงกว่า 17.5% ในขณะที่ EB ของฟิล์มเชิงประกอบมีค่าลดลงเมื่อปริมาณโพรพิลีนไกลคอลแอลจีเนตเพิ่มสูงขึ้น ส่วนสภาพให้ซึ้มน้ำมีค่าลดลงเมื่อปริมาณโพรพิลีนไกลคอลแอลจีเนตสูงกว่า 10%

Lee, Shim และ Lee (2004) ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างเจลาตินและเจลาตินที่มีต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบ แปรอัตราส่วนเจลาตินและเจลาตินเป็น 100:0, 80:20, 60:40, 60:40 และ 20:80 พบว่า TS ของฟิล์มเชิงประกอบมีค่าลดลงในขณะที่ EB มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น

Cao, Fu and He (2007) ศึกษาสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน เตรียมสารละลายฟิล์มเข้มน้ำ 10% โดยน้ำหนักและแปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเป็น 6 อัตราส่วน คือ 10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8 และ 0:10 พบว่าเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้นฟิล์มเชิงประกอบมี TS และ EB เพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่นฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเป็น 8:2 และ 2:8 มีค่า TS เท่ากับ 22.55 และ 44.60 MPa ตามลำดับ ในขณะที่ EB ของฟิล์มทั้งสองตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 2.64 และ 3.32% ตามลำดับ

Bourtoom และ Chinnan (2008) ศึกษาผลของอัตราส่วนของสตาร์ชข้าวต่อโคโคโตซานที่มีต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบ โดยแปรอัตราส่วนของสตาร์ชข้าวต่อโคโคโตซานเป็น 4 อัตราส่วน คือ 2:1, 1.5:1, 1:1 และ 0.5:1 พบว่าเมื่ออัตราส่วนของโคโคโตซานเพิ่มสูงขึ้นตัวอย่างฟิล์มมี TS และสภาพให้ซึ้มน้ำได้ของไอน้ำเพิ่มขึ้น ในขณะที่มี EB ลดลง โดยฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของสตาร์ชข้าวต่อโคโคโตซานเท่ากับ 2:1 และ 0.5:1 มีค่า TS เท่ากับ 27.5 และ 38.1 MPa

ในขณะที่ EB เท่ากับ 13.0 และ 8.1% และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเท่ากับ 4.11 และ 7.80 g mm/m² day kPa ตามลำดับ

Ferreira และคณะ (2009) ศึกษาสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจาก ไคโตซานและเวย์โปรตีน แปรอัตราส่วนของไคโตซานและเวย์โปรตีนเป็น 6:0, 6:1, 6:2, 6:3, 6:6, 3:6 และ 2:6 โดยน้ำหนัก พบว่าเมื่ออัตราส่วนของไคโตซานเพิ่มขึ้น TS และ EB ของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มที่มีอัตราส่วนของไคโตซานต่อเวย์โปรตีนต่างๆ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

2.2 โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SOY PROTEIN ISOLATE)

โปรตีนถั่วเหลืองสกัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกหมดแล้วและผ่านกระบวนการแยกโปรตีนออกจากส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรตทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ จนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนถึง 90% มีสีและกลิ่นเฉพาะตัว ไม่มีกลิ่นถั่ว (beany flavor) มีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วนเช่นเดียวกับโปรตีนจากเนื้อสัตว์หรือไข่ มีปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตต่ำ (United Soybean Board, 2004)

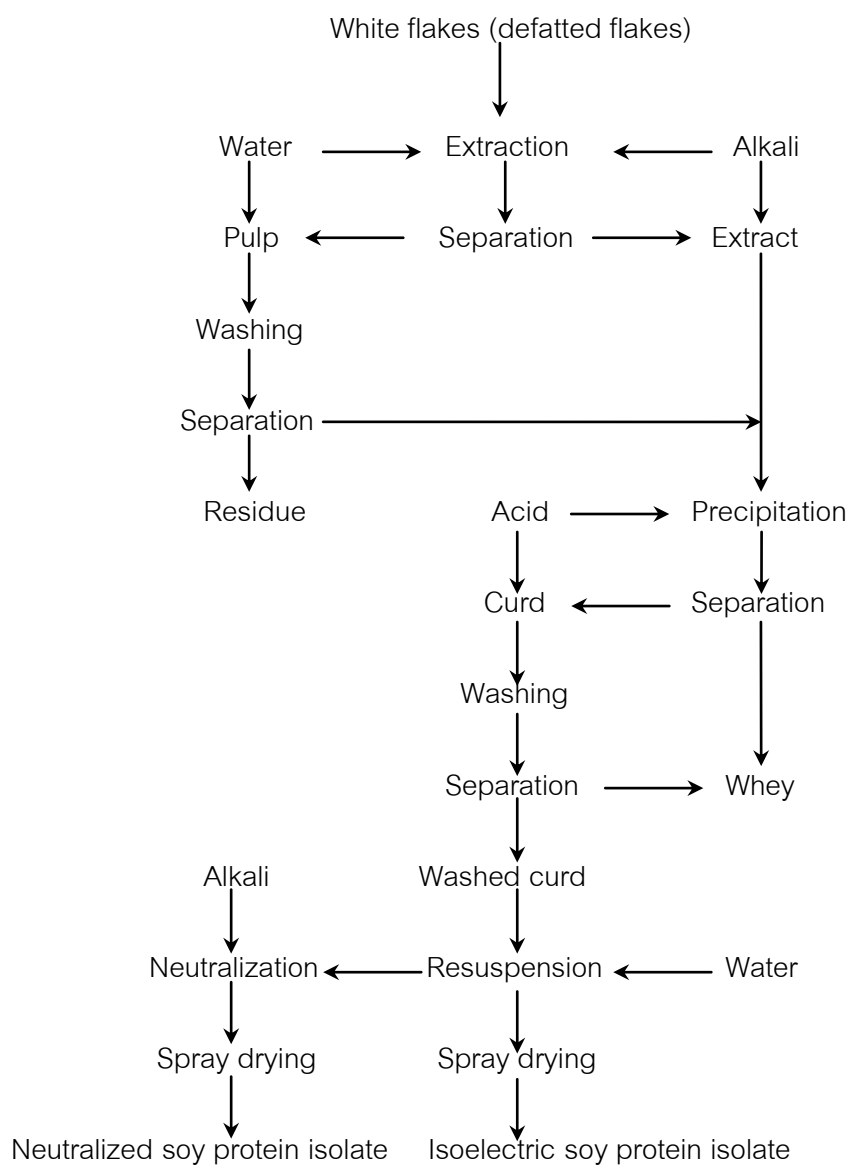
2.2.1 การผลิตโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

โปรตีนถั่วเหลืองสกัดได้จากการนำแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมันหรือกากถั่วเหลืองจากการสกัดน้ำมันมาละลายน้ำ แล้วปรับให้มีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง 8.0-8.5 โดยใช้สารละลายต่างเจือจาง จากนั้นให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิประมาณ 50-55 °C แยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำซึ่งได้แก่ พอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนบางส่วนออก นำส่วนสารละลายมาปรับค่าความเป็นกรดต่างให้อยู่ในช่วงไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนถั่วเหลือง (ค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 4.5) ซึ่งทำให้โปรตีนส่วนใหญ่ตกตะกอน จากนั้นจึงกรองตะกอนออกแล้วล้างด้วยน้ำ หากนำตะกอนที่ได้ไปอบแห้งทันทีจะได้ isoelectric soy protein isolate แต่หากนำมาปรับสภาพให้เป็นกลางก่อนอบแห้งจะได้ neutralized soy protein isolate ซึ่งละลายน้ำได้ดีกว่าจึงสะดวกต่อการนำไปใช้ในอาหาร (Wolf, 1997) แผนภูมิการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแสดงดังรูปที่ 2.2

2.2.2 องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง

โปรตีนถั่วเหลืองประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด คือ เบต้า-คอนโกลูซินิน และโกลูซินิน หรือโกลบูลินชนิด 7S และ 11S ตามลำดับ เบต้า-คอนโกลูซินินสามารถทนความร้อนได้น้อยกว่าโกลูซินิน โดยจะเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิประมาณ 70 °C ส่วนโกลูซินินจะ

เสียดสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิประมาณ 80 °C เมื่ออยู่ในภาวะที่เป็นกลางและไม่มีเกลือ (Hermansson, 1978; Utsumi, Matsumura and Mori, 1997)



รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

ที่มา: Berk (1992)

2.2.3 การเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง

การเตรียมฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดทำได้โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 °C ในภาวะที่เป็นด่าง เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียดสภาพธรรมชาติบางส่วน เป็นผลให้สายพอลิเพปไทด์เกิดการคลายตัว หมู่ซัลไฟไฮไดรลและหมู่เคมีที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำซึ่งอยู่ด้านในของโมเลกุลโปรตีนปรากฏขึ้นที่ด้านนอก (Kelley and Pressey, 1966) เมื่อตัวทำละลายที่ใช้ในการ

เตรียมฟิล์มระเหยไประหว่างการทำให้ฟิล์มแห้ง สายพอลิเอทิลีนที่เคลือบด้วยฟิล์มจะเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กัน และเกิดการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (Park *et al.*, 2002) Okamoto (1978) สรุปว่าอุณหภูมิที่สูงกว่า 60 °C และภาวะที่เป็นต่าง (ค่าความเป็นกรดต่างในช่วง 6.1-10.2) เป็นภาวะที่จำเป็นต่อการเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนถั่วเหลือง จะไม่สามารถเกิดเป็นฟิล์มได้ที่ค่าความเป็นกรดต่างสูงกว่า 10.5 เนื่องจากโปรตีนมีประจุเป็นลบ ทำให้เกิดการผลักกันของโมเลกุล

Gennadios และคณะ (1993) ศึกษาการเกิดเป็นฟิล์มของสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งมีกลีเซอรอล 3% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเป็นพลาสติกไซเซออร์ พบว่าค่าความเป็นกรดต่างในช่วง 8-10 ให้ฟิล์มที่มี TS สูง และเมื่อค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายเข้าใกล้จุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนถั่วเหลือง (ค่าความเป็นกรดต่างในช่วง 4-6) โปรตีนจะรวมตัวกันตกตะกอนและไม่สามารถเกิดเป็นฟิล์มได้

2.2.4 สมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

ข้อจำกัดสำคัญประการหนึ่งของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองคือความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำซึ่งมีสาเหตุจากสมบัติความชอบน้ำของโปรตีน นอกจากนี้ในการผลิตฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองยังมักมีการเติมพลาสติกไซเซออร์ที่มีสมบัติชอบน้ำเพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ฟิล์ม (Rhim *et al.*, 2000) Gennadios และคณะ (1993) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำสูงกว่าฟิล์มพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (low-density polyethylene film) ถึง 4 เท่า อย่างไรก็ตามฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนอยู่ในเกณฑ์ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (Gennadios, Weller and Testin, 1993; Ghorpade *et al.*, 1995) ทั้งนี้สมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนที่ค่อนข้างดีเป็นลักษณะของฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไป (Krochta and De Mulder-Johnston, 1997; Miller and Krochta, 1997) สำหรับสมบัติเชิงกล ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีความแข็งแรงเชิงกลอยู่ในระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มพลาสติกโดยทั่วไป (เช่น พอลิเอทิลีนพอลิโพรพิลีน และพอลิไวนิลิดีนคลอไรด์) (Gennadios *et al.*, 1994; Krochta and De Mulder-Johnston, 1997)

2.3 เจลาติน

2.3.1 การผลิตเจลาติน

เจลาตินผลิตจากคอลลาเจนซึ่งเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่พบในกระดูก หนัง และเอ็นจากสัตว์ การไฮโดรไลส์คอลลาเจนบางส่วนโดยใช้ความร้อนหรือวิธีทางเคมีจะได้ผลิตภัณฑ์คือเจลาติน การผลิตเจลาตินในเชิงอุตสาหกรรมแบ่งเป็น 2 วิธีหลัก วิธีแรกคือการใช้สารละลายกรดไฮโดรไลส์คอลลาเจนในหนังหรือกระดูกสัตว์ จากนั้นจึงสกัดเจลาตินในภาวะที่เป็นกรด วิธีนี้เรียกว่า acid process เจลาตินที่ได้เรียกว่าเจลาตินชนิดเอ (type A gelatin) ซึ่งมีจุดไอโซอิเล็กทริกอยู่ในช่วงของค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7-9 ส่วนอีกวิธีหนึ่งเป็นการใช้สารละลายด่างไฮโดรไลส์คอลลาเจนในหนังหรือกระดูกสัตว์ จากนั้นจึงสกัดเจลาตินในภาวะที่เป็นกลางที่อุณหภูมิ 60-90 °C วิธีนี้เรียกว่า alkaline process หรือ lime process เจลาตินที่ได้เรียกว่าเจลาตินชนิดบี (type B gelatin) ซึ่งมีจุดไอโซอิเล็กทริกอยู่ในช่วงของค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4-5 (Arvanitoyannis, 2002) เจลาตินมีลักษณะเป็นผงละเอียด สี ไม่มีรสและไม่มีกลิ่น

2.3.2 องค์ประกอบของเจลาติน

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของเจลาตินพบว่า เจลาตินประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งหมด 18 ชนิด (ตารางที่ 2.2) โดยกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบหลักคือไกลซีนซึ่งมีปริมาณ 27% ของกรดอะมิโนทั้งหมด รองลงมาคือโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนซึ่งมีปริมาณ 25% และกรดกลูตามิกซึ่งมีปริมาณ 10% ของกรดอะมิโนทั้งหมด (Pauling and Corey, 1951)

2.3.3 การเกิดเป็นฟิล์มของเจลาติน

การเกิดเป็นฟิล์มของเจลาตินเป็นผลมาจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่อะมิโนอิสระและหมู่คาร์บอกซิลอิสระของกรดอะมิโน รวมทั้งพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่สายข้างของกรดอะมิโน (Whistler and Daniel, 1990)

2.3.4 สมบัติของฟิล์มเจลาติน

ฟิล์มเจลาตินมีสมบัติเชิงกลที่ดีและมีสมบัติ thermo-reversible นอกจากนี้ยังมีจุดหลอมเหลวใกล้เคียงกับอุณหภูมิของร่างกายมนุษย์ทำให้มีการใช้ฟิล์มเจลาตินกันอย่างแพร่หลายในด้านเภสัชและอาหาร เช่น แคปซูลยาและเคสซิงส์ได้กรอก นอกจากนี้ฟิล์มเจลาตินยังมีสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของแก๊สที่ดี อย่างไรก็ตามฟิล์มเจลาตินมีสมบัติชอบน้ำ การปรับปรุงสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำอาจทำได้โดยการทำให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลเจลาตินหรือการผลิตเป็นฟิล์มลามิเนต (Arvanitoyannis, 2002)

ตารางที่ 2.2 กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเจลาติน (ที่มา: Gelatin Manufacturers Institute of America, 1993)

กรดอะมิโน	ปริมาณ (หน่วยต่อ 100 หน่วยของกรดอะมิโนโดยรวม)		
	Acid pigskin gelatin	Limed calfskin gelatin	Limed bone gelatin
อะลานีน	8.6-10.7	9.3-11.0	10.1-14.2
อาร์จินีน	8.3-9.1	8.6-8.8	5.0-9.0
กรดแอสพาร์ติก	6.2-6.7	6.6-6.9	4.6-6.7
กรดกลูตามิก	11.3-11.7	11.1-11.4	8.5-11.6
ไกลซีน	26.4	26.9-27.5	24.5-28.8
ฮิสทีดีน	30.5	0.7-0.8	0.4-0.7
ไฮดรอกซีไลซีน	0.8-1.0	0.9-1.2	0.7-0.9
ไฮดรอกซีโพรลีน	1.0	14.0-14.5	11.9-13.4
ไอโซลูซีน	13.5	1.7-1.8	1.3-1.5
ลูซีน	1.4	3.1-3.4	2.8-3.5
ไลซีน	3.1-3.3	4.5-4.6	2.1-4.4
เมไทโอนีน	4.1-5.2	0.8-0.9	0.0-0.6
เฟนิลอะลานีน	2.1-2.6	2.2-2.5	1.3-2.5
โพรลีน	16.2-18.0	14.8-16.4	13.5-15.5
ซีรีน	2.9-4.1	3.2-4.2	3.4-3.8
ทรีโอนีน	2.2	2.2	2.0-2.4
ไทโรซีน	0.4-0.9	0.2-1.0	0.0-0.2
วาลีน	2.5-2.8	2.6-3.4	2.4-3.0

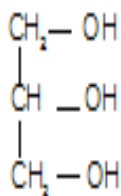
2.4 พลาสติไซเซอร์

พลาสติไซเซอร์หมายถึงสารที่เติมลงในพลาสติกหรืออีลาสโตเมอร์เพื่อช่วยลดความเปราะ (brittleness) หรือเพิ่มความเหนียว (toughness) และความสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Bakker, 1986) โดยพลาสติไซเซอร์จะเกิดอันตรกิริยาทุติยภูมิกับโมเลกุลพอลิเมอร์ ทำให้แรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ที่อยู่ใกล้กันอ่อนลง เกิดโครงสร้างที่อ่อนตัวลง (Billmeyer, 1962) สมบัติที่พึงประสงค์ของพลาสติไซเซอร์คือ สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกันกับพอลิเมอร์ที่ใช้ทำฟิล์มได้ มีจุดเดือดสูง ระเหยได้ยาก ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในการเตรียมฟิล์มได้ดี นอกจากนี้ไม่ควร

มีกลิ่นหรือรส ไม่เป็นพิษ และไม่ติดไฟ (Beerler and Finney, 1983) หากใช้พลาสติกไซเซอรที่มีสมบัติเหมาะสมจะไม่เกิดการแยกตัวระหว่างการทำฟิล์มให้แห้ง ฟิล์มที่ได้จะมีลักษณะทางกายภาพที่ดีและสามารถคงความยืดหยุ่นตลอดการใช้งาน (Guilbert, 1986)

ฟิล์มที่มีโปรตีนหรือพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบหลักมักมีความเปราะทำให้จำกัดการใช้ประโยชน์ของฟิล์มเหล่านี้ ในการผลิตจึงต้องมีการเติมพลาสติกไซเซอรเพื่อช่วยเพิ่มความยืดหยุ่น พลาสติกไซเซอรที่ใช้ในการผลิตฟิล์มสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่ (1) โมโนแซ็กคาไรด์ ไดแซ็กคาไรด์ และโอลิโกแซ็กคาไรด์ (เช่น กลูโคส ฟรุคโตส ไสรัป และน้ำผึ้ง) (2) พอลิออล (เช่น กลีเซอรอล อนุพันธ์ของกลีเซอรอล พอลิเอทิลีนไกลคอล และซอร์บิทอล) และ (3) ลิพิดและอนุพันธ์ของลิพิด (เช่น กรดไขมัน โมโนกลีเซอไรด์ อนุพันธ์เอสเทอร์ของลิพิด ฟอสโฟลิพิด และสารลดแรงตึงผิว)

สำหรับงานวิจัยนี้ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร กลีเซอรอลหรือกลีเซอริน (รูปที่ 2.3) เป็นพอลิออลที่มีคาร์บอน 3 อะตอม มีสูตรโมเลกุล $C_3H_8O_3$ โมลาร์แมสเท่ากับ 92 g/mol เป็นผลพลอยได้ของการผลิตสบู่อและกรดไขมัน มีสมบัติเป็นของเหลวที่มีความหนืดสูง มีความหวาน 0.6 เท่าของน้ำตาล สามารถรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกับน้ำและแอลกอฮอล์ได้ดี ทำละลายน้ำมันได้ดีปานกลาง ดูดความชื้นจากอากาศได้ดีปานกลาง (Windholz *et al.*, 1976) มีรายงานการใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอรในฟิล์มหลายชนิด ได้แก่ ฟิล์มจากสตาร์ชมันเทศ อะการ์ อมิโลส สตาร์ชข้าวโพดชนิดอไมโลสสูง (amylomaize starch) เวย์โปรตีน กลูเต็น เมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีพรอพิลเมทิลเซลลูโลส (มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด, 2535; Mark *et al.*, 1966; Mahmoud and Savello, 1992; Gontard, Guilbert and Cuq, 1993; Park *et al.*, 1993; McHugh, Aujard and Krochta, 1994)



รูปที่ 2.3 กลีเซอรอล

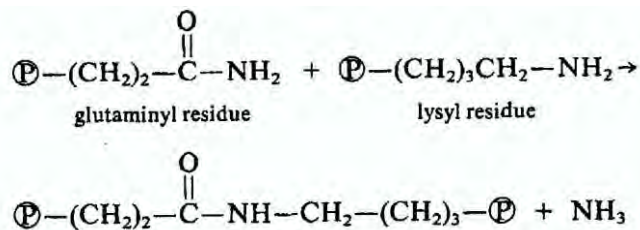
มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด (2535) ผลิตฟิล์มจากสตาร์ชมันเทศและอะการ์ (YS/AG) ฟิล์มจากสตาร์ชมันเทศ อมิโลส และอะการ์ (YS/AM/AG) และฟิล์มจากอไมโลสและอะการ์ (AM/AG) เติม

กลีเซอรอล 0, 0.25 และ 0.50% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม พบว่าค่า TS ของฟิล์มแปรผกผันกับปริมาณกลีเซอรอล โดยฟิล์ม YS/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีค่า TS เท่ากับ 4.65 และ 3.31 kg/m² ตามลำดับ ฟิล์ม YS/AM/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีค่า TS เท่ากับ 2.29 และ 1.59 kg/m² ตามลำดับ และฟิล์ม AM/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีค่า TS เท่ากับ 1.47 และ 1.39 kg/m² ตามลำดับ ในขณะที่ EB แปรผันตามปริมาณกลีเซอรอล โดยฟิล์ม YS/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีค่า EB เท่ากับ 2.40 และ 3.75% ตามลำดับ ฟิล์ม YS/AM/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีค่า EB เท่ากับ 1.00 และ 3.15% ตามลำดับ และฟิล์ม AM/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีค่า EB เท่ากับ 1.00 และ 2.25% ตามลำดับ ส่วนสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำแปรผกผันกับปริมาณกลีเซอรอล โดยฟิล์ม YS/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเท่ากับ 4.83×10^{-3} และ 1.23×10^{-3} mm/m² day Pa ตามลำดับ ฟิล์ม YS/AM/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเท่ากับ 1.56×10^{-3} และ 1.09×10^{-3} mm/m² day Pa ตามลำดับ และฟิล์ม AM/AG ที่ไม่เติมและเติมกลีเซอรอล 0.50% มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเท่ากับ 3.56×10^{-3} และ 2.18×10^{-3} mm/m² day Pa ตามลำดับ

Gennadios และคณะ (1996) ศึกษาสมบัติของฟิล์มโปรตีนไข่ขาวที่เติมกลีเซอรอล พอลิเอทิลีนไกลคอล และซอร์บิทอล โดยแปรความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็น 30, 40 และ 50% โดยน้ำหนักโปรตีน และแปรความเข้มข้นของพอลิเอทิลีนไกลคอลและซอร์บิทอลเป็น 50 และ 60% โดยน้ำหนักโปรตีน พบว่าฟิล์มที่เติมซอร์บิทอล 50% มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุด ฟิล์มที่เติมพอลิเอทิลีนไกลคอล 60% มีค่า EB สูงที่สุด และฟิล์มที่เติมพอลิเอทิลีนไกลคอลและฟิล์มที่เติมซอร์บิทอลมีค่า TS สูงกว่าฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นเท่ากัน

2.5 แทรนส์กลูตามิเนส (TRANSGLUTAMINASE)

แทรนส์กลูตามิเนส (E.C.2.3.2.13, protein-glutamine γ -glutamyltransferase) จัดอยู่ในกลุ่มแทรนส์เฟอเรส ทำหน้าที่เร่งการย้ายหมู่เอซิดของแกมมา-คาร์บอกซีเอมีดของหน่วยย่อยกลูตามีนไปยังหมู่อะมิโนปฐมภูมิหรือเอพซิดอนอะมิโนของหน่วยย่อยไลซีนเกิดเป็นพันธะโควาเลนต์ที่เรียกว่า ϵ -(γ -glutamyl)lysine isopeptide bond (Ha and Luchi, 2003) (รูปที่ 2.4)



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยกลูตามีนและไลซีนที่เร่งโดยแทรนส์กลูตามิเนส
ที่มา: Matheis และ Whitaker (1984)

แทรนส์กลูตามิเนสพบได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อและของเหลวในร่างกายของสัตว์ชั้นสูง เช่น ตับ หมู เลือดหมู เลือดวัว และเนื้อปลา โดยทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับระบบต่างๆ ในร่างกาย เช่น การควบคุมการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามในแง่ของการผลิตแทรนส์กลูตามิเนสทางการค้า การสกัดเอนไซม์จากแหล่งดังกล่าวมีต้นทุนที่สูงเนื่องมาจากกระบวนการสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ที่มีความซับซ้อน จึงมีความพยายามเสาะหาแหล่งที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณมาก การผลิตแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เป็นแนวทางที่มีศักยภาพสูง ในทางการค้าส่วนใหญ่ผลิตโดยใช้ *Streptovercillum mobaraense* ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้ผลิตแทรนส์กลูตามิเนสและหลั่งออกสู่ภายนอกเซลล์ทำให้การสกัดทำได้ง่าย นอกจากนี้เอนไซม์ที่ผลิตยังมีปริมาณสูงเมื่อเทียบกับแหล่งอื่น สำหรับการทำงาน แทรนส์กลูตามิเนสทำงานได้ดีที่ค่าความเป็นกรดต่างในช่วง 5-8 และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานอยู่ที่ประมาณ 50 °C เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 70 °C แทรนส์กลูตามิเนสจะสูญเสียแอกทิวิตีอย่างรวดเร็วภายในเวลา 2-3 นาที (Seguro *et al.*, 1996) จากความสามารถในการเชื่อมข้ามโมเลกุลโปรตีนจึงมีการนำแทรนส์กลูตามิเนสมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของโปรตีนหลายชนิด เช่น โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนถั่วพีช และโปรตีนนม ลักษณะเฉพาะของแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ซึ่งแตกต่างจากแทรนส์กลูตามิเนสจากแหล่งอื่นๆ คือ แทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ไม่ต้องการ Ca^{2+} ในเป็นโคแฟกเตอร์ในการทำงาน (Motoki and Seguro, 1998)

Tang และคณะ (2005) ศึกษาการใช้แทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด เตรียมสารละลายฟิล์มเข้มข้น 5% โดยน้ำหนัก ใช้ซอร์บิทอลผสมกลีเซอรอลในอัตราส่วน 1:1 เป็นพลาสติกไซเซอร์โดยเติมในปริมาณ 0.6 g/g โปรตีนถั่วเหลืองสกัด และเติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เข้มข้น 4 หน่วย/g โปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่าฟิล์มที่เติมเอนไซม์มีค่า TS สูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ โดยฟิล์มทั้งสองมีค่า TS เท่ากับ 3.10 และ 2.58

MPa ตามลำดับ ในขณะที่ EB ของฟิล์มที่เติมเอนไซม์มีค่าต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ โดยฟิล์มทั้งสองมีค่า EB เท่ากับ 80.04 และ 102.04% ตามลำดับ

Chambi และ Grosso (2006) ศึกษาผลของการใช้ทรานส์กลูทามิเนสต่อสมบัติของฟิล์มที่ผลิตจากเคซีนและเจลาติน แปรอัตราส่วนของเคซีนต่อเจลาตินเป็น 5 อัตราส่วน ได้แก่ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 และเติมทรานส์กลูทามิเนสเข้มข้น 10 หน่วย/g โปรตีน พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่าง (ยกเว้นอัตราส่วนของเคซีนต่อเจลาตินเท่ากับ 75:25) มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเติมทรานส์กลูทามิเนส โดยฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของเคซีนต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0 มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำสูงที่สุดคือ $7.5 \text{ g mm/m}^2 \text{ day kPa}$ นอกจากนี้เมื่อเติมเอนไซม์ TS ของฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่าลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของเคซีนต่อเจลาตินต่างกัน ในขณะที่ EB มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเติมเอนไซม์ โดยฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของเคซีนต่อเจลาตินเท่ากับ 75:25 มีค่า EB สูงที่สุดเท่ากับ 56.79%

Yi และคณะ (2006) ศึกษาผลของการเติมทรานส์กลูทามิเนสต่อสมบัติของฟิล์มเจลาตินปลา พบว่าเมื่อเติมทรานส์กลูทามิเนสเข้มข้น 10 หน่วย/g โปรตีน ตัวอย่างฟิล์มมี TS เพิ่มขึ้น (68.00 MPa) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ (48.03 MPa) นอกจากนี้สภาพให้ซึมผ่านได้ของออกซิเจนเพิ่มขึ้นจาก 7.24 เป็น 17.69 $\text{cm}^3 \text{ m/m}^2 \text{ day}$ เมื่อเติมเอนไซม์ อย่างไรก็ตามพบว่าการเติมทรานส์กลูทามิเนสไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำส่วนในด้านความชุ่มพบว่าฟิล์มที่เติมเอนไซม์มีความชุ่มเพิ่มขึ้น (2.87%) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ (1.43%)

Jiang และคณะ (2007) ศึกษาผลของภาวะในการผลิตต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมทรานส์กลูทามิเนส เตรียมสารละลายฟิล์มเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักใน Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ซึ่งมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 และ 10.0 และแปรความเข้มข้นของทรานส์กลูทามิเนสเป็น 4, 10, 20, 30 และ 40 หน่วย/g โปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่าฟิล์มที่เติมและไม่เติมเอนไซม์มีค่า TS เพิ่มขึ้นเมื่อค่าความเป็นกรดของสารละลายฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามฟิล์มที่เติมเอนไซม์มีอัตราการเพิ่มขึ้นของ TS สูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ ในขณะที่ EB ของฟิล์มที่เติมและไม่เติมเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อค่าความเป็นกรดต่างเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ผู้วิจัยยังรายงานว่าการใช้ทรานส์กลูทามิเนสที่ความเข้มข้นต่ำ (4-10 หน่วย/g โปรตีนถั่ว

เหลืองสกัด) ทำให้ TS เพิ่มขึ้นและ EB ลดลง แต่เมื่อใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้นสูง (> 20 หน่วย/g โปรตีนถั่วเหลืองสกัด) มีผลให้ทั้ง TS และ EB มีค่าลดลง

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัสดุดิบ

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด เกรดสำหรับอาหาร (บริษัท ไม้ที้ อินเทอร์เน็ตเซ็นแนล จำกัด, กรุงเทพฯ)

เจลาตินผง ตราแมกกาเร็ต® เกรดสำหรับอาหาร (บริษัท คอนติเนนตัล ฟูด จำกัด, กรุงเทพฯ)

แพรอนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ ACTIVA™ TG-AK เกรดสำหรับอาหาร (บริษัท อายิโนะโมะไต้ะ จำกัด, กรุงเทพฯ)

3.1.2 สารเคมี

Acrylamide gel, 40% solution, AR grade (Pharmacia, Uppsala, Sweden)
Ammonium persulfate, AR grade (USB Corporation, Cleveland, OH)
Bovine serum albumin, 98%, AR grade (Sigma-Aldrich, Munich, Germany)

Bromophenol blue, AR grade (USB Corporation, Cleveland, OH)
Butan-1-ol, AR grade (Univar, Seven Hills, Australia)
Coomassie blue R-250, AR grade (Fluka, Buchs, Switzerland)
Copper (II) sulfate, AR grade (Univar, Seven Hills, Australia)
Ethanol, 95%, AR grade (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)
Folin-Ciocalteu's phenol reagent, AR grade (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)

Glycerol, AR grade (Ajax Finechem, Taren Point, Australia)
Glycine, AR grade (USB Corporation, Cleveland, OH)
N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED), AR grade (USB Corporation, Cleveland, OH)

2-mercaptoethanol, AR grade (Loba Chemie, Mumbai, India)

Potassium sodium tartrate, AR grade (Univar, Seven Hills, Australia)

Protein molecular weight marker, wide range (molecular weight 6,500-200,000 Da), AR Grade (Sigma-Aldrich, Munich, Germany)

Sodium carbonate anhydrous, AR grade (Univar, Seven Hills, Australia)

Sodium dodecyl sulfate (SDS), AR grade (USB Corporation, Cleveland, OH)

Sodium hydroxide anhydrous, pellets, AR grade (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italy)

Tris-(hydroxymethyl)-methylamine, AR grade (Fisher Scientific, Leicestershire, UK)

3.2 อุปกรณ์

Gel electrophoresis system (model miniVE, Hoefer, Holliston, MA)

Homogenizer, model X10/25 (Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany)

Laboratory hot air oven, model 600 (Memmert, Schwabach, Germany)

Micrometer, model 7301 (Mitutoyo, Tokyo, Japan)

Scanning electron microscope, model JSM-5410 LV (JEOL, Tokyo, Japan)

Shaking water bath, model SW23 (Julabo Labortechnik GMBH, Seelbach, Germany)

Ultrasonic bath, Ultrasonik™ model 136H (Fisher Scientific, Schwerte, Germany)

Universal materials testing machine, Instron® model 5565 (Instron, Norwood, MA)

UV/Vis spectrophotometer, model V-530 (Jasco, Easton, MD)

Water activity meter, AquaLab® series 3TE (Decagon Devices, Pullman, WA)

3.3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.3.1 ผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลลาดินและการเติม แทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ต่อสมบัติของฟิล์ม

เตรียมฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Jiang และคณะ (2007) โดยเตรียม สารละลายฟิล์มเข้มข้น 5% (w/v) ในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (ค่าความ

เป็นกรดต่างเท่ากับ 8.0) แปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาติน (SPI:G) เป็น 5 อัตราส่วน ได้แก่ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 และแปรความเข้มข้นของ แทรนส์กลูตามิเนสเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน ใช้กลีเซอรอลเป็น พลาสติไซเซอร์โดยเติมกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน ส่วนผสมสำหรับฟิล์มที่แปร อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมสำหรับฟิล์มที่แปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาติน

SPI:G	ส่วนผสม			
	โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (g)	เจลาติน (g)	กลีเซอรอล (g)	Tris-HCl (ml)
100:0	5.00	0	3.0	100.0
75:25	3.75	1.25	3.0	100.0
50:50	2.50	2.50	3.0	100.0
25:75	1.25	3.75	3.0	100.0
0:100	0	5.00	3.0	100.0

เตรียมสารละลายฟิล์มโดยละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ปริมาตร 70 ml และละลายเจลาตินในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ปริมาตร 30 ml จน สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นผสมสารละลายโปรตีนทั้งสองชนิดเข้าด้วยกัน เติมกลีเซอรอล ผสมให้เข้ากัน นำสารละลายฟิล์มมาโฮโมจีไนส์โดยใช้ Ystral homogenizer (รุ่น X10/25, Ballrechten-Dottingen, Germany) ใช้หัวผสม 18/G โฮโมจีไนส์ด้วยความเร็ว 22,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายฟิล์มไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C ในอ่างน้ำควบคุม อุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik GMBH, Seelbach, Germany) เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายมาทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิ 50 °C เติมทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ ผสมให้ เข้ากัน จากนั้นนำสารละลายฟิล์มไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, Julabo Labortechnik GMBH, Seelbach, Germany) ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที แล้วให้ความ ร้อนแก่สารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 3 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ จากนั้น นำสารละลายฟิล์มที่ได้ไปกำจัดฟองอากาศโดยใช้ ultrasonic bath (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) เป็นเวลา 5 นาที นำสารละลายที่ได้ไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยปีเปิด สารละลายฟิล์มปริมาตร 25 ml ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ที่ทำจากแก้วซึ่งมีเส้นผ่าน ศูนย์กลางขนาด 150 mm จัดวางจานเลี้ยงเชื้อไว้บนพื้นระนาบและทิ้งไว้ให้ฟิล์มแห้งที่อุณหภูมิ

25 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงลอกแผ่นฟิล์มออก นำแผ่นฟิล์มที่ได้ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 50% เป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำมาวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มตามวิธีการในข้อ 3.3.3.1-3.3.3.5 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ

3.3.2 ผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน

เตรียมสารละลายฟิล์มเข้มข้น 5% (w/v) ในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.0) แปรอัตราส่วน SPI:G เป็น 5 อัตราส่วน ได้แก่ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 แปรความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน และแปรความเข้มข้นของแทรนส์กลูทามีนเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน เตรียมฟิล์มตามวิธีการในข้อ 3.3.1 และวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มตามวิธีการในข้อ 3.3.3.1-3.3.3.5 วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ

3.3.3 การวิเคราะห์สมบัติของฟิล์ม

3.3.3.1 ความหนา

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 30x150 mm² วัดความหนาของฟิล์มโดยใช้ไมโครมิเตอร์ (รุ่น 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan) วัดความหนาขึ้นละ 15 จุดนับเป็น 1 ซ้ำ

3.3.3.2 ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (2000) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งตัวอย่างฟิล์มประมาณ 5 g ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน บรรจุลงในจานอลูมิเนียมที่อบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำตัวอย่างเข้าอบในตู้อบ (รุ่น 600, Memmert, Schwabach, Germany) ที่อุณหภูมิ 105±2 °C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นและนำมาชั่งน้ำหนักหลังการอบ คำนวณปริมาณความชื้นเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก

3.3.3.3 สมบัติเชิงกล

วิเคราะห์สมบัติเชิงกลโดยใช้เครื่อง Instron® universal materials testing machine (รุ่น 5565, Instron, Norwood, MA) ซึ่งติดตั้งด้วย load cell ขนาด 5 kg ใช้

หัววัด pneumatic side-action grips ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด $30 \times 100 \text{ mm}^2$ ติดตั้งลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 50 mm ดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 5.0 mm/วินาที จนกระทั่งขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็น g force) และระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกไปได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็น mm) คำนวณการต้านทานแรงดึงขาด (TS) และการยืดตัวถึงจุดขาด (EB) โดยใช้สมการที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ

$$TS \text{ (MPa)} = \frac{\text{แรงที่ใช้ในการดึงตัวอย่างให้ขาด (gforce)} \times 0.009807 \times 10^{-6}}{\text{ความกว้างของตัวอย่าง (m)} \times \text{ความหนาของตัวอย่าง (m)}} \quad (3.1)$$

$$EB \text{ (\%)} = \frac{\text{ระยะการยืดของตัวอย่าง (mm)}}{\text{ความยาวเดิมของตัวอย่าง (mm)}} \times 100 \quad (3.2)$$

สำหรับตัวอย่างฟิล์มแต่ละซ้ำ วัดตัวอย่างละ 8 ซ้ำนับเป็น 1 ซ้ำ

3.3.3.4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

วิเคราะห์สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มตามวิธีของ ASTM E96-95 (1999) (ภาคผนวก ก.1)

3.3.3.5 ความโปร่งแสง

วัดความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Tang และคณะ (2005) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาดพอดีกับด้านที่แสงส่องผ่านของคิวเว็ตต์ บรรจุฟิล์มลงในคิวเว็ตต์ แล้วนำไปวัดค่าร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ที่ความยาวคลื่น 500 nm โดยใช้ UV/Vis spectrophotometer (รุ่น V-530, Jasco, Easton, MD) ใช้คิวเว็ตต์เปล่า (คิวเว็ตต์ที่มีอากาศภายใน) เป็นแบล็ก กำหนดให้ร้อยละของแสงส่องผ่านของแบล็กมีค่าเท่ากับ 100

3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและรูปแบบของแถบโปรตีน (protein pattern) ของตัวอย่างฟิล์ม

รูปแบบของแถบโปรตีนวิเคราะห์โดยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ศึกษาในตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 ที่เติมกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนและแทรนส์กลูตามีนเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน เปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วน

ของ SPI:G เท่ากับ 100:0 และ 0:100 ที่เติมกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนและไม่เติมทรานส์กลูทามิเนส วิธีการเตรียมตัวอย่าง การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และการวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนแสดงดังภาคผนวก ก.2

3.3.5 การศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้น (moisture sorption isotherm) ของตัวอย่างฟิล์ม

เลือกตัวอย่างฟิล์มในข้อ 3.3.2 ที่มี TS และ EB สูงมาศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิคงที่ โดยตัดตัวอย่างเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิทที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัวที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ ได้แก่ 12.0, 22.5, 33.0, 43.0, 51.0, 57.6, 66.0, 74.9, 84.3, 90.0 และ 94.0% ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 7 วัน นำตัวอย่างฟิล์มมาวัดเพื่อยืนยันค่าวอเตอร์แอกทิวิตีโดยใช้เครื่อง AquaLab® (รุ่น 3TE, Decagon Devices, Pullman, WA) และวิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีในข้อ 3.3.3.2 นำข้อมูลของวอเตอร์แอกทิวิตีที่สัมพันธ์กับปริมาณความชื้นมาสร้างเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้น

3.3.6 การศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์ม

ศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25 และ 25:75 ซึ่งเติมกลีเซอรอลเข้มข้น 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน และเติมทรานส์กลูทามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 5x5 cm² แล้วเก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่มีซิลิกาเจลเป็นเวลา 1 สัปดาห์ สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่ใช้ศึกษาลักษณะพื้นผิว เตรียมตัวอย่างโดยติดเทปกาวยางสองหน้าแบบบางลงบนแท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่าง วางตัวอย่างฟิล์มลงไปและตัดแต่งขอบให้เรียบโดยใช้กรรไกร ส่วนตัวอย่างฟิล์มที่ใช้ศึกษาภาพตัดขวางใช้แท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่างซึ่งมีลักษณะเป็นร่องตั้งฉากกับพื้นผิวสำหรับติดตัวอย่าง นำตัวอย่างฟิล์มแช่ลงในไนโตรเจนเหลวให้ฟิล์มแข็งตัว แล้วหักตัวอย่างฟิล์มทิ้งตัวอย่างฟิล์มให้อ่อนตัวลง ติดเทปกาวยางสองหน้าแบบบางลงบนแท่งทองเหลืองบริเวณที่เป็นร่องที่ตั้งฉาก แล้วติดตัวอย่างฟิล์มให้ด้านที่ถูกหักวางตั้งฉากกับแท่งทองเหลือง นำตัวอย่างไปฉาบด้วยทอง แล้วศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รุ่น JSM-5410 LV, JEOL, Tokyo, Japan) ใช้กำลังขยาย 750 เท่า

3.3.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test ที่ $p=0.05$

บทที่ 4

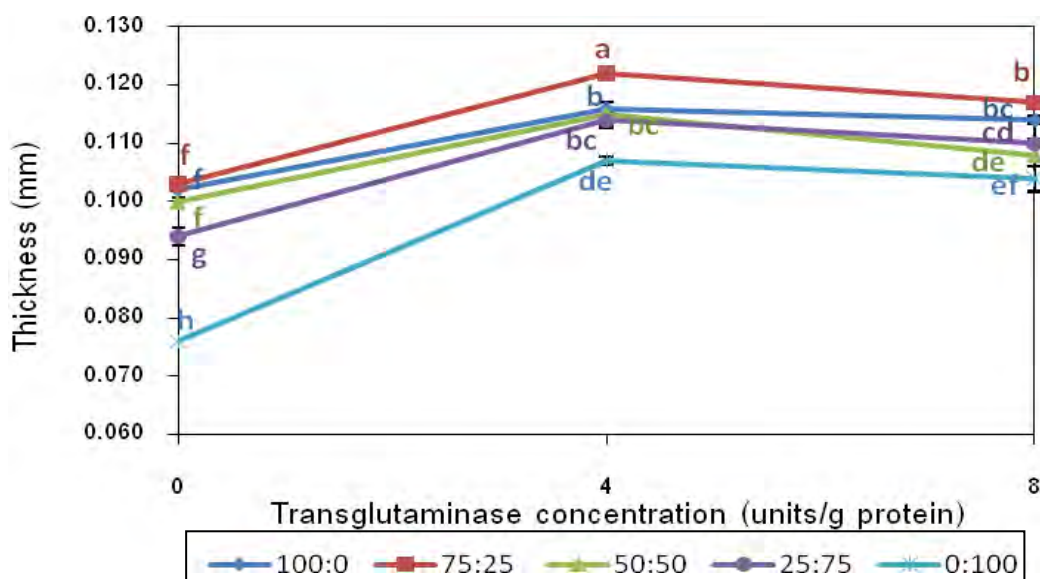
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินและการเติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ต่อสมบัติของฟิล์ม

การวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินและการเติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ต่อสมบัติของฟิล์ม โดยแปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาติน (SPI:G) เป็น 5 อัตราส่วน ได้แก่ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 และแปรความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน วิเคราะห์สมบัติของฟิล์ม ได้แก่ ความหนา ปริมาณความชื้น ความต้านทานแรงดึงขาด (TS) การยืดตัวถึงจุดขาด (EB) ความโปร่งแสง และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ รูปของฟิล์มที่ผลิตได้แสดงในภาคผนวก ข.2

4.1.1 ความหนา

ความหนาของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินแสดงดังรูปที่ 4.1 และตารางที่ ค.1 ความหนาของตัวอย่างฟิล์มมีค่าอยู่ในช่วง 0.076-0.123 mm โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G ต่างกันมีความหนาใกล้เคียงกัน ยกเว้นตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 0:100 ก่อนหน้านี้ Cuq, Gontard และ Guilbert (1997) กล่าวว่าปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อความหนาของฟิล์มคือปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในสารละลายฟิล์ม ซึ่งสำหรับงานวิจัยนี้ได้ควบคุมความเข้มข้นของโปรตีนโดยรวมในสารละลายฟิล์มให้คงที่ที่ 5% โดยน้ำหนัก และขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มโดยควบคุมปริมาตรสารละลายฟิล์ม (25 ml) และพื้นที่ที่ใช้ขึ้นรูป (17,671 mm²) ให้คงที่ Mahmoud และ Savello (1992) รายงานว่าชนิดของโปรตีนไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม โดยพบว่าฟิล์มแอลฟา-แลกตาลบูมิน ฟิล์มเบตา-แลกโตโกลบูลิน และฟิล์มที่ผลิตจากของผสมของแอลฟา-แลกตาลบูมินและเบตา-แลกโตโกลบูลินในอัตราส่วน 1:1 มีความหนาไม่แตกต่างกัน โดยฟิล์มทุกตัวอย่างมีความหนาเท่ากับ 75 μm ในทำนองเดียวกัน Denavi และคณะ (2009) รายงานว่าฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินปลาสดที่มีอัตราส่วนของโปรตีนแตกต่างกันมีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 48-50 μm และฟิล์มเชิงประกอบดังกล่าวมีความหนาไม่แตกต่างจากฟิล์มเชิงเดี่ยวจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด แต่แตกต่างจากฟิล์มเชิงเดี่ยวจากเจลาตินปลาสด



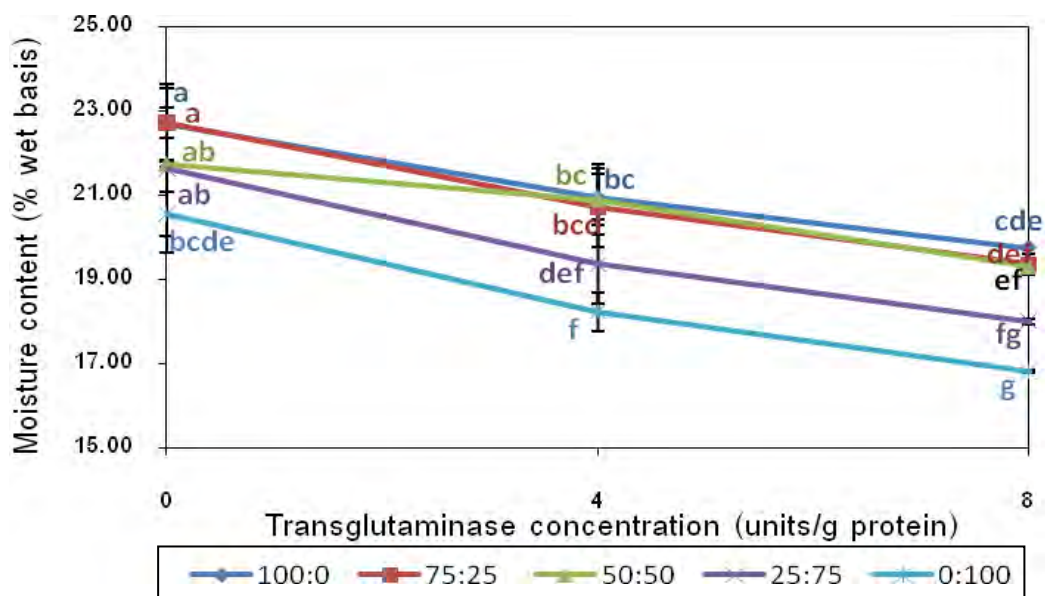
รูปที่ 4.1 ความหนาของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสต่างๆ

สำหรับผลของการเติมทรานส์กลูตามิเนส พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 4 หน่วย/g โปรตีน ความหนาของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.1 และตารางที่ ค.1) ตัวอย่างเช่น ฟิล์มที่มีอัตราส่วน SPI:G เท่ากับ 100:0 ที่ไม่เติมและเติมเอนไซม์ 4 หน่วย/g โปรตีนมีความหนาเท่ากับ 0.102 และ 0.116 mm ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากทรานส์กลูตามิเนสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเชื่อมข้ามทำให้โมเลกุลโปรตีนมีขนาดใหญ่ขึ้น (Tang and Jiang, 2007) อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสเพิ่มขึ้นจาก 4 เป็น 8 หน่วย/g โปรตีน ความหนาของฟิล์มมีค่าค่อนข้างคงที่ เช่น ฟิล์มที่มีอัตราส่วน SPI:G เท่ากับ 100:0 ที่เติมเอนไซม์ 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีนมีความหนาเท่ากับ 0.116 และ 0.115 mm ตามลำดับ ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tang และ Jiang (2007) ซึ่งศึกษาผลของการเติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน ที่มีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนชนิดต่างๆ และรายงานว่ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมทรานส์กลูตามิเนสมีความหนามากกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ (0.101 และ 0.083 mm ตามลำดับ) เช่นเดียวกับฟิล์มเจลาตินที่เติมและไม่เติมทรานส์กลูตามิเนสซึ่งมีความหนาเท่ากับ 0.076 และ 0.068 mm ตามลำดับ

4.1.2 ปริมาณความชื้น

รูปที่ 4.2 และตารางที่ ค.1 แสดงปริมาณความชื้นของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 16.81-22.72% โดยน้ำหนักสด

เมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มสูงขึ้นปริมาณความชื้นของฟิล์มมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนต่างชนิดทำให้หมู่เคมีที่สามารถจับกับน้ำได้มีปริมาณลดลง Denavi และคณะ (2009) ศึกษาสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินปลาสด และรายงานว่ปริมาณความชื้นมีแนวโน้มลดลงเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินปลาสดเท่ากับ 75:25, 50:50 และ 25:75 มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 15.55, 15.62 และ 15.04% โดยน้ำหนักสดตามลำดับ



รูปที่ 4.2 ปริมาณความชื้นของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสต่างๆ

สำหรับการเติมทรานส์กลูตามิเนสที่มีความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณความชื้นของตัวอย่างฟิล์มลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.2 และตารางที่ ค.1) ฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 0:100 และเติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีนมีปริมาณความชื้นต่ำที่สุด (16.81% โดยน้ำหนักสด) Tang และคณะ (2005) อธิบายว่าการที่ปริมาณความชื้นของฟิล์มโปรตีนลดต่ำลงเมื่อเติมทรานส์กลูตามิเนส เนื่องมาจากการเกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างสายโปรตีนซึ่งเป็นผลจากการทำงานของทรานส์กลูตามิเนส ทำให้หมู่เอมิโนอิสระที่สามารถจับกับน้ำได้มีปริมาณลดลง Tang และคณะ (2005) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีปริมาณความชื้นลดต่ำลงเมื่อเติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/g โปรตีน และในเวลาต่อมา Jiang และคณะ (2007) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4-60 หน่วย/g โปรตีนมี

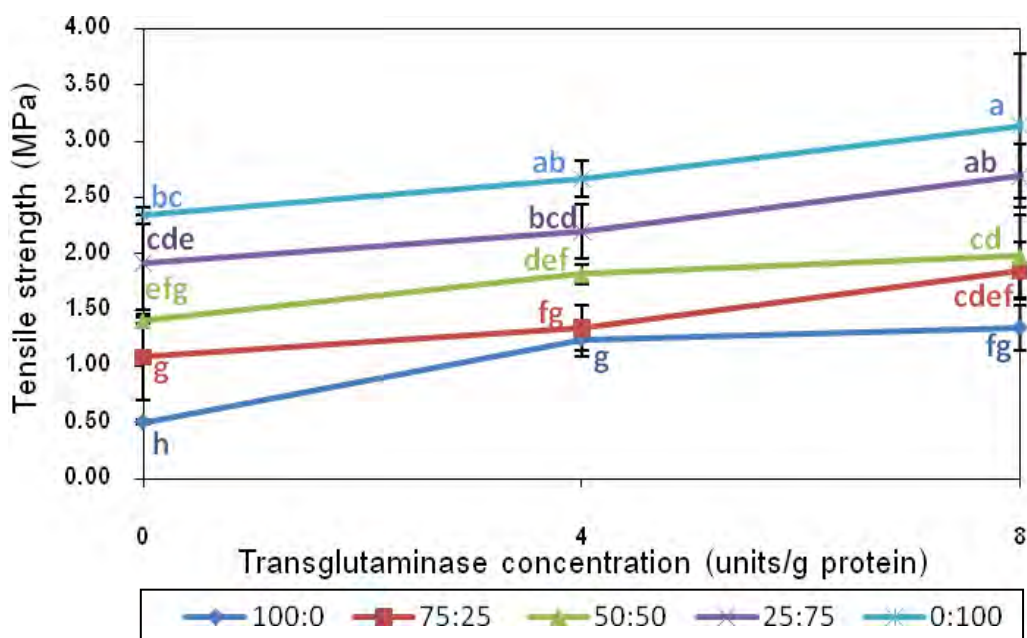
ปริมาณความชื้นต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมแทรนส์กลูทามิเนส และปริมาณความชื้นมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูทามิเนสเพิ่มขึ้น

4.1.3 ความต้านทานแรงดึงขาด

TS ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินแสดงดังรูปที่ 4.3 และตารางที่ ค.1 พบว่า TS ของตัวอย่างฟิล์มมีค่าอยู่ในช่วง 0.50-3.14 MPa เมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น TS ของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้มีสาเหตุจากธรรมชาติที่ต่างกันของโปรตีนแต่ละชนิด โดยเจลาตินมีโครงสร้างที่เป็นเส้นตรง (Simon-Lukasik and Ludescher, 2004) ประกอบกับความสามารถในการเกิดพันธะไฮโดรเจนหรือแรงอิเล็คโตรสแตติก และ/หรืออันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างโมเลกุลโปรตีนในเจลาติน (Mariniello *et al.*, 2003) ทำให้เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายที่เป็นระเบียบและมีความแข็งแรงสูง ในขณะที่โปรตีนถั่วเหลืองสกัดประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด โดยองค์ประกอบหลักเป็นโปรตีนชนิดโกลบูลิน ได้แก่ โกลบินินและเบต้า-คอนโกลบินิน (Wijeratne, 1993; Cho and Rhee, 2004) โครงสร้างของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดจึงมีความเป็นระเบียบต่ำกว่า ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรงน้อยกว่า นอกจากผลของธรรมชาติของโปรตีนแล้ว ความแข็งแรงของฟิล์มเชิงประกอบจากถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินอาจเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์ของโปรตีนทั้งสองชนิดด้วย (Cao *et al.*, 2007) ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Liu และคณะ (2007) ซึ่งพบว่าฟิล์มเชิงประกอบจากเพกตินและเจลาตินจากหนังปลามี TS เท่ากับ 43.5 MPa ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง TS ของฟิล์มเพกติน (17.0 MPa) และฟิล์มเจลาตินจากหนังปลา (71.8 MPa)

เมื่อพิจารณาผลของการเติมแทรนส์กลูทามิเนสที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้น TS ของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.3 และตารางที่ ค.1) โดยการเปลี่ยนแปลงนี้เห็นได้ชัดเจนเมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูทามิเนสเพิ่มจาก 0 เป็น 4 หน่วย/g โปรตีน การเพิ่มขึ้นของ TS เมื่อเติมแทรนส์กลูทามิเนสเป็นผลมาจากการเร่งปฏิกิริยาการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนทำให้เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายที่มีความแข็งแรงสูง (Motoki *et al.*, 1987; Yildirim and Hettiarachchy, 1998; Mariniello *et al.*, 2003) Tang และ Jiang (2007) ศึกษาผลของการใช้แทรนส์กลูทามิเนสที่มีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนชนิดต่างๆ ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลืองสกัด โซเดียมเคซีนเตต เวย์โปรตีนเข้มข้น เจลาติน กลูเต็น และโปรตีนถั่วลิสงสกัด พบว่าฟิล์มโปรตีนทุกชนิดมี TS เพิ่มขึ้นเมื่อเติมแทรนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน สำหรับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมและไม่เติมแทรนส์กลูทามิเนสมี TS เท่ากับ 4.3 และ 3.6 MPa ตามลำดับ และฟิล์มเจลาตินที่เติมและไม่เติมแทรนส์กลูทามิเนสมี TS เท่ากับ 8.5 และ

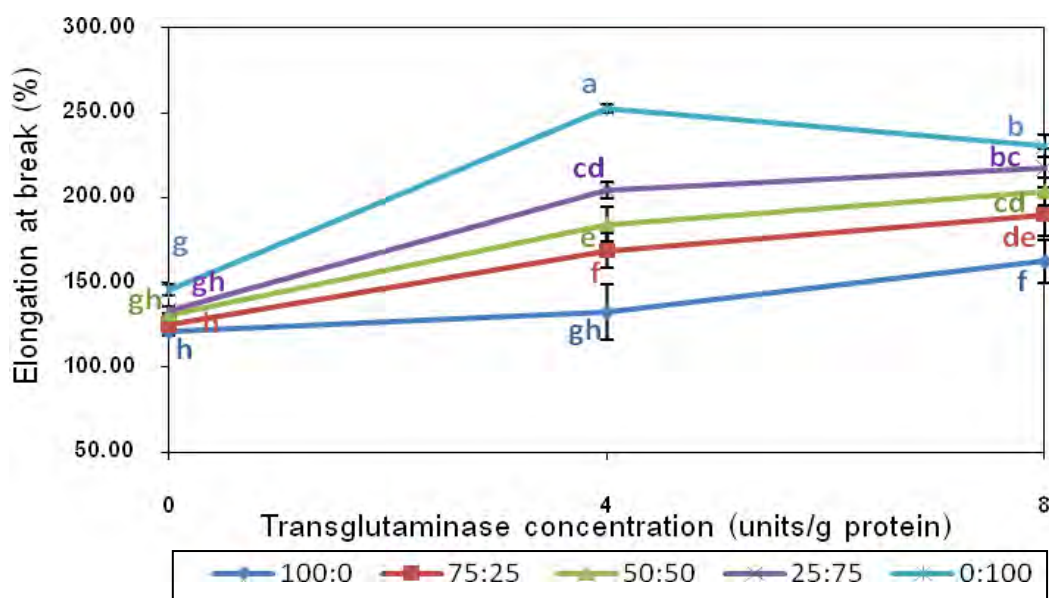
6.8 MPa ตามลำดับ Jiang และคณะ (2007) รายงานว่าการใช้ทรานส์กลูตามิเนสที่ความเข้มข้นต่ำ (4-10 หน่วย/g โปรตีน) ทำให้ TS ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสเพิ่มสูงขึ้นกว่า 20 หน่วย/g โปรตีน มีผลให้ TS ของฟิล์มมีค่าลดลง นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับความสามารถของทรานส์กลูตามิเนสในการปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มชนิดอื่นที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ฟิล์มแอลฟาเอสวัน-เคซีน (Motoki *et al.*, 1987) ฟิล์มเจลาตินปลา (Yi *et al.*, 2006) ฟิล์มไซเดียมเคซีน (Bruno *et al.*, 2008) ฟิล์มเชิงประกอบจากเพกตินและแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน (Mariniello *et al.*, 2003) ฟิล์มเชิงประกอบจากโคโคซานและเวย์โปรตีน (Di Pierro *et al.*, 2006) และฟิล์มเชิงประกอบจากโคโคซานและโอวัลบูมิน (Di Pierro *et al.*, 2007) ถึงแม้งานวิจัยส่วนใหญ่รายงานผลที่สอดคล้องกันแต่พบว่ามีบางงานวิจัยที่รายงานแตกต่างไป เช่น Chambi และ Grosso (2006) รายงานว่าการเติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน ไม่มีผลต่อค่า TS ของฟิล์มเชิงประกอบจากเคซีนและเจลาตินเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ และ Bae และคณะ (2009) รายงานว่าฟิล์มเชิงประกอบจากเจลาตินปลาและนาโนเคลย์มี TS ลดลงเมื่อเติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก และบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 10, 30 และ 50 นาที โดยฟิล์มที่เติมเอนไซม์แต่ไม่บ่มมีค่า TS สูงที่สุด



รูปที่ 4.3 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสต่างๆ

4.1.4 การยึดตัวถึงจุดขาด

รูปที่ 4.4 และตารางที่ ค.2 แสดง EB ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน พบว่า EB ของตัวอย่างฟิล์มมีค่าอยู่ในช่วง 121.28-252.35% จากงานวิจัยนี้พบว่าเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น EB ของตัวอย่างฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่นฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 100:0, 50:50 และ 0:100 และไม่เติมทรานส์กลูตามิเนสมีค่า EB เท่ากับ 121.28, 131.42 และ 145.75% ตามลำดับ ค่า EB ที่เพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้นนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากความเป็นระเบียบของโครงร่างตาข่ายของเจลาตินที่เกิดอันตรกิริยากัน (Mariniello *et al.*, 2003) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lee และคณะ (2004) ซึ่งรายงานว่าการเพิ่มอัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มสูงขึ้น ฟิล์มเชิงประกอบจากเจลาตินและเจลาตินมีค่า EB เพิ่มสูงขึ้น Liu และคณะ (2007) รายงานผลในการทำงานเดียวกันสำหรับฟิล์มเชิงประกอบจากเพกตินและเจลาตินจากหนังปลา ในการพัฒนาฟิล์มสำหรับปิดแผล Hima Bindu และคณะ (2010) รายงานว่าฟิล์มเชิงประกอบจากไคโตซานและเจลาตินมีความทนทานต่อการพับ (folding endurance) เพิ่มสูงขึ้นเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น โดยความทนทานต่อการพับแสดงถึงความยืดหยุ่น (flexibility) ของฟิล์ม อย่างไรก็ตาม Chambi และ Grosso (2006) รายงานว่าฟิล์มเชิงประกอบจากเคซีนและเจลาตินมีค่า EB เพิ่มสูงขึ้นเมื่ออัตราส่วนของเคซีนต่อเจลาตินเพิ่มขึ้นจาก 100:0 เป็น 75:25 แต่เมื่ออัตราส่วนของเคซีนต่อเจลาตินเพิ่มขึ้นเป็น 50:50 และ 25:75 EB ของตัวอย่างฟิล์มมีค่าค่อนข้างคงที่ และที่อัตราส่วนของเคซีนต่อเจลาตินเท่ากับ 0:100 EB กลับมีค่าลดลง



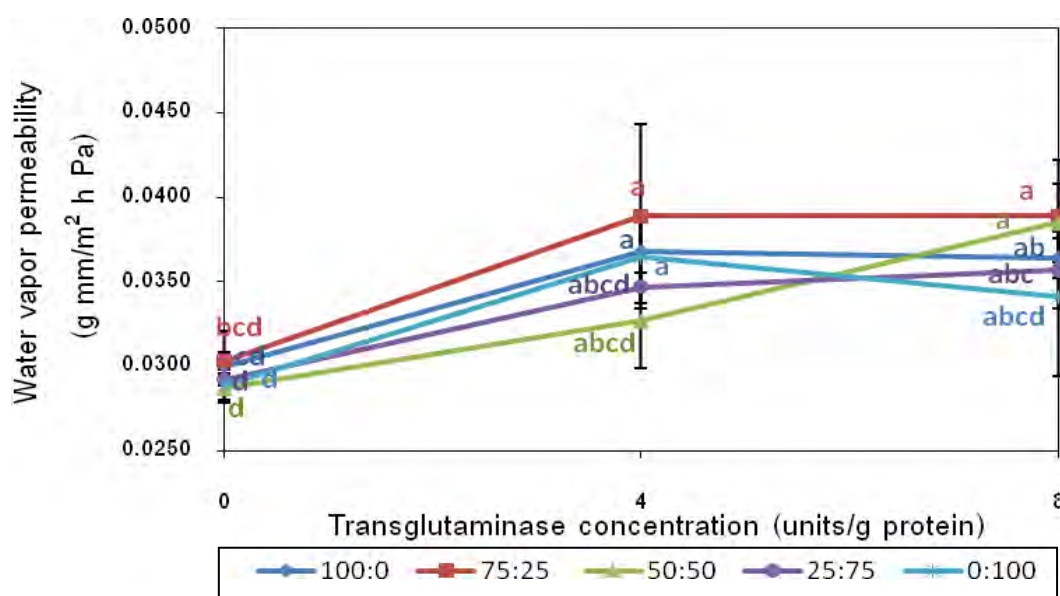
รูปที่ 4.4 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสต่างๆ

เมื่อพิจารณาผลของการเติมแทนส์กลูทามิเนสที่ความเข้มข้นต่างๆ (รูปที่ 4.4 และตารางที่ ค.2) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของแทนส์กลูทามิเนสเพิ่มสูงขึ้น EB ของฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตัวอย่างเช่นที่อัตราส่วน SPI:G เท่ากับ 100:0 ฟิล์มที่เติมแทนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีนมีค่า EB เท่ากับ 121.37, 132.74 และ 162.50% ตามลำดับ ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chambi และ Grosso (2006) ซึ่งรายงานว่า การเติมแทนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน มีผลให้ค่า EB ของฟิล์มเชิงประกอบจากเคซีนและเจลาตินเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ Di Pierro และคณะ (2007) รายงานในทำนองเดียวกันสำหรับฟิล์มเชิงประกอบจากโคโคซานและโอวัลบูมิน Tang และ Jiang (2007) เสนอว่าการเกิดพันธะเชื่อมข้ามอันเนื่องมาจากการทำงานของแทนส์กลูทามิเนสรวมทั้งอันตรกิริยาอื่นๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างสายโปรตีนทำให้โครงร่างตาข่ายของโปรตีนมีความยืดหยุ่นสูง อย่างไรก็ตามมีบางงานวิจัยที่รายงานแตกต่างไปจากงานวิจัยอื่น เช่น Carvalho และ Grosso (2004) รายงานว่าฟิล์มเจลาตินที่เติมแทนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 10 หน่วย/g โปรตีน มีค่า EB ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมและไม่เติมแทนส์กลูทามิเนสมีค่า EB เท่ากับ 33.21 และ 39.24% ตามลำดับ Di Pierro และคณะ (2006) ศึกษาผลของการเติมแทนส์กลูทามิเนสที่มีต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโคโคซานและเวย์โปรตีนและฟิล์มเชิงประกอบจากเพกตินและแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน พบว่าฟิล์มที่เติมแทนส์กลูทามิเนสมีค่า EB ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มชนิดเดียวกันที่ไม่เติมเอนไซม์ ผู้วิจัยเสนอว่าที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากโครงสร้างที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งเป็นผลจากการเชื่อมข้ามโดยการทำงานของแทนส์กลูทามิเนสอาจรบกวนความเป็นระเบียบของโครงร่างตาข่ายสามมิติทำให้ EB มีค่าลดลง นอกจากนี้ Bae และคณะ (2009) รายงานว่าระยะเวลาในการบ่มสารละลายของฟิล์มเชิงประกอบจากเจลาตินปลาและนาโนเคลย์ที่เติมแทนส์กลูทามิเนสเข้มข้น 2% โดยน้ำหนัก ไม่มีผลต่อค่า EB ของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4.1.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินแสดงดังรูปที่ 4.5 และตารางที่ ค.2 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มมีค่าอยู่ในช่วง 0.0287-0.0389 g mm/m²h Pa พบว่าอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินที่ต่างกันไม่มีผลต่อการซึมผ่านของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนทั้งสองชนิดมีสมบัติความชอบน้ำไม่ต่างกัน Gallo และคณะ (2000) กล่าวว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มคือสมบัติความชอบน้ำ/ความไม่ชอบน้ำ

(hydrophilicity/hydrophobicity) ขององค์ประกอบของฟิล์ม โดยองค์ประกอบที่มีสมบัติป้องกัน การซึมผ่านของไอน้ำได้ดีคือลิวซีน ส่วนโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์โดยทั่วไปมีข้อจำกัดในด้านการ ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำเนื่องจากสมบัติที่มีความเป็นขั้วสูง ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ สอดคล้องกับรายงานของ Chambi และ Grosso (2006) ซึ่งพบว่าอัตราส่วนของเจลาตินต่อเคซีน ที่ต่างกันไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเชิงประกอบ อย่างไรก็ตามมีข้อยกเว้น สำหรับพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนบางชนิด เช่น Di Piero และคณะ (2007) รายงานว่าฟิล์ม โคลโตซานมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำที่ต่ำมาก ($<0.5 \text{ cm}^3 \mu\text{m}^3 \text{ day Pa}$) แต่เมื่อผลิตเป็น ฟิล์มเชิงประกอบร่วมกับไฮโดรลิมินทำให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($>9.0 \text{ cm}^3 \mu\text{m}^3 \text{ day Pa}$)



รูปที่ 4.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสต่างๆ

สำหรับผลของการเติมทรานส์กลูตามิเนสต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน (รูปที่ 4.5 และตารางที่ ค.2) โดยทั่วไปพบว่าเมื่อความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสเพิ่มจาก 0 เป็น 4 หน่วย/g โปรตีน สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนอันเป็นผลจากการทำงานของทรานส์กลูตามิเนสทำให้โมเลกุลโปรตีนมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะจับตัวกันแบบหลวมๆ ส่งผลให้ช่องว่างระหว่างโมเลกุลมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น จึงทำให้ไอน้ำสามารถแพร่ผ่านได้ง่ายขึ้น (Lieberman and Gilbert, 1973; Tomasula, Yee and Parris, 2003; Chambi and Grosso,

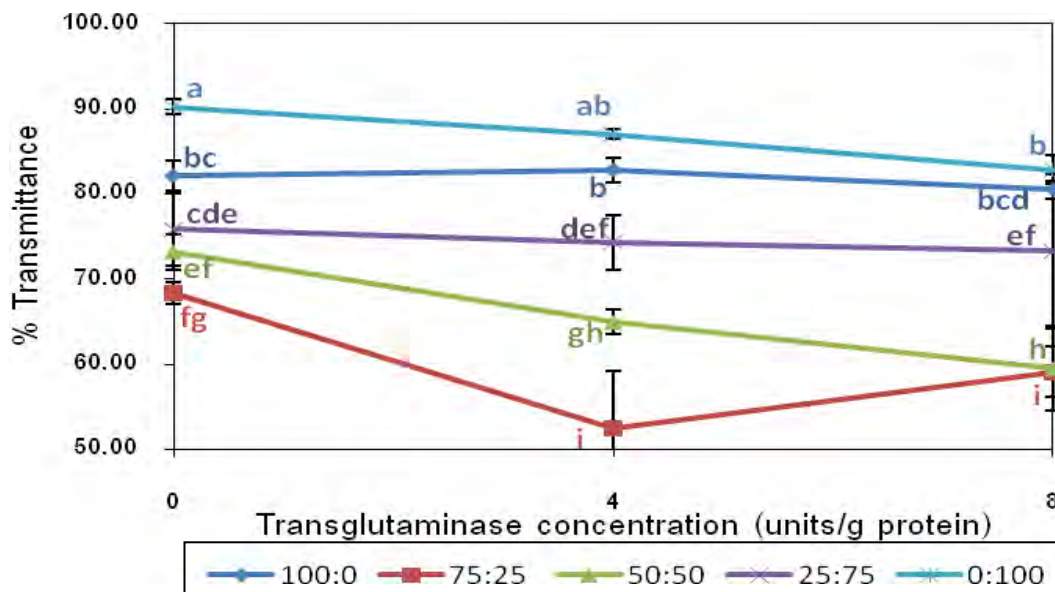
2006) อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของทรานส์กลูทามิเนสเพิ่มขึ้นจาก 4 เป็น 8 หน่วย/g โปรตีน สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มมีค่าค่อนข้างคงที่ Chambi และ Grosso (2006) รายงานว่าฟิล์มเชิงประกอบจากเคซีนและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูทามิเนสมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำสูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) Yildirim และ Hettiarachchy (1998) และ Tang และคณะ (2005) รายงานผลในทำนองเดียวกันสำหรับฟิล์มเวย์โปรตีนสกัดและฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดตามลำดับ อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่ามีการรายงานที่หลากหลายในแง่ผลของทรานส์กลูทามิเนสต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีน โดย Carvalho และ Grosso (2004) รายงานว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินมีค่าลดลงเมื่อเติมทรานส์กลูทามิเนส เช่นเดียวกับ Di Pierro และคณะ (2005, 2006, 2007) ที่รายงานถึงการลดลงของสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเมื่อเติมทรานส์กลูทามิเนสในฟิล์มเชิงประกอบจากโคโคซานและเวย์โปรตีน ฟิล์มเชิงประกอบจากโคโคซานและโอวัลบูมิน และฟิล์มเชิงประกอบจากเพกตินและแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน ในขณะที่ Yi และคณะ (2006) และ Bae และคณะ (2009) รายงานว่าการเติมทรานส์กลูทามิเนสไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินปลาและฟิล์มเชิงประกอบของเจลาตินปลาและนาโนเคลย์ตามลำดับ Di Pierro และคณะ (2007) เสนอว่าการที่สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าลดต่ำลงเมื่อเติมทรานส์กลูทามิเนสอาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติความชอบน้ำของฟิล์ม โดยการเชื่อมข้ามของทรานส์กลูทามิเนส (รูปที่ 2.4) มีผลให้หมู่อะมิโนปฐมภูมิและหมู่เอมีดซึ่งมีสมบัติชอบน้ำมีปริมาณลดลง ในขณะที่พันธะเอมีดทุติยภูมิที่เกิดขึ้นมีสมบัติความชอบน้ำที่ต่ำกว่า จึงทำให้ฟิล์มสามารถต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น จึงอาจสรุปได้ว่าการเติมทรานส์กลูทามิเนสมีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนที่แตกต่างกันขึ้นกับธรรมชาติของโปรตีนแต่ละชนิด ทั้งนี้ขนาดของโมเลกุลโปรตีนที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากการเชื่อมข้ามของทรานส์กลูทามิเนสและสมดุลของสมบัติความชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ (hydrophilic/hydrophobic balance) ของโมเลกุลโปรตีนดังกล่าวเป็นปัจจัยมีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

4.1.6 ความโปร่งแสง

สำหรับงานวิจัยนี้วัดความโปร่งแสงของฟิล์มในรูปของร้อยละของแสงที่ส่องผ่าน ตัวอย่างฟิล์มที่บรรจุอยู่ในควีเว็ตต์ โดยกำหนดให้ร้อยละของแสงที่ส่องผ่านควีเว็ตต์เปล่า (ควีเว็ตต์ที่มีอากาศภายใน) มีค่าเท่ากับ 100 รูปที่ 4.6 และตารางที่ ค.2 แสดงร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน พบว่าค่าแสงส่องผ่านของตัวอย่างฟิล์มอยู่ในช่วง 52.43- 90.27% ตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 100:0 และ 0:100 มีค่าแสงส่องผ่านสูงกว่าฟิล์มที่ประกอบด้วยทั้งโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน โดยฟิล์มเจลาติน (SPI:G

เท่ากับ 0:100) มีค่าแสงส่องผ่านสูงกว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI:G เท่ากับ 100:0) ทั้งนี้เนื่องมาจากธรรมชาติที่ต่างกันของโปรตีนแต่ละชนิด โดยเจลาตินยังมีโครงสร้างเป็นเส้นตรง (Simon-Lukasik and Ludescher, 2004) จึงทำให้เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายที่เป็นระเบียบสูงกว่า ในขณะที่โปรตีนถั่วเหลืองสกัดประกอบด้วยโปรตีนชนิดโกลบูลินเป็นหลัก (Wijeratne, 1993; Cho and Rhee, 2004) จึงมีโครงสร้างที่เป็นระเบียบต่ำกว่า ส่งผลให้ฟิล์มเจลาตินมีความโปร่งแสงมากกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินมีค่าแสงส่องผ่านต่ำกว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและฟิล์มเจลาติน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนต่างชนิดทำให้เกิดเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ จึงมีผลให้แสงสามารถส่องผ่านได้น้อยลง (Denavi *et al.*, 2009) เมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น ค่าแสงส่องผ่านของฟิล์มเชิงประกอบมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Cao และคณะ (2007) ซึ่งรายงานว่ฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินมีค่าความขุ่น (opacity) ลดลงเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม Shi และ Tan (2004) รายงานว่ฟิล์มเชิงประกอบจากโคโตซานและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของโคโตซานต่อเจลาตินตั้งแต่ 100:0 ถึง 50:50 มีค่าแสงส่องผ่านไม่แตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาผลของการเติมแทนส์กลูทามิเนส พบว่เมื่อความเข้มข้นของแทนส์กลูทามิเนสเพิ่มสูงขึ้น ค่าแสงส่องผ่านตัวอย่างฟิล์มโดยทั่วไปมีค่าลดลงเล็กน้อย (รูปที่ 4.6 และตารางที่ ค.2) ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างสายโปรตีนหรือการรวมตัวกัน (aggregation) ของโปรตีนที่เกิดจากการทำงานของแทนส์กลูทามิเนส (Tang *et al.*, 2005) Yi และคณะ (2006) รายงานว่ฟิล์มเจลาตินปลาที่เติมแทนส์กลูทามิเนสมีความขุ่นสูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมเอนไซม์ และก่อนหน้านี้ Tang และคณะ (2005) รายงานว่ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมแทนส์กลูทามิเนสมีความโปร่งแสงสูงกว่าฟิล์มที่เติมเอนไซม์



รูปที่ 4.6 ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่อัตราส่วนของโปรตีนและความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสต่างๆ

4.2 ผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน

การวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมหรือไม่เติมทรานส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์ โดยแปรอัตราส่วนของ SPI:G เป็น 5 อัตราส่วน ได้แก่ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 แปรความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน และแปรความเข้มข้นของทรานส์กลูตามิเนสเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน วิเคราะห์สมบัติของฟิล์ม ได้แก่ ความหนา ปริมาณความชื้น TS EB ความโปร่งแสง และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ รูปของฟิล์มที่ผลิตได้แสดงในภาคผนวก ข.2

4.2.1 ความหนา

ตารางที่ 4.1 แสดงผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่มีต่อความหนาของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน จากการทดลองโดยทั่วไปพบว่าความหนาของตัวอย่างฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มจาก 55 เป็น 60% และเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นเป็น 65% ความหนามีค่าไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ตามที่ Cuq และคณะ (1997) เสนอว่าปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อความหนาของฟิล์มคือปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ซึ่งสำหรับตัวอย่างฟิล์มในงานวิจัยนี้ของแข็งที่ละลายได้หลัก ได้แก่ โปรตีนและกลีเซอรอล ความหนา

ของฟิล์มจึงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ปริมาณกรด เกิดทรัพย์ (2545) รายงานผลที่สอดคล้องกันโดยพบว่าความหนาของฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากน้ำล้างปลา มีความหนาเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Vanin และคณะ (2005) รายงานผลในทำนองเดียวกันสำหรับฟิล์มเจลาติน

ตารางที่ 4.1 ความหนา (mm) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ

SPI:G	กลีเซอรอล (%)	แทรนส์กลูตามิเนส (หน่วย/g โปรตีน)		
		0	4	8
100:0 ^{ns}	55	0.096 ^{cdef} ±0.004	0.105 ^{def} ±0.003	0.110 ^{bc} ±0.003
75:25		0.094 ^{Cef} ±0.001	0.105 ^{Bdef} ±0.001	0.109 ^{Acde} ±0.001
50:50 ^{ns}		0.098 ^{bcde} ±0.001	0.100 ^f ±0.007	0.101 ^g ±0.001
25:75 ^{ns}		0.103 ^{ab} ±0.002	0.104 ^{ef} ±0.001	0.104 ^{fg} ±0.001
0:100		0.093 ^{Bfg} ±0.001	0.093 ^{Bg} ±0.002	0.105 ^{Adefg} ±0.001
100:0	60	0.102 ^{Bab} ±0.001	0.116 ^{Ab} ±0.000	0.115 ^{Aab} ±0.001
75:25		0.103 ^{Cab} ±0.001	0.123 ^{Aa} ±0.001	0.117 ^{Ba} ±0.000
50:50 ^{ns}		0.100 ^{abc} ±0.000	0.114 ^{bc} ±0.002	0.108 ^{cdef} ±0.006
25:75		0.094 ^{Bdefg} ±0.001	0.113 ^{Abc} ±0.001	0.111 ^{Abc} ±0.001
0:100		0.076 ^{Bh} ±0.000	0.108 ^{Adeg} ±0.001	0.105 ^{Adefg} ±0.002
100:0 ^{ns}	65	0.104 ^a ±0.001	0.106 ^{def} ±0.001	0.105 ^{defg} ±0.002
75:25		0.101 ^{Babc} ±0.001	0.100 ^{Bf} ±0.000	0.110 ^{Accl} ±0.001
50:50		0.099 ^{Babcd} ±0.003	0.110 ^{Accl} ±0.003	0.107 ^{Acdef} ±0.001
25:75 ^{ns}		0.093 ^{efg} ±0.006	0.100 ^f ±0.003	0.105 ^{defg} ±0.002
0:100		0.090 ^{Bg} ±0.001	0.104 ^{Aef} ±0.001	0.104 ^{Aefg} ±0.000

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

A, B, C ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a, b, c,... ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4.2.2 ปริมาณความชื้น

ปริมาณความชื้นของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่แปรความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณความชื้นของฟิล์มเชิงประกอบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากกลีเซอรอลมีหมู่ไฮดรอกซิลที่มีสมบัติชอบน้ำอยู่มากจึงเก็บกักน้ำไว้ได้ในปริมาณสูง (Cho and Rhee, 2002) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Cao และคณะ (2007) ซึ่งรายงานว่าเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ปริมาณความชื้นของฟิล์มเจลาตินมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งก่อนหน้านี้ Mahmoud และ Savello (1992) รายงานในทำนองเดียวกันสำหรับฟิล์มเวย์โปรตีน

ตารางที่ 4.2 ปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนักสด) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของ กลีเซอรอลระดับต่างๆ

SPI:G	กลีเซอรอล (%)	แพนรังก์กุกูทามิเนส (หน่วย/g โปรตีน)		
		0	4	8
100:0	55	21.47 ^{Adef} ±0.40	20.78 ^{Ad} ±0.58	17.64 ^{Bgh} ±1.00
75:25		20.14 ^{Af} ±0.14	18.38 ^{Bfg} ±0.57	18.95 ^{Bdef} ±0.64
50:50		20.07 ^{Af} ±0.22	19.33 ^{Bef} ±0.16	18.49 ^{Cefg} ±0.28
25:75		20.77 ^{Af} ±0.32	18.08 ^{Bfg} ±0.34	17.88 ^{Bfgh} ±0.34
0:100 ^{ns}		17.92 ^g ±1.10	17.50 ^g ±1.05	15.75 ⁱ ±0.37
100:0	60	22.68 ^{Acde} ±0.87	20.96 ^{Bd} ±0.55	19.75 ^{Ccde} ±0.03
75:25		22.72 ^{Acde} ±0.37	20.71 ^{Bd} ±0.93	19.36 ^{Ccde} ±0.23
50:50		21.74 ^{Adef} ±0.08	20.90 ^{Ad} ±0.84	19.30 ^{Bcde} ±0.20
25:75		21.63 ^{Adef} ±2.00	19.36 ^{ABef} ±0.93	18.01 ^{Bfg} ±0.06
0:100		20.55 ^{Aef} ±0.52	18.24 ^{Bfg} ±0.46	16.81 ^{Ch} ±0.03
100:0 ^{ns}	65	29.47 ^a ±2.08	26.68 ^a ±1.28	25.93 ^a ±1.09
75:25 ^{ns}		24.94 ^b ±1.51	24.89 ^b ±0.32	23.14 ^b ±0.71
50:50		24.44 ^{Abc} ±1.38	24.32 ^{Ab} ±0.24	20.18 ^{Bc} ±0.82
25:75		23.68 ^{Abcd} ±1.76	22.55 ^{ABc} ±0.76	20.13 ^{Bc} ±0.90
0:100 ^{ns}		21.78 ^d ±1.90	20.53 ^{de} ±0.35	19.28 ^{cde} ±0.82

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

A, B, C ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a, b, c,...ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4.2.3 ความต้านทานแรงดึงขาด

ตารางที่ 4.3 แสดง TS ของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่แปรความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น TS ของฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากกลีเซอรอลซึ่งมีขนาดโมเลกุลที่เล็กกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนจะสามารถแทรกเข้าไปอยู่ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนได้ และมีผลขัดขวางการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนซึ่งทำให้ความแข็งแรงของฟิล์มลดต่ำลง (Greener-Donhowe and Fennema, 1994) Cao และคณะ (2007) รายงานว่า TS ของฟิล์มเจลาตินมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น Cho และ Rhee (2002) และ Sobral, dos Santos and Garcia (2005) รายงานผลที่สอดคล้องกันสำหรับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและฟิล์มโปรตีนจากปลาชนิดที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ นอกจากนี้ยังมีรายงานในทำนองเดียวกันสำหรับพลาสติกไซเซอร์ชนิดอื่นๆ ตัวอย่างเช่น Bourtoom และคณะ (2006) รายงานว่า TS ของฟิล์มโปรตีนที่ละลายน้ำได้ซึ่งได้จากน้ำล้างปลาในกระบวนการผลิตซูริมีมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอล ซอร์บิทอล หรือพอลิเอทิลีนไกลคอลเพิ่มขึ้นในช่วง 25-75% โดยน้ำหนักของโปรตีน

4.2.4 การยึดตัวถึงจุดขาด

EB ของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่แปรความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.4 โดยทั่วไปพบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นจาก 55 เป็น 60% EB ของฟิล์มเชิงประกอบมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นเป็น 65% EB ของตัวอย่างฟิล์มส่วนใหญ่มีค่าค่อนข้างคงที่ ตามที่กล่าวแล้วว่ากลีเซอรอลซึ่งมีขนาดโมเลกุลที่เล็กมีความสามารถในการแทรกตัวอยู่ระหว่างโมเลกุลโปรตีน ซึ่งจะทำให้การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนลดลง (Greener-Donhowe and Fennema, 1994) มีผลให้ระยะห่างระหว่างโมเลกุลโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นฟิล์มจึงมีความยืดหยุ่นมากขึ้น (Lieberman and Gilbert, 1973) Cao และคณะ (2007) รายงานว่า EB ของฟิล์มเจลาตินมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น Cho และ Rhee (2002) และ Sobral และคณะ (2005) รายงานผลที่สอดคล้องกันสำหรับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและฟิล์มโปรตีนจากปลาชนิดที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ นอกจากนี้ยังมีรายงานในทำนองเดียวกันสำหรับพลาสติกไซเซอร์ ชนิดอื่นๆ ตัวอย่างเช่น Bourtoom และคณะ (2006) รายงานว่า EB ของฟิล์มโปรตีนที่ละลายน้ำได้ซึ่งได้จากน้ำล้างปลาในกระบวนการผลิตซูริมีมีค่า

เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอล ซอร์บิทอล หรือพอลิเอทิลีนไกลคอลเพิ่มขึ้นในช่วง 25-75% โดยน้ำหนักของโปรตีน

ตารางที่ 4.3 ความต้านทานแรงดึงขาด (MPa) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน ที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ

SPI:G	กลีเซอรอล (%)	แทรนส์กลูตามีน (หน่วย/g โปรตีน)		
		0	4	8
100:0	55	1.47 ^{Bfgh} ±0.16	1.71 ^{Bcdefg} ±0.11	2.66 ^{Abc} ±0.24
75:25		1.54 ^{Befg} ±0.37	1.84 ^{Bcde} ±0.12	2.74 ^{Abc} ±0.63
50:50		1.74 ^{Bdef} ±0.47	1.96 ^{Bbcd} ±0.21	2.86 ^{Aabc} ±0.36
25:75 ^{ns}		2.09 ^{bcd} ±0.23	2.27 ^{abc} ±0.84	2.91 ^{abc} ±0.37
0:100 ^{ns}		2.72 ^a ±0.18	2.72 ^a ±0.39	3.44 ^a ±0.45
100:0	60	0.50 ^{Bk} ±0.02	1.24 ^{Afg} ±0.15	1.34 ^{Aef} ±0.20
75:25		1.08 ^{Bhij} ±0.38	1.34 ^{Aefg} ±0.20	1.85 ^{Adef} ±0.26
50:50		1.41 ^{Bfghi} ±0.03	1.82 ^{ABcdef} ±0.09	1.98 ^{Ade} ±0.37
25:75		1.92 ^{Bbcde} ±0.42	2.20 ^{ABabcd} ±0.24	2.69 ^{Abc} ±0.28
0:100		2.34 ^{Bab} ±0.08	2.67 ^{ABa} ±0.16	3.14 ^{Aab} ±0.64
100:0	65	0.94 ^{Bj} ±0.03	1.14 ^{ABg} ±0.14	1.22 ^{Af} ±0.09
75:25 ^{ns}		0.99 ^{ij} ±0.01	1.20 ^{fg} ±0.35	1.51 ^{ef} ±0.32
50:50		1.17 ^{Bghij} ±0.09	1.60 ^{Adefg} ±0.10	1.77 ^{Aef} ±0.20
25:75		1.82 ^{Bcdef} ±0.08	2.03 ^{ABbcd} ±0.48	2.43 ^{Ac} ±0.11
0:100		2.21 ^{Bbc} ±0.05	2.50 ^{ABab} ±0.15	2.78 ^{Abc} ±0.26

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

A, B ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a, b, c, ... ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.4 การยืดตัวถึงจุดขาด (%) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน ที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ

SPI:G	กลีเซอรอล (%)	แทรนส์กลูตามิเนส (หน่วย/g โปรตีน)		
		0	4	8
100:0	55	69.32 ^{Cg} ±0.32	109.78 ^{Bh} ±0.51	138.12 ^{Ahi} ±1.69
75:25		70.39 ^{Cg} ±1.32	116.19 ^{Bh} ±1.96	152.47 ^{Agh} ±2.64
50:50		74.31 ^{Cg} ±1.21	141.38 ^{Bef} ±3.62	166.47 ^{Afg} ±2.47
25:75		74.67 ^{Cg} ±4.89	149.57 ^{Be} ±1.81	178.52 ^{Aef} ±0.48
0:100		94.99 ^{Cf} ±2.74	171.11 ^{Bd} ±2.59	191.86 ^{Ade} ±1.65
100:0	60	121.28 ^{Bd} ±2.53	132.74 ^{Bfg} ±36.35	162.50 ^{Af} ±12.74
75:25		125.24 ^{Cd} ±0.62	168.81 ^{Bd} ±14.23	189.98 ^{Ade} ±12.43
50:50		131.42 ^{Cc} ±0.30	184.18 ^{Bc} ±14.15	203.52 ^{Ac} ±7.95
25:75		133.72 ^{Bc} ±1.86	204.52 ^{Ab} ±5.08	217.59 ^{Abc} ±11.24
0:100		145.75 ^{Cb} ±3.14	252.35 ^{Aa} ±2.39	230.32 ^{Bab} ±6.58
100:0	65	94.00 ^{Cf} ±8.26	111.59 ^{Bh} ±0.47	127.28 ^{Ai} ±4.61
75:25		106.55 ^{Ce} ±1.40	130.55 ^{Bg} ±0.10	159.39 ^{Ag} ±2.23
50:50		107.20 ^{Be} ±2.72	141.84 ^{Aef} ±1.21	161.65 ^{Afg} ±36.24
25:75		111.88 ^{Ce} ±3.33	169.72 ^{Bd} ±1.80	187.98 ^{Ade} ±3.85
0:100		199.31 ^{Ba} ±7.32	179.41 ^{Ccd} ±0.13	242.54 ^{Aa} ±0.73

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

A, B, C ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a, b, c,...ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.2.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

ตารางที่ 4.5 แสดงผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่มีต่อสภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน โดยทั่วไปพบว่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลไม่มีผลต่อสภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยตัวอย่างฟิล์มมีสภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำในช่วง 0.0287-0.0389 g mm/m² h Pa อย่างไรก็ตามจาก

งานวิจัยที่ผ่านมา มีรายงานที่หลากหลายในแง่ผลของความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์ต่อสภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์ม Mahmoud และ Savello (1992) รายงานว่าความเข้มข้นของกลีเซอรอล ไม่มีผลต่อสภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเวียโปรตีน ในขณะที่ Vanin และคณะ (2005) และ Rivero, Garcia และ Pinotti (2009) รายงานว่าสภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเจลาตินมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มสูงขึ้น McHugh และคณะ (1994) เสนอว่าสภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำที่เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์เพิ่มขึ้นนี้เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของระยะห่างระหว่างโมเลกุลโปรตีน อย่างไรก็ตาม ตามที่ได้กล่าวไว้แล้วว่ามีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อสภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์ม ได้แก่ ขนาดและธรรมชาติของโมเลกุลโปรตีนซึ่งส่งผลต่อการรวมตัวกันของโปรตีน สมดุลของสมบัติความชอบน้ำและความไม่ชอบน้ำของโมเลกุลโปรตีน รวมทั้งสารเจือปนอื่นที่เติมลงในฟิล์ม สำหรับผลที่ได้จากงานวิจัยนี้อาจเนื่องมาจากการที่มีปัจจัยอื่นนอกเหนือจากผลของระยะห่างระหว่างโมเลกุลโปรตีน เช่น สมดุลของสมบัติความชอบน้ำและความไม่ชอบน้ำ ร่วมมีผลต่อการซึมผ่านของไอน้ำ ทำให้ไม่พบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลในความเข้มข้นที่ต่างกัน

4.2.6 ความโปร่งแสง

ตารางที่ 4.6 แสดงผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่มีต่อค่าแสงส่องผ่านของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างฟิล์มชนิดเดียวกับที่เติมกลีเซอรอลเข้มข้นต่างกันมีค่าแสงส่องผ่านใกล้เคียงกัน ผลที่ได้นี้แตกต่างจากรายงานของ Sobral และคณะ (2005) ซึ่งพบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น ความโปร่งแสงของฟิล์มจากปลานิลมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น Paschoalick และคณะ (2003) และ Vanin และคณะ (2005) เสนอว่าการที่ฟิล์มมีความโปร่งแสงเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากปัจจัยสองประการคือปริมาณความชื้นที่สูงขึ้น และความเข้มข้นโปรตีนที่ลดต่ำลง (dilution effect) สำหรับผลที่แตกต่างไปของงานวิจัยนี้อาจเนื่องมาจากการที่อันตรกิริยาระหว่างโปรตีนในฟิล์มทำให้เกิดเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ซึ่งอาจมีผลต่อค่าแสงส่องผ่านมากกว่าจนบดบังผลของความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์ ทำให้ไม่พบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่เติมพลาสติกไซเซออร์เข้มข้นต่างกัน

ตารางที่ 4.5 สภาพให้ผ่านได้ของไอน้ำ ($\text{g mm/ m}^2 \text{ h Pa}$) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด และเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ

SPI:G	กลีเซอรอล (%)	ทรานส์กลูทามิเนส (หน่วย/g โปรตีน)		
		0 ^{ns}	4 ^{ns}	8 ^{ns}
100:0 ^{ns}	55	0.0323±0.0011	0.0323±0.0011	0.0365±0.0002
75:25 ^{ns}		0.0319±0.0002	0.0337±0.0011	0.0348±0.0000
50:50 ^{ns}		0.0312±0.0008	0.0367±0.0034	0.0336±0.0008
25:75 ^{ns}		0.0319±0.0043	0.0342±0.0040	0.0347±0.0021
0:100 ^{ns}		0.0299±0.0022	0.0316±0.0004	0.0341±0.0010
100:0 ^{ns}	60	0.0300±0.0021	0.0368±0.0021	0.0364±0.0012
75:25 ^{ns}		0.0303±0.0005	0.0389±0.0054	0.0389±0.0033
50:50 ^{ns}		0.0287±0.0007	0.0327±0.0028	0.0385±0.0023
25:75 ^{ns}		0.0292±0.0004	0.0347±0.0002	0.0357±0.0023
0:100 ^{ns}		0.0289±0.0001	0.0365±0.0028	0.0341±0.0047
100:0 ^{ns}	65	0.0309±0.0023	0.0352±0.0004	0.0364±0.0012
75:25 ^{ns}		0.0310±0.0004	0.0338±0.0004	0.0389±0.0033
50:50 ^{ns}		0.0314±0.0018	0.0352±0.0029	0.0385±0.0023
25:75 ^{ns}		0.0309±0.0006	0.0354±0.0006	0.0357±0.0023
0:100 ^{ns}		0.0274±0.0006	0.0314±0.0018	0.0341±0.0047

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

^{ns} ค่าเฉลี่ยในแถว/สดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.6 ค่าแสงส่องผ่าน (%) ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอลระดับต่างๆ

SPI:G	กลีเซอรอล (%)	แทรนส์กลูตามิเนส (หน่วย/g โปรตีน)		
		0	4	8
100:0 ^{ns}	55	83.26±1.07 ^c	82.41±0.85 ^b	83.02±0.32 ^a
75:25		57.76±1.18 ^{Ah}	53.98±1.53 ^{Be}	51.07±2.00 ^{Bd}
50:50 ^{ns}		69.40±5.30 ^{ef}	65.53±1.64 ^d	63.90±0.26 ^c
25:75		81.03±0.53 ^{Ac}	73.19±1.59 ^{Bc}	71.03±0.88 ^{Bc}
0:100		89.26±0.25 ^{Aa}	86.68±0.80 ^{Ba}	84.71±1.96 ^{Ba}
100:0 ^{ns}	60	82.12±1.76 ^c	82.81±1.46 ^b	80.51±1.09 ^a
75:25		68.40±1.28 ^{Af}	52.52±6.80 ^{Be}	52.43±2.98 ^{Bd}
50:50		73.26±2.10 ^{Ade}	65.01±1.50 ^{Bd}	59.58±5.00 ^{Bc}
25:75 ^{ns}		75.87±4.22 ^d	74.39±3.20 ^c	73.30±9.01 ^b
0:100		90.27±0.87 ^{Aa}	87.06±0.57 ^{Ba}	82.89±1.75 ^{Ca}
100:0	65	85.05±0.65 ^{Abc}	81.83±0.70 ^{Bb}	81.79±0.63 ^{Ba}
75:25		64.23±4.03 ^{Ag}	54.21±0.87 ^{Be}	44.85±1.02 ^{Ce}
50:50		74.00±2.51 ^{Ad}	63.12±1.31 ^{Bd}	52.10±1.48 ^{Cd}
25:75		76.17±1.48 ^{Ad}	75.61±2.34 ^{Ac}	69.04±1.17 ^{Bb}
0:100		88.61±0.59 ^{Aab}	87.47±0.38 ^{Aa}	85.32±1.44 ^{Ba}

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

A, B, C ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

a, b, c, ... ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จากผลการศึกษาค้นคว้าที่ได้จึงเลือกตัวอย่างฟิล์มที่มี TS และ EB สูง เนื่องจากเป็นสมบัติที่สำคัญในการนำฟิล์มไปใช้ห่อหุ้มผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อนำมาศึกษาพฤติกรรมการดูดความชื้นต่อไป (4.4) พบว่าฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีค่า TS สูงพร้อมกับมีค่า EB สูงได้แก่ฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 ซึ่งเติมกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนและแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน โดยตัวอย่างฟิล์มดังกล่าวมีค่า TS และ EB เท่ากับ 2.59 MPa และ 217.59% ตามลำดับ สำหรับการศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (4.5) เพื่อเป็นการศึกษา

ผลของอัตราส่วนของ SPI:G ความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนส และความเข้มข้นของกลีเซอรอล จึงเลือกฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 และ 75:25 ซึ่งเติมแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน และกลีเซอรอลเข้มข้น 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน

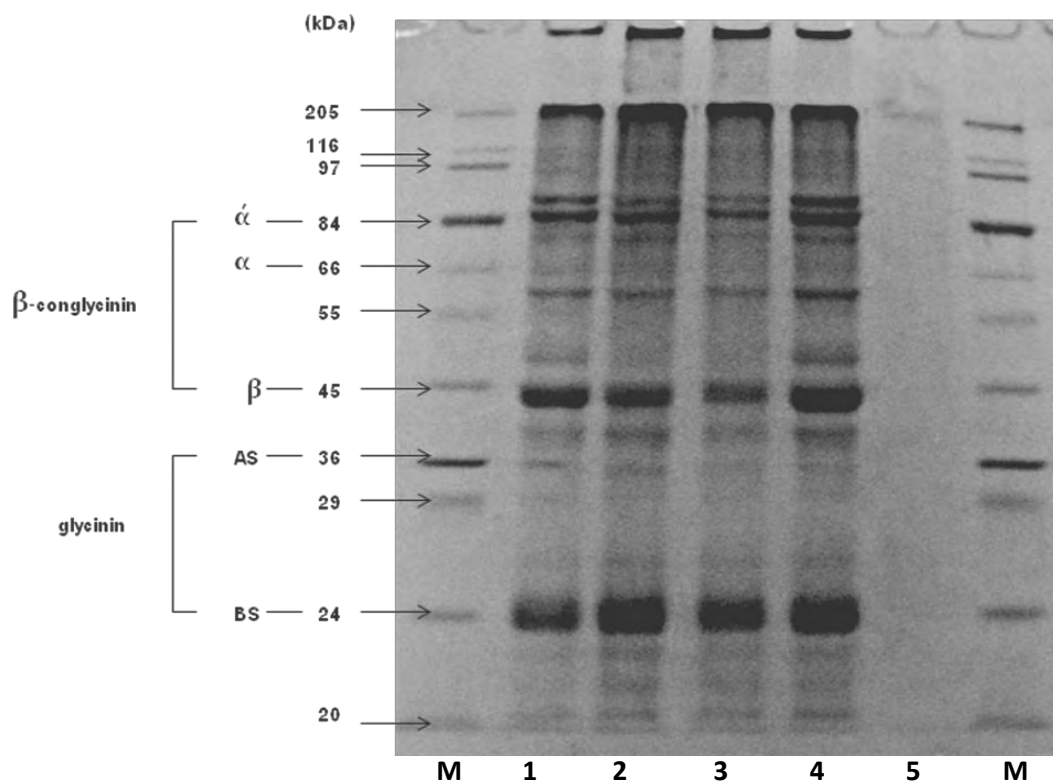
4.3 รูปแบบของแถบโปรตีนของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน ที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์

รูปแบบของแถบโปรตีนของฟิล์มเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 ซึ่งเติมแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน แสดงดังรูปที่ 4.7 (ช่องที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ) พบว่าการเติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแถบโปรตีน โดยแถบโปรตีนที่ตำแหน่งน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 84, 66 และ 45 kDa มีความเข้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเพิ่มสูงขึ้น โดยแถบโปรตีนดังกล่าวคือหน่วยย่อยของเบต้า-คอนโกลิซินินของถั่วเหลือง ได้แก่ หน่วยย่อยแอลฟาไพรม์ แอลฟา และเบต้า ตามลำดับ (Tang *et al.*, 2006) ในทำนองเดียวกัน จากรูปที่ 4.7 พบว่าแถบโปรตีนที่ตำแหน่งน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 36 kDa มีความเข้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเพิ่มขึ้น ซึ่งแถบลักษณะนี้เป็นแถบโปรตีนของหน่วยย่อยที่เป็นกรด (acidic subunit, AS) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของโกลิซินิน (Tang *et al.*, 2006) เนื่องจากแทรนส์กลูตามิเนสทำหน้าที่เร่งการย้ายหมู่เอซิลของแกมมา-คาร์บอกซีเอมิคของหน่วยย่อยกลูตามิโนไปยังเอพิซิลอนอะมิโนของหน่วยย่อยไลซีน เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนที่เรียกว่า ϵ -(γ -glutamyl)lysine isopeptide bond ส่งผลให้โปรตีนมีขนาดใหญ่ขึ้น (Jiang *et al.*, 2007) จึงไม่สามารถเคลื่อนที่ผ่าน stacking gel ลงมาได้ โดยเห็นได้จากแถบโปรตีนที่อยู่ด้านบนของ stacking gel มีความเข้มเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.7, ช่องที่ 2 และ 3)

การเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนนั้นส่งผลต่อสมบัติของฟิล์ม โดยฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 4.3-4.4)

ส่วนแถบโปรตีนที่ตำแหน่งโมเลกุลประมาณ 24 kDa มีความเข้มของแถบโปรตีนไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 4.7, ช่องที่ 1, 2 และ 3) Tang และคณะ (2006) เสนอว่าแถบโปรตีนที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นหน่วยย่อยที่เป็นเบส (basic subunit, BS) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของโกลิซินิน โดยอธิบายว่า

การที่ความเข้มข้นของแถบโปรตีนไม่แตกต่างกันเมื่อเติมแทรนส์กลูตามิเนส เนื่องจาก BS มีตำแหน่งอยู่ด้านในของโครงสร้างของไกลซีน จึงไม่สามารถเข้าถึงแอคทีฟไซต์ของแทรนส์กลูตามิเนสได้ ส่งผลให้ความเข้มข้นของแถบ BS ไม่เปลี่ยนแปลง



รูปที่ 4.7 รูปแบบของแถบโปรตีนของฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน ช่องที่ 1, 2 และ 3 ได้แก่ตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 ที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน ตามลำดับ ช่องที่ 4 และ 5 ได้แก่ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (SPI:G เท่ากับ 100:0) ที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส และฟิล์มเจลาติน (SPI:G เท่ากับ 0:100) ที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส ตามลำดับ M คือโปรตีนมาตรฐาน AS คือหน่วยย่อยที่เป็นกรดของไกลซีน และ BS คือหน่วยย่อยที่เป็นเบสของไกลซีน

สำหรับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส (รูปที่ 4.7, ช่องที่ 4) พบว่ามีรูปแบบของแถบโปรตีนคล้ายกันกับฟิล์มเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อ เจลาตินเท่ากับ 25:75 ที่เติมแทรนส์กลูตามิเนส (รูปที่ 4.7, ช่องที่ 2 และ 3) แต่ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนสมีความเข้มข้นของแถบโปรตีนมากกว่า และเป็นที่น่าสังเกตว่าแถบโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 84, 66, 45 และ 36 kDa ของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีน

ถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสมีความเข้มข้นลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนสเนื่องจากการเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนที่เป็นผลจากการทำงานของแทรนส์กลูตามิเนส ในขณะที่ตัวอย่างฟิล์มเจลาติน (รูปที่ 4.7, ช่องที่ 5) พบแถบโปรตีนเกิดขึ้นที่ตำแหน่งโมเลกุลประมาณ 205 kDa ทั้งนี้เนื่องจากเจลาตินมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 200 kDa (Gómez-Guillén *et al.*, 2002)

ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mariniello และคณะ (2003) ซึ่งศึกษาผลของการเติมแทรนส์กลูตามิเนส (0.18, 0.75 และ 1.5 หน่วย/g โปรตีน) ในฟิล์มเชิงประกอบของเพกตินและแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน พบว่าเมื่อปริมาณแทรนส์กลูตามิเนสเพิ่มขึ้น แถบโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 84, 66, 45 และ 36 kDa มีความเข้มข้นลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมแทรนส์กลูตามิเนส เนื่องจากการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนส่งผลให้แถบโปรตีนขนาดใหญ่ (205 kDa) มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น

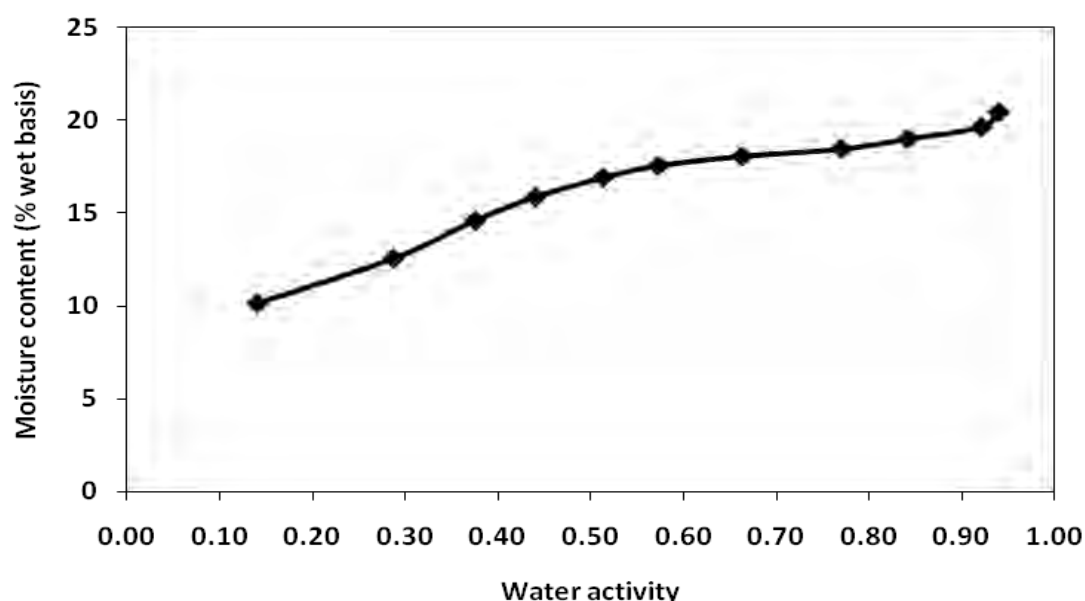
ความเข้มของแถบโปรตีนที่ลดลงจากการเติมแทรนส์กลูตามิเนสที่พบในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Jiang และคณะ (2007) ที่ศึกษาผลของการบ่มแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 20 หน่วย/g โปรตีน ในสารละลายฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด Jiang และคณะ (2007) ได้อธิบายเพิ่มเติมว่าการเติมแทรนส์กลูตามิเนส ทำให้แถบโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 84, 66, 45 และ 36 kDa มีความเข้มข้นอย่างชัดเจน เนื่องจากการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีน ส่งผลให้โปรตีนมีขนาดใหญ่ขึ้นซึ่งไม่สามารถผ่าน stacking gel ลงมาได้

4.4 พฤติกรรมการดูดความชื้นของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน

เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นของฟิล์มที่มีอัตราส่วน SPI:G เท่ากับ 25:75 ซึ่งเติมแทรนส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน และกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน แสดงดังรูปที่ 4.8 และตารางที่ ค.3

จากรูปที่ 4.8 พบว่าตัวอย่างฟิล์มเชิงประกอบมีรูปร่างของเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นเป็นรูปตัวเอส (S-shape) หรือ type II isotherm ซึ่งเป็นรูปแบบของเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นของตัวอย่างที่ประกอบด้วยโมเลกุลพอลิเมอร์ขนาดใหญ่และโมเลกุลตัวถูกละลายขนาดเล็กอยู่ร่วมกัน ตัวอย่างฟิล์มที่เก็บไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 14% (หรือวอเตอร์แอกทิวิตีเท่ากับ 0.14) มี

ปริมาณความชื้นเท่ากับ 10.12% โดยน้ำหนักสด เมื่อวอเตอร์แอกทิวิตีเพิ่มสูงขึ้น ตัวอย่างฟิล์มมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงวอเตอร์แอกทิวิตีประมาณ 0.50 หลังจากนั้นปริมาณความชื้นมีค่าค่อนข้างคงที่จนถึงวอเตอร์แอกทิวิตีประมาณ 0.85 และเมื่อวอเตอร์แอกทิวิตีเพิ่มสูงขึ้น ตัวอย่างฟิล์มกลับมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วอีกครั้งหนึ่ง ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างฟิล์มดังกล่าวสามารถนำไปใช้ได้กับอาหารประเภทความชื้นปานกลาง (intermediate moisture food) ซึ่งวอเตอร์แอกทิวิตีประมาณ 0.75 (Jangchud and Chinnan, 1999) เนื่องจากอยู่ในช่วงวอเตอร์แอกทิวิตีที่ตัวอย่างฟิล์มมีการเปลี่ยนแปลงความชื้นในอัตราที่ต่ำ



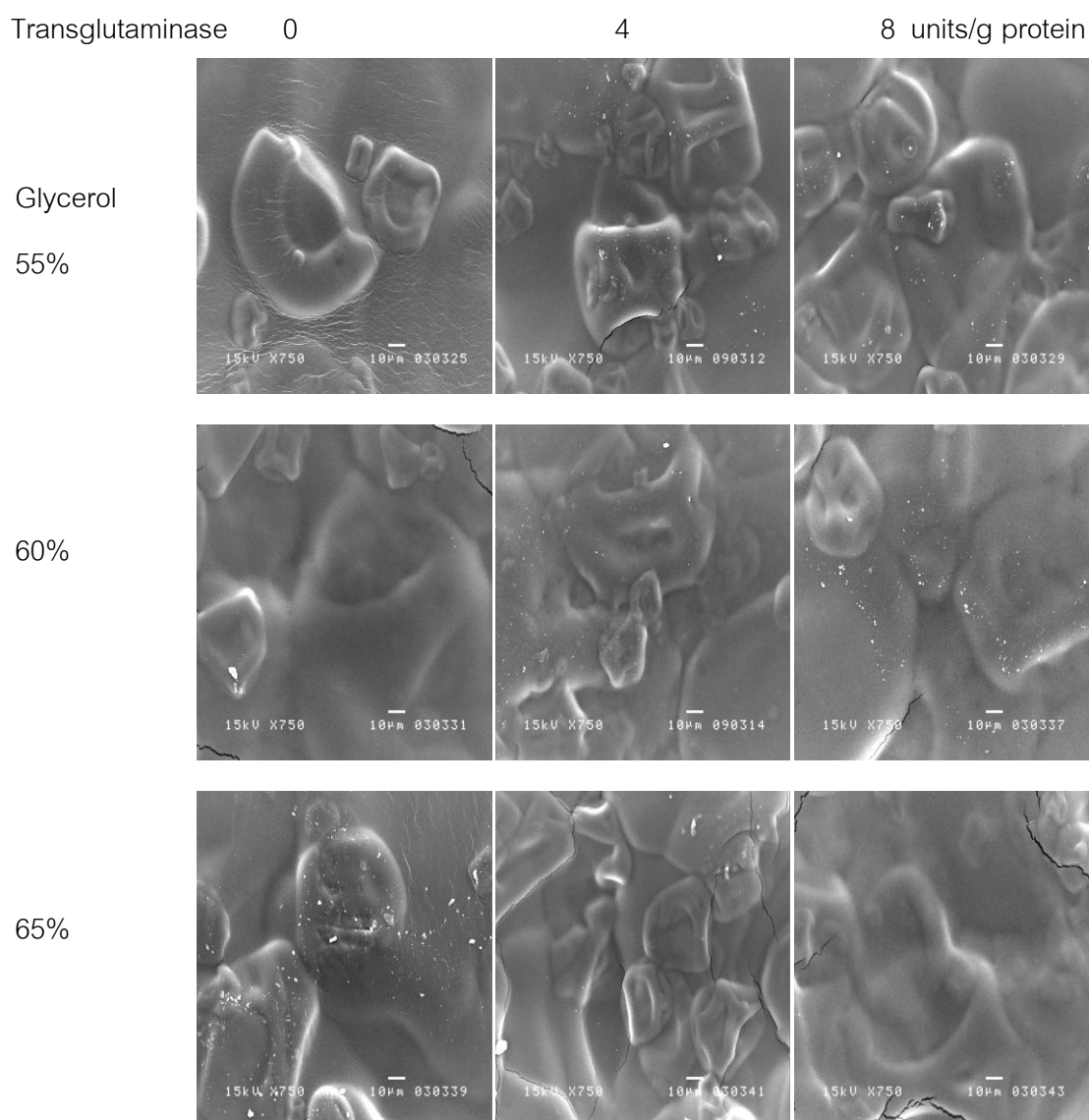
รูปที่ 4.8 เส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 °C ของฟิล์มเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 ซึ่งเติมแทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน และกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน

4.5 ลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน

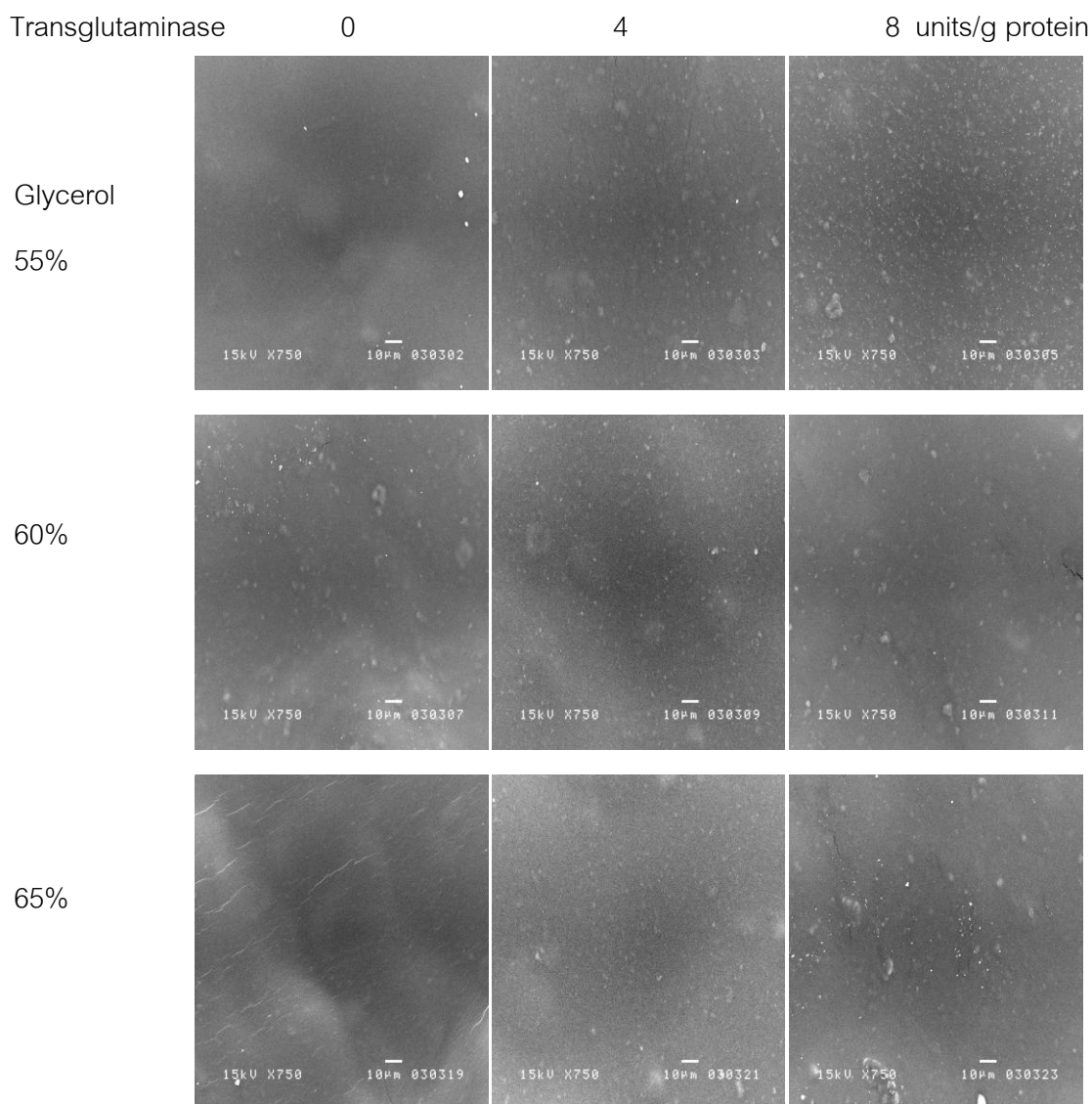
รูปที่ 4.9 และ 4.10 แสดงลักษณะพื้นผิวของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25 และ 25:75 ตามลำดับ รูปในแถวแนวตั้งเดียวกันคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสที่ความเข้มข้นเท่ากัน ส่วนรูปในแถวแนวนอนเดียวกันคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นเท่ากัน

จากการศึกษาลักษณะพื้นผิวของฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25 (รูปที่ 4.9) พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีลักษณะพื้นผิวที่ไม่เรียบ ส่วนฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 (รูปที่ 4.10) มีลักษณะพื้นผิวที่เรียบกว่าอย่างเห็นได้ชัดเจน Cao และคณะ (2007) อธิบายว่าในกระบวนการผลิตโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีขั้นตอนการตกตะกอนโปรตีนที่ค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 4.5 (จุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนถั่วเหลือง) ซึ่งทำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติและเกิดการรวมตัวกัน (aggregation) ของโปรตีน ส่งผลให้โปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ได้มีขนาดอนุภาคที่ใหญ่และมีความสามารถในการละลายที่จำกัด ตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดสูงจึงมีอนุภาคของโปรตีนถั่วเหลืองปรากฏอยู่ที่พื้นผิว Chambi และ Grosso (2006) รายงานว่าเมื่อศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดที่กำลังขยาย 4000 เท่า ฟิล์มเจลาตินมีลักษณะพื้นผิวที่เป็นเส้นใยซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของไฟบริลของคอลลาเจน และเสนอว่าโครงสร้างที่มีความเป็นระเบียบสูงดังกล่าวส่งผลให้ฟิล์มเจลาตินมีค่า TS และ EB ที่สูง ในทำนองเดียวกันจากงานวิจัยนี้พบว่า TS และ EB มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินในฟิล์มเชิงประกอบเพิ่มสูงขึ้น (4.1.3 และ 4.1.4)

สำหรับผลของการเติมแทรนส์กลูตามิเนสและกลีเซอรอลต่อลักษณะพื้นผิวของตัวอย่างฟิล์ม พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างตัวอย่างฟิล์มที่เติมแทรนส์กลูตามิเนสหรือกลีเซอรอลในระดับที่ต่างกัน (รูปที่ 4.9 และ 4.10) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทำงานของแทรนส์กลูตามิเนสและการเติมกลีเซอรอลมีผลในระดับโมเลกุล กล่าวคือแทรนส์กลูตามิเนสช่วยให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีน ในขณะที่กลีเซอรอลเข้าไปแทรกตัวอยู่ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน จึงไม่สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างได้จากการศึกษาโดยใช้กำลังขยายที่ต่ำ

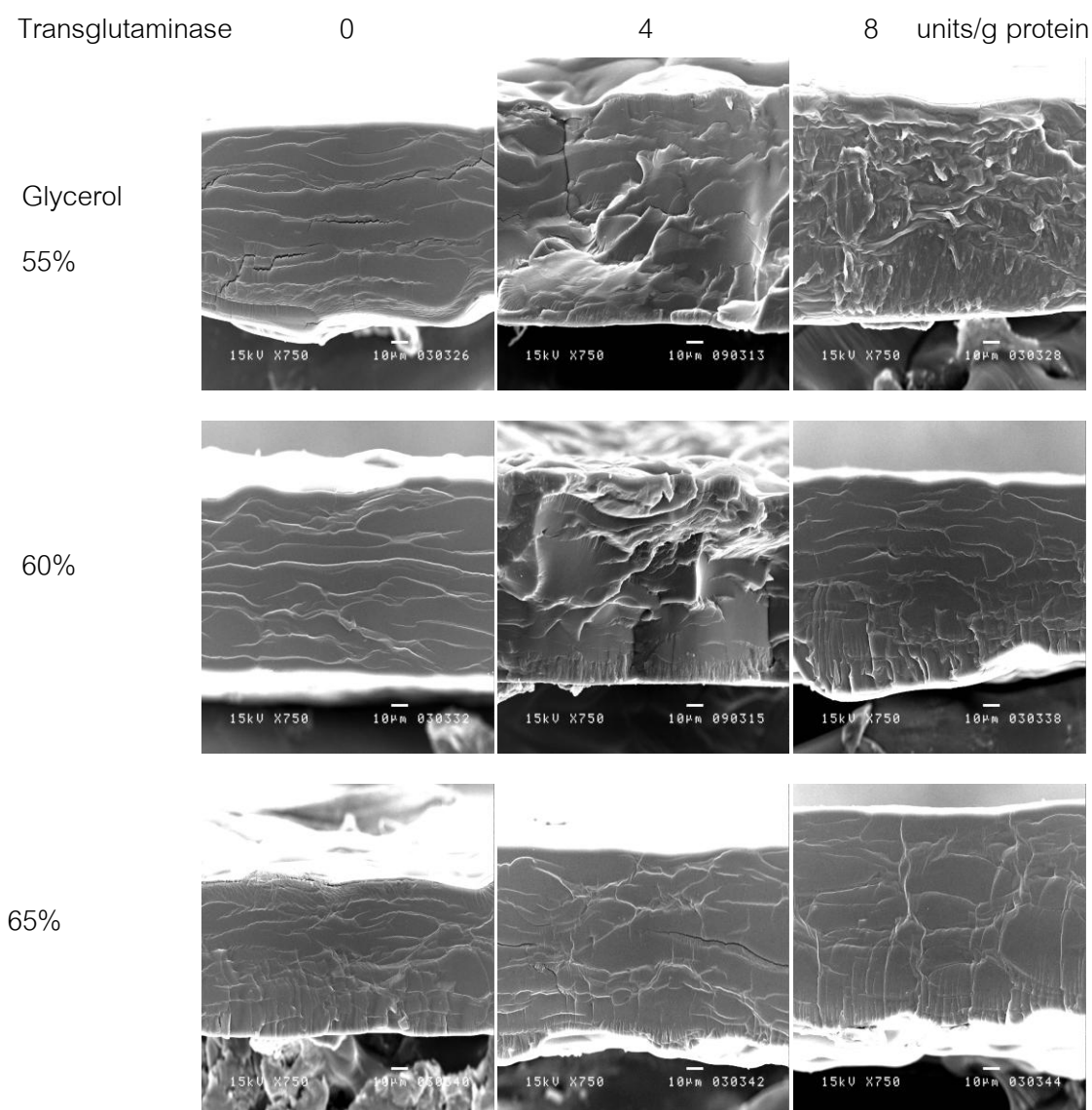


รูปที่ 4.9 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มแข็งประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25 รูปในแถวแนวตั้งคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน รูปในแถวแนวนอนคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลเข้มข้น 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า

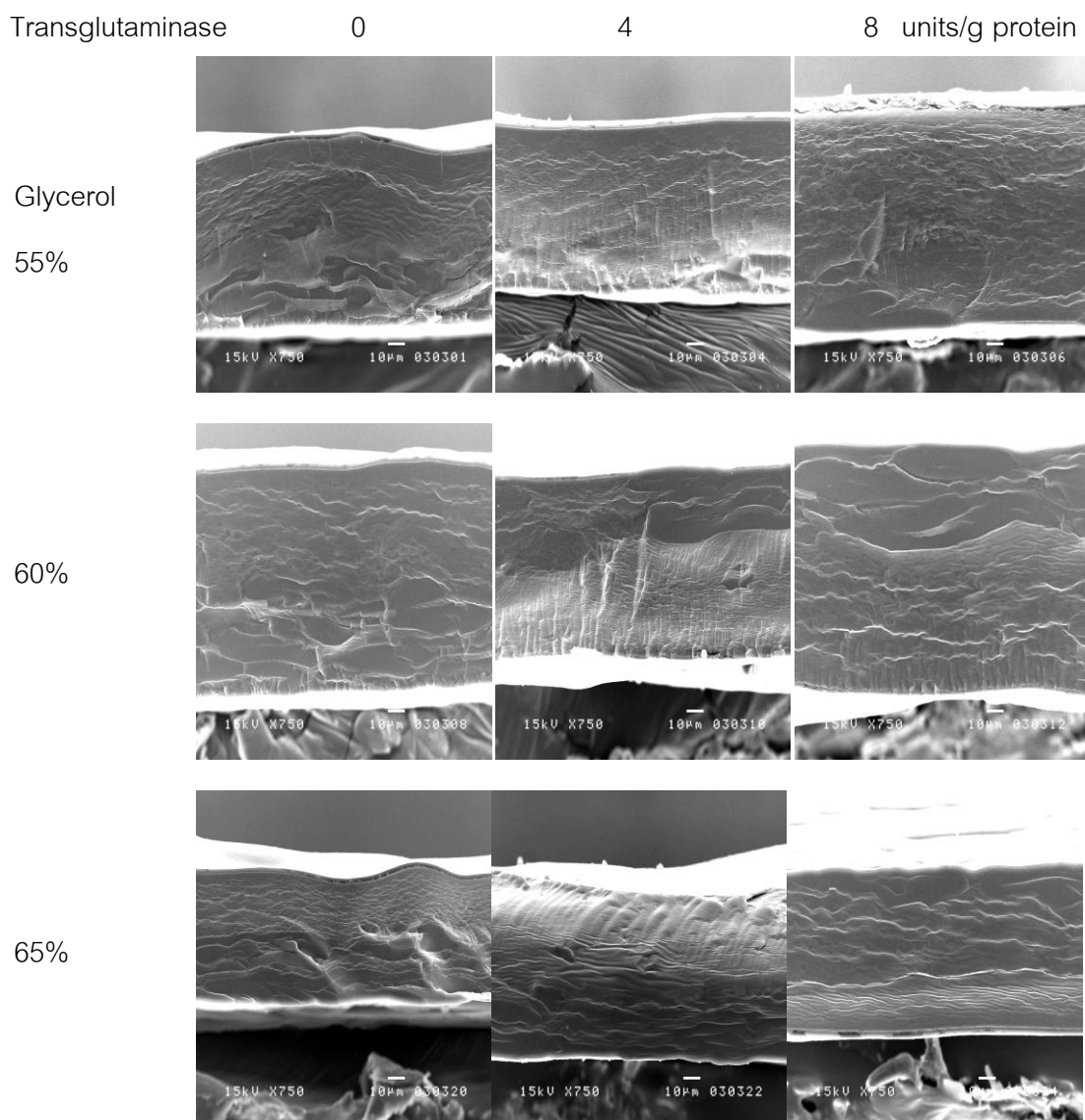


รูปที่ 4.10 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 รูปในแถวแนวตั้งคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน รูปในแถวแนวนอนคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลเข้มข้น 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า

รูปที่ 4.11 และ 4.12 แสดงลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25 และ 25:75 ตามลำดับ รูปในแถวแนวตั้งเดียวกันคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมทรานส์กลูตามิเนสที่ความเข้มข้นเท่ากัน ส่วนรูปในแถวแนวนอนเดียวกันคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นเท่ากัน



รูปที่ 4.11 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25 รูปในแถวแนวตั้งคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน รูปในแถวแนวนอนคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลเข้มข้น 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า



รูปที่ 4.12 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 รูปในแถวแนวตั้งคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 0, 4 และ 8 หน่วย/g โปรตีน รูปในแถวแนวนอนคือตัวอย่างฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลเข้มข้น 55, 60 และ 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า

จากการศึกษาลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25 และ 25:75 (รูปที่ 4.11 และ 4.12) ให้ผลในการทำงานเดียวกันกับการศึกษาลักษณะพื้นผิว (รูปที่ 4.9 และ 4.10) โดยพบว่าตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 75:25 มีลักษณะภาคตัดขวางที่ไม่สม่ำเสมอมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างฟิล์มที่มีอัตราส่วนของ SPI:G เท่ากับ 25:75 นอกจากนี้ผลของการเติมทรานส์กลูตามิเนสและกลีเซอรอลต่อลักษณะภาคตัดขวางของตัวอย่าง

ฟิล์มยังให้ผลในลักษณะเดียวกันกับการศึกษาลักษณะพื้นผิว โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างตัวอย่างฟิล์มที่เติมแทนส์กลูทามิเนสหรือกลีเซอรอลในระดับที่ต่างกัน

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินที่มีต่อสมบัติของฟิล์ม พบว่าเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณความชื้นมีค่าลดลง อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อความหนาและสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์ม ในด้านความโปร่งแสง ฟิล์มเชิงประกอบมีร้อยละของแสงส่องผ่านมากขึ้นเมื่ออัตราส่วนของเจลาตินเพิ่มขึ้น แต่ฟิล์มเชิงประกอบทุกตัวอย่างมีร้อยละของแสงส่องผ่านต่ำกว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและฟิล์มเจลาติน

เมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเพิ่มขึ้น ฟิล์มทุกตัวอย่างมีความหนา ความต้านทานแรงดึงขาด การยืดตัวถึงจุดขาด และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ปริมาณความชื้นและร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มมีค่าลดลง โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเห็นได้ชัดเจนเมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 4 หน่วย/g โปรตีน แต่เมื่อความเข้มข้นของแทรนส์กลูตามิเนสเพิ่มขึ้นจาก 4 เป็น 8 หน่วย/g โปรตีน สมบัติต่างๆ ของฟิล์มมีค่าค่อนข้างคงที่ การวิเคราะห์รูปแบบของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ยืนยันการเกิดการเชื่อมข้ามของโมเลกุลโปรตีนที่เป็นผลจากการเร่งปฏิกิริยาของแทรนส์กลูตามิเนส โดยพบว่าแทรนส์กลูตามิเนสช่วยเร่งปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 84, 66 และ 45 kDa ซึ่งได้แก่หน่วยย่อยแอลฟาไพรม์ แอลฟา และเบต้าของเบต้า-คอนโกลีซินิน ของถั่วเหลือง และเกิดเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

ในด้านผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอล พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นจาก 55 เป็น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน ความหนา ปริมาณความชื้นและการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นจาก 60 เป็น 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน ตัวอย่างฟิล์มมีสมบัติต่างๆ ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลไม่มีผลสำคัญต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์ม

จากงานวิจัยนี้พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงพร้อมทั้งมีการยืดตัวถึงจุดขาดสูง ได้แก่ ฟิล์มที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 ซึ่งเติม

กลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนและทรานส์กลูตามีนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน โดยตัวอย่างฟิล์มดังกล่าวมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดเท่ากับ 2.59 MPa และ 217.59% ตามลำดับ และตัวอย่างฟิล์มนี้มีเส้นพฤติกรรมการดูดความชื้นเป็นรูปตัวเอสหรือ type II isotherm ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของความชื้นต่ำในช่วงวอเตอร์เอกทิวิตี้เท่ากับ 0.50-0.85 ตัวอย่างฟิล์มดังกล่าวจึงเหมาะสำหรับนำไปใช้กับอาหารประเภทความชื้นปานกลาง

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการผลิตเป็นฟิล์มเชิงประกอบร่วมกับเจลาตินรวมทั้งการใช้ทรานส์กลูตามีนสสามารถช่วยปรับปรุงความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์ของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด อย่างไรก็ตามการเติมเจลาตินไม่มีผลต่อสมบัติสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำในขณะที่การเติมทรานส์กลูตามีนสมีผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงควรปรับปรุงสมบัติสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเชิงประกอบนี้เพื่อให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางยิ่งขึ้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์. 2545. การผลิตและการเก็บรักษาฟิล์มไบโโคลิกได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มณฑาทิพย์ ชุณหลาด. 2535. ฟิล์มและสารเคลือบที่รับประทานได้. อาหาร 22 (1): 1-6.

ภาษาอังกฤษ

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. Washing ton, D. C.: The Association of Analytical Chemists.
- Arvanitoyannis, I. S. 2002. Formation and properties of collagen and gelatin films and coatings. In A. Gennadios (ed.), Protein-Based Films and Coatings, pp. 275-304. Boca Raton: CRC Press.
- ASTM. 1999. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- Bae, H. J., Darby, D. O., Kimmel, R. M., Park, H. J. and Whiteside, W. S. 2009. Effects of transglutaminase-induced cross-linking on properties of fish gelatin-nanoclay composite film. Food Chemistry 114 (1): 180-189.
- Bakker, M. 1986. The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology. New York: John Wiley & Sons.
- Banker, G. S. 1966. Film coating theory and practice. Journal of Pharmaceutical Sciences 55 (1): 81-89.
- Beerler, A. D. and Finney, D. C. 1983. Plasticizer. In Modern Plastics Encyclopedia, Vol. 59, pp. 587. New York: McGraw-Hill.
- Berk, Z. 1992. Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. FAO Agricultural Services Bulletin 97: 82-95.
- Billmeyer, F. W. 1962. Textbook of Polymer Science. New York: John Wiley & Sons.

- Bourtoom, T. and Chinnan, M. S. 2008. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 41 (9): 1633-1641.
- Bourtoom, T., Chinnan, M. S., Jantawat, P. and Sanguandeeikul, R. 2006. Effect of plasticizer type and concentration on the properties of edible film from water-soluble fish proteins in surimi wash-water. Food Science and Technology International 12 (2): 119-126.
- Bruno, M., Giancone, T., Torrieri, E., Masi, P. and Moresi, M. 2008. Engineering properties of edible transglutaminase cross-linked caseinate-based films. Food and Bioprocess Technology 1 (4): 393-404.
- Cao, N., Fu, Y. and He, J. 2007. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. Food Hydrocolloids 21 (7): 1153-1162.
- Carvalho, R. A. and Grosso, C. R. F. 2004. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. Food Hydrocolloids 18 (5): 717-726.
- Chambi, H. and Grosso, C. 2006. Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. Food Research International 39 (4): 458-466.
- Chittrakorn, S. 1997. Composite film from rice protein concentrate and modified rice starch. Master's Thesis, Department of Food Engineering and Bioprocess Technology, Asian Institute of Technology.
- Cho, S. Y. and Rhee, C. 2002. Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 35 (2): 151-157.
- Cho, S. Y. and Rhee, C. 2004. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 37 (8): 833-837.
- Conca, K. R. and Yang, T. C. S. 1993. Edible food barrier coatings. In C. Chang, D. Kaplan, and E. Thomas (eds.), Biodegradation Polymers and Packaging, pp. 357-369. Lancaster: Technomic.
- Cuq, B., Gontard, N. and Guilbert, S. 1997. Thermal properties of fish myofibrillar protein-based film as affected by moisture content. Polymer 38 (10): 2399-2405.

- Denavi, G. A., Pérez-Mateos, M., Añón, M. C., Montero, P., Mauri, A. N. and Gómez-Guillén, M. C. 2009. Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. Food Hydrocolloids 23 (8): 2094-2101.
- Di Pierro, P., Mariniello, L., Giosafatto, C. V. L., Masi, P. and Porta, R. 2005. Solubility and permeability properties of edible pectin-soy flour film obtained in the absence or presence of transglutaminase. Food Biotechnology 19 (2): 37-49.
- Di Pierro, P., Chico, B., Villalonga, R., Mariniello, L., Damiao, A. E., Masi, P. and Porta, R. 2006. Chitosan-whey protein edible films produced in the absence or presence of transglutaminase: analysis of their mechanical and barrier properties. Biomacromolecules 7 (3): 744-749.
- Di Pierro, P., Chico, B., Villalonga, R., Mariniello, L., Masi, P. and Porta, R. 2007. Transglutaminase-catalyzed preparation of chitosan-ovalbumin films. Enzyme and Microbial Technology 40 (3): 437-441.
- Feeney, R. E., Blankenhorn, G. and Dixon, H. B. F. 1975. Carbonyl-amine reactions in protein chemistry. In C. B. Anfinsen (ed.), Advances in Protein Chemistry, pp. 135-203. London: Academic Press.
- Ferreira, C. O., Nunes, C. A., Delgadillo, I. and Lopes-da-Silva, J. A. 2009. Characterization of chitosan-whey protein films at acid pH. Food Research International 42 (7): 807-813.
- Fujimori, E. 1965. Ultraviolet light-induced change in collagen macromolecules. Biopolymers 3 (2): 115-119.
- Galletta, G., Di Gioia, L., Guilbert, S. and Cuq, B. 1998. Mechanical and thermo-mechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and cross-linking agents. Journal of Dairy Science 81 (12): 3123-3130.
- Gallo, J. A. Q., Debeaufort, F., Callegarin, F. and Voilley, A. 2000. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. Journal of Membrane Science 180 (1): 37-46.
- Gelatin Manufacturers Institute of America. 1993. Gelatin. New York: Gelatin Manufacturers Institute of America.
- Gennadios, A. and Weller, C. L. 1990. Edible films and coatings from wheat and corn protein. Food Technology 63 (10): 63-69.

- Gennadios, A., Weller, C. L. and Testin, R. F. 1993. Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. Journal of Food Science 58 (1): 212-214, 219.
- Gennadios, A., Brandenburg, A. H., Weller, C. L. and Testin, R. F. 1993. Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. Journal of Agricultural and Food Chemistry 41 (11): 1835-1839.
- Gennadios, A., McHugh, T. H., Weller, C. L. and Krochta, J. M. 1994. Edible coating and films based on proteins. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin and M. O. Nisperos-Carriedo (eds), Edible Coating and Films to Improve Food Quality, pp. 201-277. Lancaster: Technomic.
- Gennadios, A., Weller, C., Hanna, M. and Froning, M. 1996. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. Journal of Food Science 61 (3): 585-589.
- Ghorpade, V. M., Li, H., Gennadios, A. and Hanna, M. A. 1995. Chemically modified soy protein films. Transactions of the ASAE 38 (6): 1805-1808.
- Gómez-Guillén, M., Turnay, J., Fernández-Díaz, M., Ulmo, N., Lizarbe, M. and Montero, P. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. Food Hydrocolloids 16 (1): 25-34.
- Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J. L. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. Journal of Food Science 58 (1): 206-211.
- Greener-Donhowe, I. G. and Fennema, O. 1994. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions, and testing methods. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin and M. O. Nisperos-Carriedo (eds.), Edible Coatings and Films to Food Quality, pp. 1-24. Lancaster: Technomic.
- Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible protective films. In M. Mathlouthi (ed.), Food Packaging and Preservation, pp. 371-394. New York: Elsevier Applied Science.
- Ha, C. and Luchi, I. 2003. Transglutaminase. In J. Whitaker, A. Voragen and D. Wong (eds.), Handbook of Food Enzymology, pp. 637-638. New York: Marcel Dekker.
- Hermansson, A. M. 1978. Physico-chemical aspects of soy proteins structure formation. Journal of Texture Studies 9 (1-2): 33-58.

- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R. and Chiralt, A. 2004a. Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. Food Hydrocolloids 18 (3): 403-411.
- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R. and Chiralt, A. 2004b. Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. Food Hydrocolloids 18 (4): 647-654.
- Hima Bindu, T. V. L., Vidyavathi, M., Kavitha, K., Sastry, T. P. and Suresh Kumar, R. V. 2010. Preparation and evaluation of ciprofloxacin loaded chitosan-gelatin composite films for wound healing activity. International Journal of Drug Delivery 2 (2): 173-182.
- Jangchud, A. and Chinnan, M. S. 1999. Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 32 (2): 89-94.
- Jiang, Y., Tang, C. H., Wen, Q. B., Li, L. and Yang, X. Q. 2007. Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films. Innovative Food Science & Emerging Technologies 8 (2): 218-225.
- Kelley, J. J. and Pressey, R. 1966. Studies with soybean protein and fiber formation. Cereal Chemistry 43 (2): 196-206.
- Kester, J. J. and Fennema, O. R. 1986. Edible films and coatings: a review. Food Technology 40 (12): 47-59.
- Kim, S., Sessa, D. J. and Lawton, J. W. 2004. Characterization of zein modified with a mild cross-linking agent. Industrial Crops and Products 20 (3): 291-300.
- Krochta, J. M. and De Mulder-Johnston, C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. Food Technology 51 (2): 61-74.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227 (5259): 680-685.
- Lee, K. Y., Shim, J. and Lee, H. G. 2004. Mechanical properties of gellan and gelatin composite films. Carbohydrate Polymers 56 (2): 251-254.
- Lieberman, E. R. and Gilbert, S. G. 1973. Gas permeability of collagen films as affected by cross-linkage, moisture, and plasticizer content. Journal of Polymer Science 41 (1): 33-43.

- Liu, L., Liu, C. K., Fishman, M. L. and Hicks, K. B. 2007. Composite films from pectin and fish skin gelatin or soybean flour protein. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55 (6): 2349-2355.
- Lu, Y., Weng, L. And Zang, L. 2004. Morphology and properties of soy protein isolate thermoplastics reinforced with chitin whiskers. Biomacromolecules 5 (3): 1046-1051.
- Mahmoud, R. and Savello, P. A. 1992. Mechanical properties of and water vapor transferability through whey protein films. Journal of Dairy Science 75 (4): 942-946.
- Mariniello, L., Di Pierro, P., Esposito, C., Sorrentino, A., Masi, P. and Porta, R. 2003. Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. Journal of Biotechnology 102 (2): 191-198.
- Mark, A. M., Roth, W. B., Mehlretter, C. L. and Rist, C. E. 1966. Oxygen permeability of amylo maize starch films. Food Technology 20 (1): 75-79.
- Matheis, G. and Whitaker, J. R. 1984. Peroxidase-catalyzed cross linking of proteins. Journal of Protein Chemistry 3 (1): 35-48.
- McHugh, T. H. 1996. Effects of macromolecular interactions on the permeability of composite edible films. In N. Parris, A. Kato, L. K. Creamer and J. Pearce (eds.), Macromolecular Interactions in Food Technology. pp. 134-144. Washington, DC: The American Chemical Society.
- McHugh, T. H., Aujard, J. F. and Krochta, J. M. 1994. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. Journal of Food Science 59 (2): 416-419, 423.
- Miller, K. S. and Krochta, J. M. 1997. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. Trends in Food Science and Technology 8 (7): 228-237.
- Motoki, M. and Seguro, K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. Trends in Food Science & Technology 9 (5): 204-210.
- Motoki, M., Aso, H., Seguro, K. and Nio, N. 1987. α_{s1} -casein film prepared using transglutaminase. Agricultural and Biological Chemistry 51 (4): 993-996.

- Nisperos-Carriedo, M. O. 1994. Edible coatings and films based on polysaccharides. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin and M. O. Nisperos-Carriedo (eds.), Edible Coatings and Films to Improve Food Quality, pp. 305-336. Lancaster: Technomic.
- Oakenfull, D., Pearce, J. and Burley, W. R. 1997. Protein gelation. In S. Damodaran and A. Paraf (eds.), Food Proteins and Their Applications, pp. 111-142. New York: Marcel Dekker.
- Okamoto, S. 1978. Factors affecting protein film formation. Cereal Foods World 22 (5): 256-262.
- Ouattara, B., Canh, L. T., Vachon, C., Mateescu, M. A. and Lacroix, M. 2002. Use of γ -irradiation cross-linking to improve the water vapor permeability and the chemical stability of milk protein films. Radiation Physics and Chemistry 63 (6): 821-825.
- Park, S. K., Hettiarachchy, N. S. and Were, L. 2000. Degradation behavior of soy protein-wheat gluten films in simulated soil conditions. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48 (7): 3027-3031.
- Park, H. J., Weller, C. L., Vergano, P. J. and Testin, R. F. 1993. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. Journal of Food Science 58 (6): 1361-1370.
- Park, S. K., Hettiarachchy, N. S., Ju, Z. Y. and Gennadios, A. 2002. Formation and properties of soy protein films and coatings. In A. Gennadios (ed.), Protein-Based Films and Coatings, pp. 123-137. Boca Raton: CRC Press.
- Paschoalick, T. M., Garcia, F. T., Sobral, P. J. A. and Habitante, A. M. Q. B. 2003. Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia. Food Hydrocolloids 17 (4): 419-427.
- Pauling, L. and Corey, R. B. 1951. The structure of fibrous proteins of the collagen-gelatin group. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 37 (5): 272-281.
- Peterson, G. L. 1983. Determination of total protein. Methods in Enzymology 91: 95-119.

- Rhim, J. W., Wu, Y., Weller, C. L. and Schnepf, M. 1999. Physical characteristics of a composite film of soy protein isolate and propyleneglycol alginate. Journal of Food Science 64 (1): 149-152.
- Rhim, J. W., Gennadios, A., Handa, A., Weller, C. L. and Hanna, M. A. 2000. Solubility, tensile, and color properties of modified soy protein isolate films. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48 (10): 4937-4941.
- Rivero, S., Garcia, M. A. and Pinotti, A. 2009. Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. Journal of Food Engineering 90 (4): 531-539.
- Sabato, S. F., Ouattara, B., Yu, H., D'Aprano, G., Tien, L. C., Mateescu, M. A. and Lacroix, M. 2001. Mechanical and barrier properties of cross-linked soy and whey protein based films. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49 (3): 1397-1403.
- Seguro, K., Kumazawa, Y., Kuraishi, C., Sakamoto, H. and Motoki, M. 1996. The epsilon-(gamma-glutamyl)lysine moiety in cross-linked casein is an available source of lysine for rats. Journal of Nutrition 126 (10): 2557-2562.
- Shi, X. Y. and Tan, T. W. 2004. New contact lens based on chitosan/gelatin composites. Journal of Bioactive and Compatible Polymers 19 (6): 467-479.
- Simon-Lukasik, K. V. and Ludescher, R. D. 2004. Erythrosin B phosphorescence as a probe of oxygen diffusion in amorphous gelatin films. Food Hydrocolloids 18 (4): 621-630.
- Sobral, P. J. A., dos Santos, J. S. and García, F. T. 2005. Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle of a Thai Tilapia. Journal of Food Engineering 70 (1): 93-100.
- Soliman, E. A. and Furuta, M. 2009. Influence of γ -irradiation on mechanical and water barrier properties of corn protein-based films. Radiation Physics and Chemistry 78 (7-8): 651-654.
- Stuchell, Y. M. and Krochta, J. M. 1994. Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. Journal of Food Science 59(6): 1332-1337.
- Tang, C. H. and Jiang, Y. 2007. Modulation of mechanical and surface hydrophobic properties of food protein films by transglutaminase treatment. Food Research International 40 (4): 504-509.

- Tang, R., Du, Y., Zheng, H. and Fan, L. 2003. Preparation and characterization of soy protein-carboxymethylated konjac glucomannan blend films. Journal of Applied Polymer Science 88 (8): 1095-1099.
- Tang, C. H., Jiang, Y., Wu, Q. B. and Yang, X. Q. 2005. Effect of transglutaminase treatment on the properties of cast film of soy protein isolate. Journal of Biotechnology 120 (3): 296-307.
- Tang, C. H., Wu, H., Chen, Z. and Yang, X. Q. 2006. Formation and properties of glycinin-rich and β -conglycinin-rich soy protein isolate gels induced by microbial transglutaminase. Food Research International 39 (1): 87-97.
- Tomasula, P. M., Yee, W. C. and Parris, N. 2003. Oxygen permeability of films made from CO₂-precipitated casein and modified casein. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51 (3): 634-639.
- United Soybean Board. 2004. Soy Protein Isolate [Online]. Available from: <http://www.talksoy.com> [2005, January 14]
- Utsumi, S., Matsumura, Y. and Mori, T. 1997. Structure-function relationships of soy protein. In S. Damodaran and A. Paraf (eds.), Food Proteins and Their Applications, pp. 257-285. New York: Marcel Dekker.
- Vanin, F. M., Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Carvalho, R. A. and Habitante, A. 2005. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. Food Hydrocolloids 19 (5): 899-907.
- Whistler, A. and Daniel, J. R. 1990. Function of polysaccharides in foods. In A. L. Branen, P. M. Davidson and S. Salinen (eds.), Food Additives, pp. 395-423. New York: Marcel Dekker.
- Wijeratne, W. B. 1993. Functional properties of soy proteins in food systems. In K. Tanteeratarm (ed.), Soybean Processing for Food Uses, pp. 29-42. Urbana: International Soybean Program.
- Windholz, M., Budvari, S., Stroumstos, L. Y. and Fertig, M. N. 1976. The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals and Drugs, 9th ed. Rahway: Merck and Company.
- Wolf, W. J. 1997. Legumes: seed composition and structure, processing into protein products and protein properties. In J. R. Whitaker and S. R. Tannenbaum (eds.), Food Proteins, pp. 301-302. Westport: AVI.

- Wu, R. L., Wang, X. L., Wang, Y. Z., Bian, X. C. And Li, F. 2009. Cellulose/soy protein isolate blend films prepared via room-temperature ionic liquid. Industrial & Engineering Chemistry Research 48 (15): 7132-7136.
- Yi, J. B., Kim, Y. T., Bae, H. J., Whiteside, W. S. and Park, H. J. 2006. Influence of transglutaminase-induced cross-linking on properties of fish gelatin films. Journal of Food Science 71 (9): E376-E383.
- Yildirim, M. and Hettiarachchy, N. S. 1998. Properties of films produced by cross-linking whey proteins and 11S globulin using transglutaminase. Journal of Food Science 63 (2): 248-252.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

ก.1 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ วิธีมาตรฐาน ASTM E96-95 (ASTM, 1999)

วัสดุและอุปกรณ์

ซิลิกาเจล

ขวดแก้วทรงสูงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 cm

ซิลิโคนกรีส

พาราฟิล์ม

โถดูดความชื้น

วิธีการ

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด $6 \times 6 \text{ cm}^2$ โดยปราศจากรอยขีดข่วน รอยพับ และรูรั่วที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า บรรจุซิลิกาเจลปริมาณ 30 g ใส่ลงขวดแก้ว ทาสิลิโคนกรีส บริเวณปากขวดให้ทั่ว วางตัวอย่างฟิล์มลงบนปากขวด ซึ่งให้ตั้งและรัดให้แน่นด้วยพาราฟิล์ม บันทึกน้ำหนักขวดที่ติดฟิล์มแล้ว จากนั้นนำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้นที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ บันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นคำนวณสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำตามสมการที่ (ก.1)

$$\text{สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ} = \frac{(w \times L)}{A \times t \times (P_2 - P_1)} \quad (\text{ก.1})$$

เมื่อ w คือ น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง (g)

L คือ ความหนาของฟิล์ม (mm)

A คือ พื้นที่หน้าตัดของฟิล์ม (m^2)

t คือ เวลาที่ใช้ในการทดลอง (h)

$(P_2 - P_1)$ คือ ความแตกต่างของความดันไอน้ำที่ด้านทั้งสองของฟิล์ม (Pa)

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและรูปแบบของแถบโปรตีนของตัวอย่างฟิล์ม

ก.2.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและรูปแบบของแถบโปรตีน

สารเคมี

2-mercaptoethanol เข้มข้น 3.1% (v/v)

Sodium dodecyl sulfate (SDS)

Tris-HCl buffer (ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.8) เข้มข้น 0.125 โมลาร์

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

เตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยดัดแปลงจากวิธีของ Tang และ Jiang (2007) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาดเล็ก จากนั้นชั่งตัวอย่างฟิล์ม 10.5 mg บรรจุลงใน Eppendorf tube เติมสารละลายซึ่งประกอบด้วย Tris-HCl (ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.8) เข้มข้น 0.125 โมลาร์, SDS เข้มข้น 4% (v/v), กลีเซอรอลเข้มข้น 20% (v/v) และ 2-mercaptoethanol เข้มข้น 3.1% (v/v) ปริมาตร 1.5 ml ผสมให้เข้ากัน จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปเหวี่ยงแยกที่ 12,000xg เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เก็บส่วนใส (supernatant) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2. การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีน

ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาดเล็ก จากนั้นชั่งตัวอย่างฟิล์ม 10.5 mg บรรจุลงใน Eppendorf tube เติม sample buffer ซึ่งประกอบด้วย Tris-HCl (ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.8) เข้มข้น 0.125 โมลาร์, SDS เข้มข้น 4% (v/v), กลีเซอรอลเข้มข้น 20% (v/v), 2-mercaptoethanol เข้มข้น 3.1% (v/v) และ bromophenol blue เข้มข้น 0.01% (w/v) ปริมาตร 1.5 ml ผสมให้เข้ากัน จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปเหวี่ยงแยกที่ 12,000xg เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เก็บส่วนใสเพื่อใช้ในการวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีน

ก.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี modified Lowry

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี modified Lowry โดยดัดแปลงจากวิธีของ Peterson (1983)

สารเคมี

Bovin serum albumin (BSA)
 Copper sulfate anhydrous
 Folin-Ciocalteu's phenol reagent
 Potassium sodium tartrate
 Sodium carbonate
 Sodium deoxycholate (DOC)
 SDS
 Sodium hydroxide
 Trichloroacetic acid (TCA)

การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์

1. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ A

เตรียมสารละลาย copper tartrate carbonate (CTC) ประกอบด้วย copper sulfate เข้มข้น 0.1% (w/v), potassium tartrate เข้มข้น 0.2% (w/v) และ sodium carbonate เข้มข้น 10% (w/v)

เตรียมสารละลายรีเอเจนต์ A ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย CTC, SDS เข้มข้น 10% (w/v), NaOH เข้มข้น 0.8 นอร์มัล และน้ำกลั่นในปริมาตรที่เท่ากัน

2. การเตรียมสารละลายรีเอเจนต์ B

ผสม Folin-Ciocalteu's phenol reagent กับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:5

วิธีการ

1. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลาย BSA เข้มข้น 0.1% (w/v) โดยชั่ง BSA 10 mg ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 10 ml จากนั้นปิเปตสารละลาย BSA ปริมาตร 4, 8, 12, 16, 20, 40, 60, 80 และ 100 μ l ลงใน Eppendorf tube ปรับปริมาตรแต่ละหลอดให้เป็น 1 ml ด้วยน้ำกลั่น (สำหรับแบบลงก็ใช้น้ำกลั่น 1 ml แทนตัวอย่าง) จากนั้นเติมสารละลาย DOC เข้มข้น 0.15% (w/v) ปริมาตร

100 μ l ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลาย TCA เข้มข้น 72% (w/v) ปริมาตร 100 μ l ผสมให้เข้ากัน นำไปเหวี่ยงแยกที่ 12,000xg เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง แล้วเติมสารละลายรีเอเจนต์ A ปริมาตร 1 ml เขย่าผสม จนตะกอนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลายรีเอเจนต์ B ปริมาตร 0.5 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่า การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm เทียบกับแบล็ก สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการ ดูดกลืนแสงและปริมาณของ BSA (กราฟมาตรฐานแสดงดังภาคผนวก ข.1)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของสารละลายตัวอย่างฟิล์ม

ปิเปตสารละลายตัวอย่างฟิล์มปริมาตร 100 μ l บรรจุลงใน Eppendorf tube ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการเตรียมกราฟมาตรฐาน (ข้อ 1) แต่ใช้สารละลายตัวอย่างฟิล์ม แทนสารละลาย BSA คำนวณปริมาณโปรตีนโดยใช้กราฟมาตรฐานดังแสดงในภาคผนวก ข.1

ก.2.3 การวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้ SDS-PAGE

วิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE โดยดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970)

สารเคมี

Acrylamide stock solution [acrylamide เข้มข้น 40% (w/v) และ bisacrylamide เข้มข้น 5% (w/v)]

Ammonium persulfate เข้มข้น 10% (w/v)

Bromophenol blue

SDS เข้มข้น 10% (w/v)

Sigma molecular weight marker (molecular weight 6,500-205,000)

Tris-HCl buffer (ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.8) เข้มข้น 1.5 โมลาร์

Tris-HCl buffer (ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.8) เข้มข้น 0.5 โมลาร์

N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED)

Electrophoresis buffer [Tris-HCl (ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.8) เข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์, กลีเซอรอลเข้มข้น 15% (v/v) และ SDS เข้มข้น 1% (w/v)]

Sample buffer [Tris-HCl (ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.8) เข้มข้น 0.125 โมลาร์, กลีเซอรอลเข้มข้น 20% (v/v), SDS เข้มข้น 4% (v/v), 2-mercaptoethanol เข้มข้น 3.1% (v/v) และ bromophenol blue เข้มข้น 0.01% (w/v)]

Coomassie blue staining solution [Coomassie blue R-250 เข้มข้น 0.1% (w/v), ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 500 ml, glacial acetic acid ปริมาตร 100 ml และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 L]

Destaining solution [ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 250 ml, glacial acetic acid ปริมาตร 100 ml และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 L]

วิธีการ

- ล้างกระจกสำหรับหล่อเจลด้วยน้ำสะอาด จากนั้นชะอีกครั้งด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) แล้วเช็ดด้วยเอทานอล
- ประกอบแผ่นกระจกทั้งสองแผ่นเข้าหากัน โดยใช้แผ่นพลาสติกสีขาว (spacer) ที่มีความหนา 1 mm คั่นไว้ที่ขอบทั้งสองด้าน ประกอบแผ่นกระจกเข้ากับตัวเครื่อง gel electrophoresis system (รุ่น miniVE, Hoefer, Holliston, MA) โดยให้กระจกแผ่นที่มีรอยเว้าหันเข้าด้านในของตัวเครื่อง
- บีบเปิด separating gel solution เข้มข้น 10% เต็มลงในช่องระหว่างแผ่นกระจกอย่างช้าๆ ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ จนสารละลายอยู่ต่ำกว่าขอบบนของแผ่นกระจกที่มีรอยเว้า ประมาณ 1.5 cm
- หยดสารละลายบิวทานอลปิดทับหน้าเจล ตั้งทิ้งไว้บนพื้นระนาบเป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง จนกระทั่งเจลแข็งตัว
- เทสารละลายบิวทานอลที่อยู่บนผิวหน้าของเจลออก แล้วล้างผิวหน้าของเจลด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้นบีบเปิด stacking gel solution เข้มข้น 4% เต็มลงในช่องระหว่างแผ่นกระจกอย่างช้าๆ ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ จนสารละลายสูงถึงขอบบนของแผ่นกระจก
- สอด comb ลงในช่องระหว่างแผ่นกระจก เพื่อให้เกิดช่องสำหรับบรรจุตัวอย่าง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เจลชั้นบนแข็ง ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จึงถอด comb ออก จะได้แผ่นเจลที่พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง

7. ต่อ gel electrophoresis system เข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า จากนั้นเติม electrophoresis buffer ลงใน chamber และระหว่างแผ่นกระจกจนสารละลายท่วมแผ่นเจล

8. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 5 μg และสารละลายโปรตีนมาตรฐานลงในช่องด้านบนของ stacking gel ช่องละ 1 ตัวอย่าง

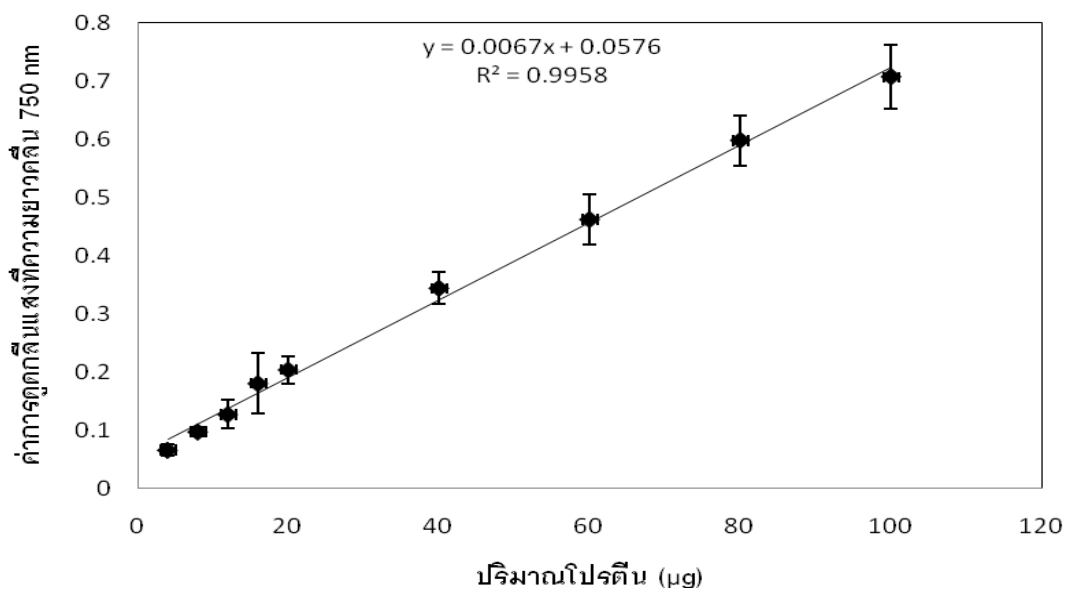
9. กำหนดกระแสไฟฟ้า 40 mA ต่อ 2 แผ่น เปิดเครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้าจนกระทั่งแถบโปรตีนเคลื่อนลงมาจนถึงระยะประมาณ 0.5 cm จากขอบเจลด้านล่าง จึงปิดเครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้า ถอดเครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้าออก แล้วแกะแผ่นเจลออกจากแผ่นกระจก

10. นำแผ่นเจลมาแช่ใน staining solution เป็นระยะเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปแช่ใน destaining solution เป็นระยะเวลา 10 นาที เทสารละลายทิ้งและล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปแช่ใน destaining solution จนมีแถบของโปรตีนปรากฏขึ้น ล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น

ภาคผนวก ข

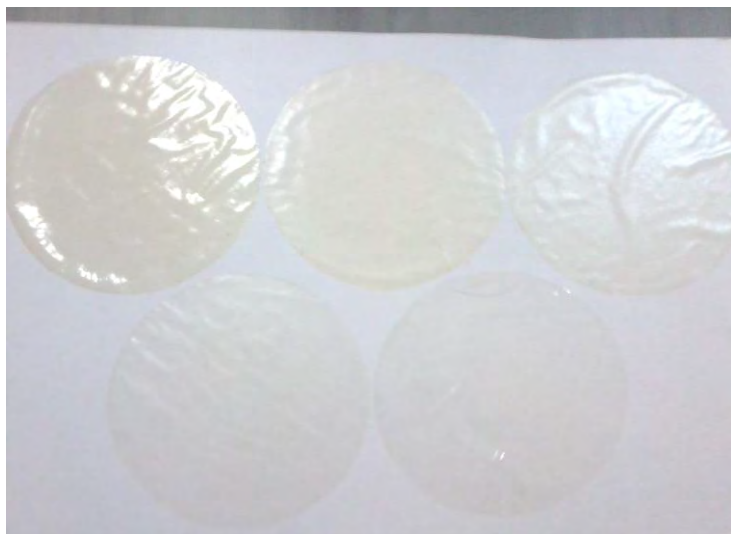
กราฟมาตรฐานและรูปตัวอย่างฟิล์ม

ข.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry



รูปที่ ข.1.1 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry

ข.2 รูปตัวอย่างฟิล์ม



รูปที่ ข.2.1 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ไม่เติมทรานส์กลูตามิเนส แถวบนจากข้าวไปขวา คือ ฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แถวล่างจากข้าวไปขวา คือ ฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



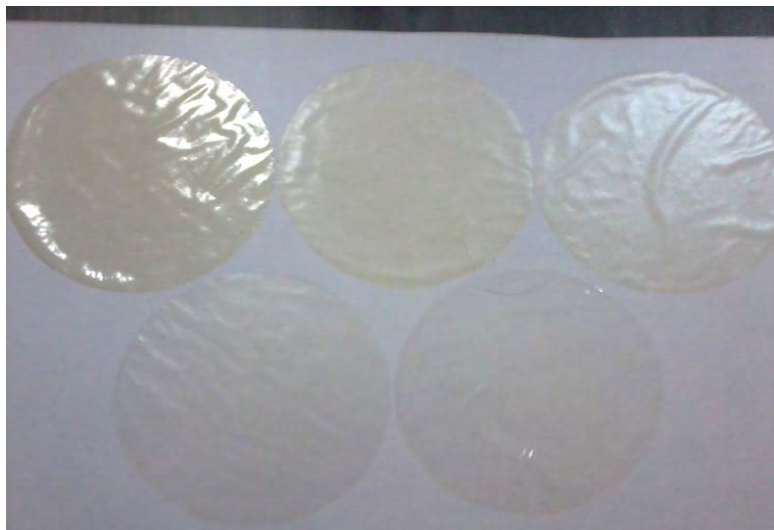
รูปที่ ข.2.2 ฟิล์มที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/g โปรตีน แถวบนจากข้าวไปขวา คือ ฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แถวล่างจากข้าวไปขวา คือ ฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.3 फिल्मที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน แฉวนจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แฉวล่างจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



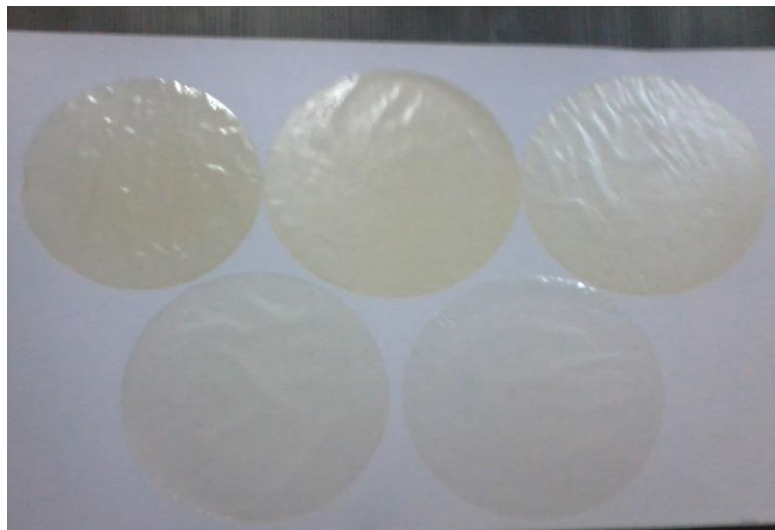
รูปที่ ข.2.4 फिल्मที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ไม่เติมทรานส์กลูตามิเนส และเติมกลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีน แฉวนจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แฉวล่างจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.5 फिल्मที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ไม่เติมทรานส์กลูตามีน และเติมกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน แลวนจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แลวงจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.6 फिल्मที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่ไม่เติมทรานส์กลูตามีน และเติมกลีเซอรอลเข้มข้น 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน แลวนจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แลวงจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.7 फिल्मที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีน แฉวนบจากข้าวไปขาวาคือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แฉวาล่างจากข้าวไปขาวาคือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.8 फिल्मที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน แฉวนบจากข้าวไปขาวาคือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แฉวาล่างจากข้าวไปขาวาคือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.9 फिल्मที่ผลิตจากโพรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 4 หน่วย/g โพรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 65% โดยน้ำหนักของโพรตีน แฉวนบนจากข้าวไปขาวาคือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโพรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แฉวนล่างจากข้าวไปขาวาคือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโพรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.10 फिल्मที่ผลิตจากโพรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โพรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโพรตีน แฉวนบนจากข้าวไปขาวาคือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโพรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แฉวนล่างจากข้าวไปขาวาคือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโพรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.11 फिल्मที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน แฉบบนจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แฉบล่างจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100



รูปที่ ข.2.12 फिल्मที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาตินที่เติมทรานส์กลูตามิเนสเข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีนและกลีเซอรอลเข้มข้น 65% โดยน้ำหนักของโปรตีน แฉบบนจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 100:0, 75:25 และ 50:50 แฉบล่างจากข้าวไปขวา คือ फिल्मที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 และ 0:100

ภาคผนวก ค

ข้อมูลการวิเคราะห์

ตารางที่ ค.1 ความหนา ปริมาณความชื้น และความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเชิงประกอบที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินและความเข้มข้นของแทรนส์กลูมินเนสต่างๆ

SPI:G	แทรนส์กลูตามิเนส (หน่วย/g โปรตีน)	ความหนา (mm)	ปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนักสด)	ความต้านทานแรงดึงขาด (MPa)
100:0	0	0.102 ^f ±0.001	22.68 ^a ±0.87	0.50 ^h ±0.02
75:25		0.103 ^f ±0.001	22.72 ^a ±0.37	1.08 ^g ±0.38
50:50		0.100 ^f ±0.000	21.74 ^{ab} ±0.08	1.41 ^{efg} ±0.03
25:75		0.094 ^g ±0.001	21.63 ^{ab} ±2.00	1.92 ^{cde} ±0.42
0:100		0.076 ^h ±0.000	20.55 ^{bcd} ±0.52	2.34 ^{bc} ±0.08
100:0		0.116 ^b ±0.000	20.96 ^{bc} ±0.55	1.14 ^g ±0.15
75:25	4	0.123 ^a ±0.001	20.71 ^{bcd} ±0.93	1.34 ^{fg} ±0.20
50:50		0.114 ^{bc} ±0.002	20.90 ^{bc} ±0.84	1.82 ^{def} ±0.09
25:75		0.113 ^{bc} ±0.001	19.36 ^{def} ±0.93	2.20 ^{bcd} ±0.24
0:100		0.108 ^{de} ±0.001	18.24 ^f ±0.46	2.67 ^{ab} ±0.16
100:0		0.115 ^{bc} ±0.001	19.75 ^{cde} ±0.03	1.24 ^{fg} ±0.20
75:25	8	0.117 ^b ±0.000	19.36 ^{def} ±0.23	1.75 ^{cdef} ±0.26
50:50		0.108 ^{de} ±0.006	19.30 ^{ef} ±0.20	1.88 ^{cd} ±0.37
25:75		0.111 ^{cd} ±0.001	18.01 ^{fg} ±0.06	2.59 ^{ab} ±0.28
0:100		0.105 ^{ef} ±0.002	16.81 ^g ±0.03	3.14 ^{ab} ±0.64

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c,... ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.2 การยืดตัวถึงจุดขาด สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ และค่าแสงส่องผ่านของฟิล์มเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินและความเข้มข้นของทรานส์กลูตามีนส์ต่างๆ

SPI:G	ทรานส์กลูตามีนส์ (หน่วย/g โปรตีน)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)	สภาพให้ซึมผ่านได้ ของไอน้ำ (g mm/m ² h Pa)	ค่าแสงส่องผ่าน (%)
100:0	0	121.37 ^h ±2.53	0.0300 ^{cd} ±0.0021	82.12 ^{bc} ±1.76
75:25		125.24 ^h ±0.62	0.0303 ^{bcd} ±0.0005	68.40 ^{fg} ±1.28
50:50		131.42 ^{gh} ±0.30	0.0287 ^d ±0.0007	73.26 ^{ef} ±2.10
25:75		133.72 ^{gh} ±1.86	0.0292 ^d ±0.0004	75.87 ^{cde} ±4.22
0:100		145.75 ^g ±3.14	0.0289 ^d ±0.0001	90.27 ^a ±0.87
100:0	4	132.74 ^{gh} ±16.35	0.0368 ^a ±0.0021	82.81 ^b ±1.46
75:25		168.81 ^f ±10.41	0.0389 ^a ±0.0054	52.52 ⁱ ±6.80
50:50		184.18 ^e ±10.18	0.0327 ^{abcd} ±0.0028	65.01 ^{gh} ±1.50
25:75		204.52 ^{cd} ±5.08	0.0347 ^{abcd} ±0.0002	74.39 ^{def} ±3.20
0:100		252.35 ^a ±2.39	0.0365 ^a ±0.0028	87.06 ^{ab} ±0.57
100:0	8	162.50 ^f ±12.74	0.0364 ^{ab} ±0.0012	80.51 ^{bcd} ±1.09
75:25		189.98 ^{de} ±12.43	0.0389 ^a ±0.0033	52.43 ⁱ ±2.98
50:50		203.52 ^{cd} ±7.95	0.0385 ^a ±0.0023	59.58 ^{ef} ±5.00
25:75		217.59 ^{bc} ±11.24	0.0357 ^{abc} ±0.0023	73.30 ^{ef} ±9.01
0:100		230.32 ^b ±6.58	0.0341 ^{abcd} ±0.0047	82.89 ^b ±1.75

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c,... ค่าเฉลี่ยในสัณฐานเดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.3 ข้อมูลพฤติกรรมกรรมการดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 °C ของฟิล์มเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อเจลาตินเท่ากับ 25:75 ซึ่งเติมทรานส์กลูตามีนส์จากจุลินทรีย์เข้มข้น 8 หน่วย/g โปรตีน และกลีเซอรอลเข้มข้น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน

วอเตอร์แอกทิวิตี	ปริมาณความชื้น (%โดยน้ำหนักสด)
0.140	10.12 ^h ±0.02
0.285	12.55 ^g ±0.94
0.380	14.59 ^f ±0.11
0.439	15.8 ^e ±0.66
0.510	16.91 ^d ±0.21
0.570	17.55 ^d ±0.04
0.663	18.06 ^c ±0.45
0.770	18.45 ^c ±0.13
0.837	18.99 ^c ±0.14
0.920	19.63 ^b ±0.20
0.940	20.43 ^a ±0.10

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวนันทิพย์ จุ่มสันเทียะ เกิดเมื่อวันที่ 11 มีนาคม พ.ศ. 2526 ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ สำเร็จการศึกษาระดับวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เมื่อปีการศึกษา 2549 จากนั้นเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2550

รายการสิ่งตีพิมพ์และเผยแพร่

นันทิพย์ จุ่มสันเทียะ, ธนจันทร์ มหาวนิช และ เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์. 2553. การใช้ แทรนส์กลูตามิเนสจากจุลินทรีย์เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มเชิงประกอบจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและเจลาติน. ใน การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 16 (ภาคบรรยาย), มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่. 11-12 มีนาคม 2553.