

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

#### 5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาทรายแดง (*Nemipterus hoxodon*)

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาทรายแดง (*Nemipterus hoxodon*) ด้วยวิธีมาตรฐาน A.O.A.C. (1995) (ตารางที่ 5) จะพบว่าเนื้อปลาทรายแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยมีปริมาณความชื้น 77.09% โปรตีน 17.77% ไขมัน 4.07% เถ้า 1.01% และคาร์โบไฮเดรต 0.06% เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนจะพบว่าปริมาณโปรตีนทั้งหมดใกล้เคียงกับปลาชนิดอื่นๆ เช่น catfish 17.6% cod 17.6% herring 17.3% haddock 18.3% และ salmon 17.2% เป็นต้น (Pigott and Tucker, 1990) มีปริมาณไขมันค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับปลาบางชนิด เช่น mackerel 12.2% menhaden 11.8 herring 11.3% salmon 13.4% และ brook trout 11.4% ซึ่งจัดเป็นปลาเนื้อแดง และมีปริมาณไขมันใกล้เคียงกับปลาบางชนิดซึ่งเป็นปลาเนื้อขาวเช่น catfish 3.1 – 5.2% และ rainbow trout 6.8% เป็นต้น (Pigott and Tucker, 1990) เนื่องจากปลาทรายแดงเป็นปลาชนิดที่เรียกว่าปลาเนื้อขาว จึงทำให้นิยมนำปลาทรายแดงมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตซูริมีเนื่องจากมีไขมันและรงควัตถุอื่นๆ อยู่น้อยจะทำให้สามารถกำจัดส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนกล้ามเนื้อออกไปโดยการล้างน้ำได้ง่ายขึ้น ทำให้ได้ซูริมีที่มีคุณภาพดี (Suzuki, 1981) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับปลาทรายแดงสายพันธุ์ *Nemipterus delagoae* พบว่า เนื้อปลาทรายแดงสายพันธุ์ *Nemipterus delagoae* มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดและเถ้าสูงกว่าเล็กน้อยคือ 21.30% และ 1.22% ตามลำดับ และมีปริมาณความชื้นและไขมันต่ำกว่าเล็กน้อยคือ 74.81% และ 1.22% ตามลำดับ (ปิยธิดา ธรรมบำรุง, วัลลภ อิมสุวรรณ และ อุษษาพรรณ รุ่งพิสุทธิพงศ์, 2543)

#### 5.2 การสกัดโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง

การสกัดโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงสามารถทำได้โดยการนำเนื้อปลาทรายแดงมาปั่นผสมกับน้ำกลั่นเย็น และนำไปผ่านขั้นตอนการหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกเนื้อปลาออกจากสารละลาย และทำ dialysis เพื่อกำจัดสารโมเลกุลเล็กๆ เช่น สารพวกเกลือแร่ต่างๆ ออก โปรตีนที่สกัดได้และผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งแล้วจะมีลักษณะเป็นผงสีขาวนวล น้ำหนักเบาในการสกัดจะใช้การ homogenized เนื้อปลากับน้ำกลั่นเพียงครั้งเดียว ทั้งนี้เนื่องจาก Lin, Park

และ Morrissey (1995) ได้รายงานไว้ว่า การล้างเนื้อปลาในครั้งแรกของกระบวนการผลิตซูริมิทำให้น้ำที่ทิ้งจากกระบวนการผลิตในขั้นนี้มีปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ปนออกมากสูงที่สุด ซึ่งจะมีปริมาณโปรตีนประมาณ 2.34% จากนั้นเมื่อทำการล้างเนื้อปลาด้วยน้ำอีกครั้งจะทำให้ปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมาลดลงอย่างมากคือเหลือเพียง 0.97% และมีการเจือปนของ myofibrillar protein ในปริมาณที่มากขึ้นจากการล้างที่รุนแรง การเจือปนนี้ทำให้ความบริสุทธิ์ของโปรตีนละลายน้ำต่ำลงซึ่งไม่เป็นที่ต้องการในการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

จากการสกัดโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงด้วยวิธีการ homogenized เนื้อปลากับน้ำกลั่นและนำไปผ่านขั้นตอนการหมุนเหวี่ยง และการทำ dialysis เพื่อกำจัดสารโมเลกุลเล็กๆ พบว่า ปริมาณโปรตีนละลายน้ำหรือ sarcoplasmic proteins จากปลาทรายแดงที่สกัดได้เป็น 16.26% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในเนื้อปลาทรายแดง (ตารางที่ 6) ซึ่งในเนื้อปลาทรายแดงจะมีปริมาณโปรตีนทั้งหมดอยู่ 17.77% แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับที่ Whitaker และ Tannenbaum (1977) รายงานว่า โปรตีนที่ละลายน้ำส่วนที่เป็น sarcoplasmic proteins จะมีอยู่ประมาณ 30 – 35 % ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดเนื้อปลา ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองได้ทำการล้างเนื้อปลาด้วยน้ำเพียงครั้งเดียว โดยอาศัยหลักที่ว่า การล้างเนื้อปลาในครั้งแรกของกระบวนการผลิตซูริมิทำให้น้ำที่ทิ้งจากกระบวนการผลิตในขั้นนี้มีปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ปนออกมากสูงที่สุด และปริมาณของโปรตีนดังกล่าวจะลดลงมากและมีการเจือปนของ myofibrillar protein มากขึ้นในการล้างน้ำครั้งต่อไป (Lin, Park and Morrissey, 1999) และในการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงไม่ต้องการให้มี myofibrillar protein เจือปนอยู่มากนัก

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่สกัดได้ โดยวิธี Biuret assay ของ Copeland (1994) ซึ่งใช้ตรวจสอบโปรตีนที่มีความเข้มข้นในช่วง 0.5 – 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 7) พบว่า โปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่สกัดได้มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบทั้งหมด 97.63% ซึ่งเป็นปริมาณที่ค่อนข้างมาก ทั้งนี้เนื่องจากการในเนื้อปลาทรายแดงมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบค่อนข้างมากอยู่แล้ว มีส่วนของไขมัน เกล็ด และคาร์โบไฮเดรต อยู่ในปริมาณน้อย เมื่อสกัดโปรตีนที่ละลายน้ำได้โดยการนำเนื้อปลามาปั่นผสมกับน้ำกลั่นที่เย็น จึงสกัดได้โปรตีนเป็นส่วนใหญ่! ซึ่งส่วนที่เหลืออีกประมาณ 2.37% ที่ไม่ใช่โปรตีนนั้นอาจจะเป็นไขมันและแร่ธาตุที่ไม่ใช่โปรตีนซึ่งสามารถละลายน้ำได้ละลายปนออกมาเพียงเล็กน้อย

### 5.3 การศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิในการให้ความร้อน ที่มีต่อสมบัติด้านต่าง ๆ ของฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

#### 5.3.1 การผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

จากการทดลองผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง พบว่า ค่า pH ปกติของสารละลายโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง โดยเฉลี่ยมีค่า 6.43 แผ่นฟิล์มที่ผลิตได้โดยทั่วไปมีลักษณะเป็นแผ่นต่อเนื่องกันซึ่งเกิดจากการเกิดโครงสร้างตาข่ายระหว่างโมเลกุลของโปรตีน อันเป็นผลเนื่องมาจากการเสียสภาพธรรมชาติของโมเลกุลโปรตีน แผ่นฟิล์มมีลักษณะอ่อนมาก ไม่ค่อยมีความแข็งแรงนัก เนื่องจากโปรตีนที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วจะเป็นโปรตีนก้อนกลมขนาดเล็ก มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จากการวิเคราะห์โดยวิธี SDS-PAGE electrophoresis (Iwata *et al.*, 2000) ซึ่งใช้โปรตีนละลายน้ำจากปลา blue marlin ในการวิเคราะห์ทำให้ทราบว่าโปรตีนละลายน้ำจากปลาทะเลมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงต่ำกว่า 94 kDa ลงมา ลักษณะเช่นนี้ทำให้สายของโปรตีนที่คลายออกเมื่อปรับ pH หรือให้ความร้อนแก่สารละลายค่อนข้างสั้น ทำให้โครงสร้างตาข่ายไม่หนาแน่น แผ่นฟิล์มจึงมีลักษณะอ่อนทุกภาวะการผลิต ผลดังกล่าวเป็นไปตามรายงานของ Banker (1966) ที่ว่าการขึ้นรูปฟิล์มต้องการโพลีเมอร์สายยาวเพื่อทำให้โครงสร้างตาข่ายแข็งแรง และความแข็งแรงของฟิล์มจะเพิ่มขึ้นเมื่อสายโพลีเมอร์ที่ใช้ยาวขึ้น

เมื่อปรับ pH ของสารละลายโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงเป็น 3 5 7 9 และ 11 พบว่า ที่ pH 5 และ 7 ไม่สามารถนำสารละลายมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้เนื่องจากโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงที่สกัดได้เป็นโปรตีนจำพวก sarcoplasmic proteins ซึ่งมีค่า pI อยู่ในช่วงประมาณ 6.8 – 7.8 (Suzuki, 1981) ที่ pH 5 เป็นภาวะที่ใกล้เคียงกับค่า pI ของโปรตีนมาก ทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีนบางส่วน แต่ไม่รุนแรง จึงมีลักษณะเป็นสารละลายสีขาวขุ่น แต่ยังเป็นเนื้อเดียวกัน ที่ pH ใกล้เคียงกับ pI นี้ โปรตีนจะมีการคลายตัวน้อยมาก เนื่องจากประจุโดยรวมของโปรตีนเกือบจะเท่ากับศูนย์ ทำให้การเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายโพลีเพปไทด์เกิดขึ้นน้อยมาก เมื่อนำมาขึ้นรูปจึงไม่สามารถเกิดโครงสร้างตาข่ายที่ดีได้ แต่จะมีลักษณะผิวแตก และขาดทันทีที่ดึงออกจากพิมพ์ ส่วนที่ pH 7 อยู่ในช่วง pI ของโปรตีน โมเลกุลโปรตีนมีประจุโดยรวมเป็นศูนย์ทำให้เกิดการตกตะกอน โปรตีนไม่มีการคลายตัว และจึงไม่เกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลโปรตีน และเมื่อให้ความร้อนกับสารละลายจะมองเห็นเป็นตะกอนขุยขาวๆ ชัดเจน และเมื่อนำมาขึ้นรูปจะไม่สามารถขึ้นรูปได้ นอกจากนี้เมื่อปรับ pH ของสารละลายโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงเป็น 9 และให้ความร้อนที่ 80 หรือ 90 องศา



เซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จะไม่สามารถขึ้นรูปแผ่นฟิล์มได้เช่นกัน เนื่องจากที่ pH 9 เป็นช่วงที่ห่างจากค่า pI ของโปรตีนไม่มากนัก ทำให้โปรตีนมีความสามารถในการต้านทานความร้อนต่ำ เมื่อเทียบกับโปรตีนที่อยู่ในภาวะ pH สูงหรือต่ำกว่า pI มากๆ (Byler and Purcell, 1989) และเนื่องจากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทะเลส่วนใหญ่มีค่า denaturation temperature อยู่ที่ประมาณ 75 องศาเซลเซียส (Suzuki, 1981) ดังนั้นเมื่อโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงอยู่ในสารละลายที่ pH 9 และได้รับความร้อนสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส จึงเกิดการตกตะกอนเป็นขุยขาวๆ สารละลายไม่เป็นเนื้อเดียวกัน และไม่สามารถขึ้นรูปได้ จึงทำให้ไม่สามารถทดสอบสมบัติของฟิล์มที่ pH 9 และให้ความร้อนที่ 80 หรือ 90 องศาเซลเซียส ได้

จากที่กล่าวมาข้างต้นทำให้สามารถผลิตฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนที่ละลายน้ำจากปลาทรายแดงได้ที่ pH เท่ากับ 3, 9 (ให้ความร้อนที่ 60 และ 70 องศาเซลเซียส) และ 11 เท่านั้น

### 5.3.2 การศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิในการให้ความร้อนต่อสมบัติด้านต่างๆ ของฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

ในการเตรียม film-forming solution ที่ pH ของสารละลายเท่ากัน (รูปที่ 6) พบว่าเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายค่อนข้างต่ำคือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และการให้ความร้อนที่ค่อนข้างสูงคือที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จะทำให้ฟิล์มที่ได้มีลักษณะอ่อน ลอกออกจากพิมพ์ได้ยาก และเมื่อพิจารณาค่าการต้านทานแรงดึงขาดพบว่า มีค่าต่ำกว่าฟิล์มที่ผลิตโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 29) ทุกค่า pH ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำเกินไปจะทำให้โครงสร้างธรรมชาติของโปรตีนถูกทำลายเพียงบางส่วน จึงมีหมู่ฟังก์ชันที่เปิดออกมาเพียงเล็กน้อยการเกิดปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสายโพลีเพปไทด์จึงน้อย โครงสร้างตาข่ายของฟิล์มจึงไม่แข็งแรง แต่ถ้าหากให้ความร้อนสูงมากเกินไปอาจเกิดการตกตะกอนโปรตีนบางส่วนซึ่งจะเป็นตัวขัดขวางการเกิดปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนที่ยังไม่ตกตะกอน ทำให้ได้โครงสร้างที่ไม่ดีเช่นกัน (Morrissey, Mulvihill, and O'Veill, 1987; Banker, 1966)

เมื่อพิจารณาที่ pH ของสารละลาย film-forming solution ต่างๆ กันจะพบว่า ที่ pH สูงหรือต่ำกว่า pH ธรรมชาติของสารละลายโปรตีนหลายๆ ฟิล์มที่ผลิตได้จะมีลักษณะอ่อนและมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดต่ำ ที่ pH ต่ำๆ หรือที่ภาวะเป็นกรดนั้น จะเป็นการทำลายโครงสร้างของโปรตีนบางส่วน ซึ่งเป็นผลมาจากการแตกออกของพันธะโคเวเลนต์ในบางช่วงของโมเลกุล ทำให้โปรตีนบางส่วนตกตะกอน เมื่อสูญเสียโปรตีนในการเกิดโครงสร้างตาข่ายของฟิล์มไปบางส่วน



ฟิล์มที่ผลิตได้จึงไม่ค่อยแข็งแรง ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยึดตัวจนถึงจุดขาดของฟิล์ม (รูปที่ 7) พบว่ามีค่าต่ำด้วย แต่เมื่อปรับ pH ของสารละลาย film-forming solution ให้สูงมากๆ พบว่าฟิล์มที่ได้จะมีลักษณะอ่อน แต่มีความสามารถในการยึดตัวดีกว่า เนื่องจากโปรตีนสามารถคลายตัวได้ดีแต่มีประจุเป็นลบสูง จึงเกิดโครงสร้างตาข่ายได้แต่ไม่จับกันแน่น (Catsimpoolas and Meyer, 1970)

ลักษณะของฟิล์มบริเวณได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ผลิตได้ค่อนข้างอ่อนมากทุกภาวะการผลิตและมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดน้อยเมื่อเทียบกับฟิล์มชนิดอื่นๆ เช่น polyester film (178 MPa), polyvinylidene chloride film (93 MPa), cellulose acetate film (66 MPa), myofibrillar protein film (17 MPa) (Iwata *et al.*, 2000) whey protein isolate film (13.9 MPa) และ methylcellulose film (56.1 MPa) (Cuq, Aymard, Cuq and Guilbert, 1995)

เมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม พบว่า สิ่งที่เกิดขึ้นได้อย่างเด่นชัดคือ เมื่อ pH ของสารละลาย film-forming solution สูงขึ้น ค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดจะสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (รูปที่ 7) เนื่องจากที่ pH สูงๆ โปรตีนสามารถคลายตัวได้ดี ทำให้โครงสร้างมีลักษณะคลายตัวเป็นเส้น มีหมู่มงกซ์ชั้นเปิดออกมามากและพร้อมที่จะเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายของโปรตีน แต่สายโปรตีนดังกล่าวจะมีประจุเป็นลบสูงทำให้เกิดการผลักกันเอง จึงเกิดปฏิสัมพันธ์กันได้ยาก และเกิดเป็นแห่งๆ ไม่ต่อเนื่อง ทำให้ฟิล์มมีลักษณะอ่อนแต่ยังสามารถยึดตัวได้ดี ลักษณะดังกล่าวนี้เป็นไปตามที่ Guilbert (1986) กล่าวไว้ว่า ความสามารถในการยึดตัวของฟิล์มขึ้นกับระยะห่างระหว่างจุดที่เกิดปฏิสัมพันธ์บนสายโพลีเมอร์ ถ้าระยะห่างดังกล่าวมากฟิล์มจะมีความสามารถในการยึดตัวได้ดีกว่า

จากการคำนวณทางสถิติพบว่าค่า pH และอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่สารละลาย film-forming solution เป็นปัจจัยที่มีผลร่วมกันต่อการเปลี่ยนแปลงค่าการต้านทานแรงดึงขาดและค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์ม (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 29 และ 30) นั่นคือปัจจัยทั้งสองนี้มีปฏิสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน ทำให้ยากต่อการอธิบายผลที่เกิดขึ้นเนื่องจากเมื่อ pH ของโปรตีนแต่ละชนิดเปลี่ยนแปลงไป จะทำให้สมบัติทางเคมีและกายภาพของโปรตีนนั้นเปลี่ยนแปลงไปด้วย Byler และ Purcell (1989) พบว่า pH และความร้อนเป็นปัจจัยที่มีผลร่วมกันต่ออัตราการเสียสภาพของโปรตีน โดยที่ภาวะต่างๆ กัน โปรตีนแต่ละชนิดจะมีร้อยละการเสียสภาพไม่เท่ากัน เช่น G - actin จะเสียสภาพที่ 57.2 องศาเซลเซียส ที่ pH ปกติ แต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่ pH เท่ากับ 8 แล้วให้ความร้อนไปเรื่อยๆ จนมีอุณหภูมิเป็น 87.2 องศาเซลเซียส โปรตีน G - actin ก็ยังเหลือโครงสร้างธรรมชาติที่เป็นเกลียวอัลฟาอยู่มากถึง 60% จากผลการทดลองของ Byler และ Purcell (1989) ทำให้ทราบว่า การปรับ pH มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการในโมเลกุลโปรตีน ที่สำคัญคือเมื่อปรับ pH ให้ห่างจากค่า pI ของโปรตีนมากขึ้นจะทำให้

โปรตีนนั้นๆ มีความสามารถในการทนความร้อนได้ดีขึ้น ซึ่งจะทำให้การคลายตัวและการเปิดออกของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เมื่อให้ความร้อนเป็นไปได้ยากขึ้น เมื่อหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เปิดออกมาน้อยก็จะทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์ ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนได้น้อย ความแข็งแรงของฟิล์มหรือค่าการต้านทานแรงดึงขาดจึงต่ำ ดังนั้นเมื่อปรับ pH ให้สูงขึ้นร่วมกับการให้ความร้อน ในช่วงแรกหรือช่วง pH ต่ำๆ จึงทำให้ค่าการต้านทานแรงดึงขาดที่ได้ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากที่ pH 3 ยังเป็นค่าที่ห่างจาก pI ของ sarcoplasmic proteins มาก ถึงแม้ว่าโมเลกุลจะเกิดการคลายตัวเนื่องจากประจุบวกที่สูง แต่การคลายตัวเนื่องจากประจุนี้นำผลต่อการเปิดออกของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับการให้ความร้อน และการปรับ pH ให้ต่ำลงนี้ยังทำให้โปรตีนสามารถทนความร้อนได้ดีขึ้นด้วย โปรตีนจึงมีการเสถียรภาพเนื่องจากความร้อนได้น้อยลง ผลที่ตามมาคือหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เปิดออกมาน้อย โครงสร้างตาข่ายที่เกิดขึ้นจึงไม่แข็งแรงนัก แต่เมื่อปรับ pH ให้สูงขึ้นคือที่ pH 9 ความร้อนสามารถทำให้เกิดการเสถียรภาพของโมเลกุลโปรตีนมากขึ้น เกิดการเปิดออกของหมู่ฟังก์ชันได้มากขึ้น การเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลโปรตีนมีมากขึ้น โครงสร้างตาข่ายจึงแข็งแรงขึ้น และเมื่อปรับ pH เพิ่มขึ้นไปอีกคือที่ pH 11 จะพบว่าค่าการต้านทานแรงดึงขาดเริ่มลดลงอีก เนื่องจากที่ pH ดังกล่าวห่างจากค่า pI ของโปรตีนมากขึ้น ความร้อนจึงสามารถทำให้เกิดการเสถียรภาพของโปรตีนได้น้อยลงอีก โครงสร้างตาข่ายจึงแข็งแรงน้อยลง ส่วนค่าการต้านทานแรงดึงขาดในแต่ละภาวะจะมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ใช้เป็นวัตถุดิบ เนื่องจากองค์ประกอบและลักษณะโมเลกุลของโปรตีนมีผลต่อชนิดของพันธะที่จะเกิดขึ้นในการสร้างโครงสร้างตาข่าย ที่เป็นเช่นนี้เพราะ chain-to-chain interaction ซึ่งทำให้เกิดโครงสร้างที่ต่อเนื่องของแผ่นฟิล์มเป็นผลมาจากการคลายตัวของโมเลกุลและลำดับของกรดอะมิโนในโมเลกุลของโปรตีนนั้นๆ ซึ่งถ้ากรดอะมิโนที่มีอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนมีลักษณะที่มีขั้ว หรือ เป็น hydrophobic หรือ มีหมู่ thiol อยู่มากจะเป็นการเพิ่มปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายโมเลกุลโปรตีน (Boye, Ma and Harwalker, 1997)

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มที่ pH และอุณหภูมิในการผลิตต่างๆ (รูปที่ 8) พบว่า มีแนวโน้มแตกต่างกันไปในแต่ละค่า pH และอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต film-forming solution เมื่อพิจารณาจากภาพรวมจะเห็นว่าแนวโน้มคล้ายกับค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม (รูปที่ 6) คือในทุกค่า pH ช่วงแรกที่ให้ความร้อนค่าการซึมผ่านของไอน้ำจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  และเมื่อให้ความร้อนสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดหนึ่งจะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 31) ทั้งนี้ต้องอาศัยการพิจารณาปัจจัยหลายด้านพร้อมกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงของ denaturation temperature ( $T_d$ ) ของโปรตีน ซึ่งจะเปลี่ยนเมื่อค่า pH ของโปรตีนเปลี่ยน (Boye, Ma and Harwalker, 1997) นอกจากนี้ที่ pH สูงมากๆ

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างหมู่ฟังก์ชัน 2 หมู่คือ carboxylate-phenolic group และ carboxylate-protonated amino group ( $\text{NH}_3^+$ ) จะถูกยับยั้ง (Morrissey, Mulvihill, and O'Veill, 1987) โดยที่ pH สูงๆ จะทำให้ค่าพลังงาน ionization ของทั้งสองหมู่ดังกล่าวสูงขึ้น จึงแตกตัวได้ยากและไม่สามารถเกิดปฏิสัมพันธ์กันได้ (Catsimpooulas and Meyer, 1970) ซึ่งจะมีผลรบกวนการเกิดพันธะข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนทำให้เกิดช่องว่างระหว่างโครงสร้างตาข่ายได้ สังเกตได้จากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (รูปที่ 18 และ 20) ที่ pH สูงๆ แสดงให้เห็นรูเล็กๆ อยู่เล็กน้อยบนแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ pH 11 และค่า pi ของโปรตีนก็มีผลกระทบต่อค่าการซึมผ่านของไอน้ำเช่นกัน Brandenburg, Weller และ Testin (1993) กล่าวว่า เมื่อผลิตฟิล์มจาก soy protein isolate ที่ pH ใกล้กับค่า pi ของโปรตีนจะทำให้ฟิล์มมีค่าการซึมผ่านของไอน้ำสูงเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ผลิตที่ pH ห่างจากค่า pi ของโปรตีน นอกจากนี้ถ้าหากทำให้สารละลาย film-forming solution มี pH สูงมากๆ เนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนคลายตัวออกมามากสารละลายจะมีความหนืดสูงขึ้น จึงอาจมีฟองอากาศที่มองไม่เห็นแทรกอยู่มาก ซึ่งจะรบกวนการเกิดพันธะข้ามของโปรตีนได้เช่นกัน (McHugh, Aujard, and Krochta, 1994)

จากการคำนวณทางสถิติพบว่า ค่า pH ของสารละลายและอุณหภูมิในการให้ความร้อนเป็นปัจจัยที่มีผลร่วมกันต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์ม (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 31) ทั้งนี้เนื่องจากในแต่ละภาวะที่ใช้จะเกิดการเสียสภาพธรรมชาติของโมเลกุลโปรตีนไม่เท่ากัน และในสารละลายโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ pH ต่างกัน หมู่ฟังก์ชันต่างๆ ในโมเลกุลของโปรตีนก็จะมี activity ต่างกันไป ที่ pH สูงๆ มีหมู่ฟังก์ชัน 2 หมู่ถูกยับยั้งไม่ให้เกิดปฏิสัมพันธ์กับหมู่อื่นๆ ได้ดังที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้ไม่สามารถเกิดโครงสร้างตาข่ายตรงบริเวณที่มีหมู่ฟังก์ชัน 2 หมู่ได้อยู่ได้ แสดงให้เห็นว่าในบางภาวะที่ใช้ โมเลกุลของโปรตีนถูกทำให้เสียสภาพธรรมชาติมาก แต่อาจเป็นการทำให้เกิดการเปิดหมู่ carboxylate-phenolic group และ carboxylate-protonated amino group ที่ทำให้เกิดช่องว่างในโครงสร้างตาข่ายของแผ่นฟิล์มมากขึ้นด้วย เป็นผลให้แผ่นฟิล์มมีค่าการซึมผ่านของไอน้ำสูงขึ้นได้เช่นกัน ดังนั้นถ้าต้องการศึกษาให้แน่ชัดจะต้องศึกษาถึงระดับโมเลกุล และลำดับของกรดอะมิโนในโมเลกุลของโปรตีนแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง รวมถึงการจัดเรียงตัวของโมเลกุล รูปร่าง และพันธะต่างๆ ที่มีในโมเลกุลของโปรตีนแต่ละชนิดด้วย

เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มบริเวณที่ได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ผลิตโดยใช้ pH และอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่สารละลายต่างๆ กัน (รูปที่ 9) พบว่า โดยส่วนใหญ่จะมีแนวโน้มของค่าไปในทางตรงข้ามกับค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม (รูปที่ 6) คือที่ pH ในการผลิตเดียวกันในช่วงแรกที่เพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อน ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มจะมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  และเมื่ออุณหภูมิในการ



ให้ความร้อนสูงขึ้นจนถึงจุดหนึ่งค่าการละลายทั้งหมดจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณที่เป็น hydrophobic ส่วนใหญ่ของโปรตีนจะถูกจัดให้อยู่ด้านในของโครงสร้างเสมอในโปรตีนก่อนกลม การทำให้โปรตีนคลายเกลียวออกเป็นการเปิดให้หมู่ฟังก์ชันที่อยู่ภายในออกมา และเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลโปรตีนมากขึ้น เป็นเหตุให้โปรตีนนั้นๆ สูญเสียสมบัติการละลายเดิมและละลายน้ำได้น้อยลง (Albert, 1989) ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Perez-Gago, Nadaud และ Krochta (1999) ซึ่งเปรียบเทียบค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มโปรตีนเวย์ธรรมชาติกับฟิล์มโปรตีนเวย์ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน พบว่าฟิล์มที่ผ่านการให้ความร้อนจะมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดสูงและการละลายทั้งหมดต่ำกว่าฟิล์มโปรตีนเวย์ธรรมชาติ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองใน peanut protein film (Jangchud and Chinnan 1999) และ pea protein film (Choi and Han, 2001) อีกด้วย

การวิเคราะห์ค่าสีของแผ่นฟิล์มจากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงด้วยเครื่อง Minolta Croma Meter รุ่น CR-300 ในระบบ L a b (ตารางที่ 8) พบว่า เมื่อผลิตฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงโดยปรับ pH เป็น 3 9 และ 11 และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที แผ่นฟิล์มที่ผลิตได้จะมีค่า L ค่อนข้างสูงคืออยู่ในช่วง 83.07 – 84.26 แสดงว่าฟิล์มที่ผลิตได้มีความสว่างมากหรือมีความใสมาก เมื่อพิจารณาค่า a และ b พบว่า ทั้งค่า a และ b มีค่าต่ำในทุกๆ ภาวะการผลิต คือค่า a จะอยู่ในช่วงประมาณ 0.83 – 1.16 และค่า b อยู่ในช่วงประมาณ 2.37 – 3.72 แสดงให้เห็นว่าแผ่นฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงมีสีเหลืองอ่อนๆ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มบริโภคได้เป็นโปรตีนและมีคาร์โบไฮเดรตอยู่เล็กน้อย เนื่องจากในการทดลองหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret assay พบว่าโปรตีนที่ใช้เป็นวัตถุดิบไม่ได้ประกอบด้วยโปรตีน 100% และในการวิเคราะห์องค์ประกอบของเนื้อปลาทรายแดงพบว่ามีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบอยู่เล็กน้อยคือ 0.06% ทำให้อาจมีคาร์โบไฮเดรตปนอยู่ในโปรตีนที่เป็นวัตถุดิบเล็กน้อย จึงสามารถเกิดปฏิกิริยา Maillard ซึ่งเป็น non-enzymatic browning ขึ้นได้ (Lee, 1996) แต่เนื่องจากปริมาณน้ำตาลมีอยู่น้อยมากจึงเกิดได้เพียงเล็กน้อยและเห็นเป็นเพียงสีเหลืองอ่อนๆ เท่านั้น จากการคำนวณทางสถิติพบว่า ค่า L a และ b ของฟิล์มทุกภาวะการผลิตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 33 – 35) แสดงว่า pH และอุณหภูมิในการให้ความร้อนในการผลิตฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงไม่มีผลต่อค่าสีของฟิล์ม

จากการวิเคราะห์ค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนผ่านแผ่นฟิล์มโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงพบว่า แผ่นฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่สามารถ

นำมาวัดค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนได้มีเพียงภาวะเดียวคือแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ pH 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 9) เนื่องจากแผ่นฟิล์มที่ภาวะอื่นๆ ไม่สามารถทนขั้นตอนการดูดอากาศออกจากระบบได้ แผ่นฟิล์มจะขาดก่อนการวัดค่าต่างๆ จะเสร็จสิ้น ค่าการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนในฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงมีค่า  $1.89 \times 10^{-18} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$  ซึ่งสูงกว่าฟิล์มบริโคได้จากโปรตีนข้าวโพด ( $1.85 \times 10^{-18} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$ ) เล็กน้อย และมีค่าสูงกว่าฟิล์มบริโคได้จาก wheat gluten ( $1.20 \times 10^{-18} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$ ) และ wheat/soy protein ( $0.75 \times 10^{-18} \text{ mol.m/m}^2.\text{s.Pa}$ ) ค่อนข้างมาก (Gennadios *et al.*, 1996)

### 5.3.3 การวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวและโครงสร้างของแผ่นฟิล์มโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

จากภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ในรูปที่ 10 – 23 จะเห็นว่าพื้นผิวของฟิล์มที่ pH 3 หรือเป็นกรดนั้น (รูปที่ 10 12 และ 14) มีความเรียบน้อยกว่าที่ pH 11 หรือเป็นด่าง (รูปที่ 16 18 และ 20) เนื่องจากที่ภาวะเป็นกรดจะเกิดการแตกออกของพันธะโคเวเลนต์ในบางช่วงของโมเลกุลโปรตีน เมื่อให้ความร้อนจะยิ่งทำให้เกิดการแตกของพันธะมากขึ้น และทำให้โปรตีนบางส่วนตกตะกอน (Morrissey, Mulvihill, and O'Veill, 1987) จึงเห็นเป็นตะกอนโปรตีนเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วๆ ไปในแผ่นฟิล์ม และเป็นตัวขัดขวางการเกิดพันธะข้ามระหว่างโมเลกุลของโปรตีนที่ยังไม่ตกตะกอนอีกด้วย เพราะฉะนั้นเมื่อให้ความร้อนสูงเกินไปค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่ผลิตภายใต้ภาวะเป็นกรดจึงต่ำลงมากอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 6)

จากภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ในรูปที่ 15 21 และ 23 โครงสร้างด้านตัดขวางของฟิล์มที่มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่า (ฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ pH 3 และ 11 และให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส) จะมีลักษณะโครงสร้างค่อนข้างอัดกันแน่น มีรูพรุนน้อยกว่าโครงสร้างของฟิล์มที่มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดต่ำกว่า (ฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ pH 3 และ 11 และให้ความร้อนที่ 60 และ 70 องศาเซลเซียส) ซึ่งจะมีผลต่อค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มด้วยดังที่กล่าวมาแล้ว

จากภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ในรูปที่ 20 และ 22 แสดงให้เห็นลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้สภาวะเป็นด่างหรือ pH สูงๆ ร่วมกับการให้ความร้อนจะพบว่าแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้จะมีรูเล็กๆ ปรากฏอยู่ ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยบางอย่างที่รบกวนการเกิดพันธะข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนดังที่กล่าวแล้ว (Morrissey, Mulvihill, and O'Veill, 1987) เมื่ออุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่ film-forming solution สูงขึ้นพบว่า แผ่นฟิล์มมีรูเล็กๆ มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนมากขึ้นทำให้โมเลกุลโปรตีนคลายตัวออก

มากขึ้น จึงมีการเปิดหมู่ carboxylate-phenolic group และ carboxylate-protonated amino group ออกมามากขึ้นทำให้เกิดช่องว่างในโครงสร้างตาข่ายของฟิล์มมากขึ้นด้วย

#### 5.3.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่เกิดขึ้นในระหว่างการผลิตแผ่นฟิล์มบริโภาคได้ โดยวิธี SDS-PAGE electrophoresis

จากผลการวิเคราะห์รูปแบบของโปรตีนในโปรตีนที่ละลายน้ำได้จากปลาทรายแดง ที่ปรับ pH เป็น 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในการวิเคราะห์ใช้ 12.5% separating gel และ 4% stacking gel ใช้กระแสไฟ 100 V. ใช้โปรตีนมาตรฐานที่มีมวลโมเลกุล 97 66 45 30 20.1 และ 14.4 kDa ได้ผลดังรูปที่ 24 ช่อง B C และ D เป็นการวิเคราะห์โดยมีการเติม 2-mercaptoethanol ส่วนช่อง E F และ G เป็นการวิเคราะห์โดยไม่มีการเติม 2-mercaptoethanol ซึ่งในการวิเคราะห์ด้วยวิธี SDS-PAGE electrophoresis นี้ 2-mercaptoethanol เป็นสารที่มีหน้าที่ตัดพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เมื่อพิจารณาส่วนที่มีการเติม 2-mercaptoethanol เปรียบเทียบกับส่วนที่ไม่มีการเติม 2-mercaptoethanol ในช่อง D และ G จะพบว่าช่อง G มีลักษณะไม่แยกเป็นแถบที่ชัดเจน แสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่ปรับ pH เป็น 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส จะเกิดการเสียสภาพจนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดโมเลกุลเนื่องจากการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลโปรตีนแบบสุ่ม จึงไม่เกิดแถบที่เด่นชัดแต่จะกระจัดกระจายอยู่ในทุกช่วงขนาดโมเลกุล และแถบที่ปรากฏมีลักษณะจางกว่าแถบอื่นๆ อาจเนื่องมาจากการเกิดปฏิสัมพันธ์ของโมเลกุลโปรตีนทำให้โมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้นจึงเคลื่อนที่ได้ช้ามากในอะครีลาไมด์เจลความเข้มข้น 12.5% เมื่อเปรียบเทียบกับช่อง D ซึ่งเป็นสารละลายโปรตีนที่ปรับ pH เป็น 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แต่มีการเติม 2-mercaptoethanol ในการวิเคราะห์ จะเห็นแถบต่างๆ แยกกันอย่างชัดเจน เนื่องจากมีการตัดพันธะไดซัลไฟด์เกิดขึ้น โมเลกุลของโปรตีนจึงมีขนาดเล็กลงและสามารถเคลื่อนที่ในแผ่นอะครีลาไมด์เจลความเข้มข้น 12.5% ได้ดีกว่า จากผลการวิเคราะห์ที่แสดงในช่อง G และ D ทำให้ทราบว่า การปรับ pH ของสารละลายโปรตีนเป็น 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ และเกิดการรวมตัวกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์เป็นส่วนใหญ่ พันธะไดซัลไฟด์นี้เป็นพันธะสำคัญในการเกิดฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีน เนื่องจากเป็นพันธะที่ทำให้เกิดโครงสร้างที่ต่อเนื่องกันของแผ่นฟิล์ม (Iwata *et al.*, 2000)



จากผลการทดลองที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ pH และอุณหภูมิในการให้ความร้อนต่างๆ จะทำให้ฟิล์มมีสมบัติทางกายภาพแตกต่างกันไป ซึ่งในการทดลองนี้จะเน้นในเรื่องการหาภาวะที่ทำให้ได้ฟิล์มบริโภาคที่มีความแข็งแรงทนทานในการใช้งานมากที่สุด ดังนั้นภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงนี้คือ ที่ pH 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ในปี 2000 Iwata และคณะ ได้ทำการทดลองผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลา Blue marlin พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตฟิล์มบริโภาคได้นี้คือที่ pH 10 อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากให้ฟิล์มที่มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดและค่าร้อยละการยืดตัวดีที่สุด จึงนำภาวะการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ pH 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียสไปศึกษาต่อในการทดลองขั้นต่อไป

#### 5.4 การศึกษาผลของชนิดและปริมาณพลาสติกไซเซออร์ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆ ของฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

##### 5.4.1 การผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงโดยใช้ชนิดและปริมาณของพลาสติกไซเซออร์ต่างๆ กัน

ผู้วิจัยสนใจศึกษาผลกระทบของพลาสติกไซเซออร์ต่อสมบัติต่างๆ ของฟิล์มบริโภาคได้เนื่องจากได้ทดลองผลิตแผ่นฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ความเข้มข้นของสารละลาย 3% ปรับ pH ของสารละลายเป็น 9 และให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยไม่มีการเติมพลาสติกไซเซออร์ พบว่าสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้แต่มีลักษณะบางและเปราะมาก ไม่มีความสามารถในการยืดตัว และไม่สามารถลอกออกจากพิมพ์เพื่อนำมาวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ได้ แต่หากมีการเติมพลาสติกไซเซออร์แล้วจะทำให้แผ่นฟิล์มที่ผลิตได้มีความหนามากขึ้นและลอกออกจากแม่พิมพ์ซิลิโคนได้ง่ายขึ้นเนื่องจากความหนาของฟิล์มจะขึ้นกับปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำทั้งหมดที่ใช้ผลิตเป็นแผ่นฟิล์ม ซึ่งในที่นี้คือโปรตีนละลายน้ำได้จากปลาทรายแดงและพลาสติกไซเซออร์ที่ใช้ นอกจากนี้พลาสติกไซเซออร์ยังทำให้แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่นมากขึ้น และลดความเปราะแตกง่ายของฟิล์มด้วย (Gennadios *et al*, 1996)

ในการทดลองขั้นนี้ใช้พลาสติกไซเซออร์ในการผลิตฟิล์มทั้งหมด 3 ชนิด คือ กลีเซอรอล ซอร์บิทอล และ โพลีเอทิลีน ไกลคอล ที่ระดับความเข้มข้นของพลาสติกไซเซออร์ 3 ระดับคือ 40% 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จากการทดลองพบว่าแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้มีลักษณะพื้นผิวต่อเนื่องเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความหนามากขึ้นเล็กน้อยเมื่อปริมาณพลาสติกไซเซออร์เพิ่มขึ้น (เพิ่มจาก  $0.045 \pm 0.005$  มิลลิเมตร เป็น  $0.060 \pm 0.005$  มิลลิเมตร เมื่อเพิ่มปริมาณพลาสติก

ไซเซอรจาก 40% เป็น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้) เนื่องจากในการผลิตฟิล์มบรีโคได้จากโปรตีนนั้นเมื่อกำหนดให้ปัจจัยอื่นๆ คงที่ ความหนาของฟิล์มก็จะขึ้นอยู่กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในสารละลาย film-forming solution ซึ่งในที่นี้คือ โปรตีนและพลาสติกไซเซอรที่เติมลงไปนั่นเอง (Cuq, Gontard, Cuq, and Guilbert, 1996)

จากการทดลองพบว่าการผลิตฟิล์มบรีโคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงโดยใช้ชนิดและปริมาณพลาสติกไซเซอรต่างๆ กัน จะได้แผ่นฟิล์มที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่อ่อน สามารถดึงหรือฉีกให้ขาดได้ง่าย เนื่องจากโปรตีนที่ใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มเป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็ก จึงทำให้โครงสร้างตาข่ายที่ได้ไม่แข็งแรงมากนัก (Banker, 1966)

#### 5.4.2 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของฟิล์มบรีโคได้ที่ผลิตโดยใช้ชนิดและปริมาณพลาสติกไซเซอรต่างๆ กัน

##### 5.4.2.1 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของฟิล์มบรีโคได้ที่ผลิตโดยใช้กลีเซอรอล ปริมาณต่างๆ กันเป็นพลาสติกไซเซอร

เมื่อพิจารณาค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร (รูปที่ 25 และ 26) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลจาก 40% เป็น 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ค่าการต้านทานแรงดึงขาดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 36) คือลดลงจาก 2.91 MPa เป็น 1.85 MPa และ 1.62 MPa ตามลำดับ และค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 37) คือเพิ่มขึ้นจาก 12.75% เป็น 47.07% และ 65.44% ของความยาวเดิมตามลำดับ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากพลาสติกไซเซอรจะเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างแต่ละสายของโปรตีนทำให้ interaction bonding ต่ำลง เมื่อเพิ่มปริมาณพลาสติกไซเซอรขึ้นจะทำให้ interaction bonding ต่ำลงเรื่อยๆ ค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มจึงลดลงอีก และทำให้ฟิล์มมีลักษณะที่ยืดตัวได้มากขึ้นด้วย (Donhowe and Fennema, 1994) คือเนื้อฟิล์มจะอ่อนลงแต่ยืดตัวได้มากขึ้น การทดลองดังกล่าวให้ผลเช่นเดียวกันกับการผลิตฟิล์มบรีโคได้จากโปรตีนชนิดอื่นๆ ได้แก่ egg albumin films (Gennadios *et al*, 1996), whey protein films (McHugh and Krochta, 1994) และ wheat gliadin films (Sanchez *et al*, 1998)

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (รูปที่ 27) พบว่า เมื่อปริมาณของกลีเซอรอลซึ่งใช้เป็นพลาสติกไซเซอรเพิ่มขึ้นจาก 40% เป็น 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จะทำให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่

38) โดยเพิ่มจาก  $1.49 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa เป็น  $1.88 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa และ  $2.03 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากพลาสติกไซเซอรจะไปเพิ่ม intermolecular spacing ของฟิล์มทำให้ permeability ของฟิล์มสูงขึ้น (McHugh, Aujard and Krochta, 1994) ผลการทดลองดังกล่าวนี้ตรงกับการผลิตฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนชนิดอื่นๆ ได้แก่ egg albumin films (Gennadios *et al*, 1996), zein films (Parris and Coffin, 1997) และ whey protein films (McHugh, Aujard and Krochta, 1994)

เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์ม (รูปที่ 28) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของกลีเซอรอลซึ่งใช้เป็นพลาสติกไซเซอรจาก 40% เป็น 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จะทำให้ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 39) โดยเพิ่มจาก 50.10% เป็น 50.33% และ 65.65% ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากกลีเซอรอลที่ใช้เป็นพลาสติกไซเซอรนั้นมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีพอใช้ นอกจากนี้พลาสติกไซเซอรที่เติมลงไปยังไปช่วยลดแรงดึงดูระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เมื่อความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอรสูงขึ้นแรงดึงดูระหว่างโมเลกุลของโปรตีนก็ยิ่งต่ำลง ทำให้โปรตีนสามารถละลายออกมาได้มากขึ้น ผลการทดลองนี้เป็นไปในทำนองเดียวกับการทดลองใน pea protein films (Choi and Han, 2001)

เมื่อพิจารณาค่าสีจากตารางที่ 10 พบว่า เมื่อผลิตฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงโดยใช้กลีเซอรอล 40% 50% และ 60% เป็นพลาสติกไซเซอร ฟิล์มที่ผลิตได้ในทุกภาวะมีค่า L ค่อนข้างสูงคือประมาณ 83.70 – 83.86 แสดงว่าฟิล์มมีความสว่างมากหรือมีความใสมาก ส่วนค่า a และ b อยู่ในช่วงค่อนข้างต่ำคือประมาณ 0.55 – 0.68 และ 4.34 – 4.82 ตามลำดับ จะเห็นว่าค่า b มีค่าสูงกว่า a แสดงว่าแผ่นฟิล์มมีสีออกเหลืองอ่อนๆ ทุกภาวะการผลิต และเมื่อคำนวณทางสถิติพบว่า ค่า L a และ b ของฟิล์มทุกภาวะการผลิตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 40 – 42) แสดงว่าปริมาณของกลีเซอรอลที่ใช้เป็นพลาสติกไซเซอรไม่มีผลต่อค่าสีของฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

#### 5.4.2.2 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของฟิล์มบริโภคได้ที่ผลิตโดยใช้ซอร์บิทอลปริมาณต่างๆ กันเป็นพลาสติกไซเซอร

เมื่อพิจารณาค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร (รูปที่ 29 และ 30) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณพลาสติกไซเซอรจาก 40% เป็น 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ค่าการต้านทานแรงดึงขาดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$



(ภาคผนวก ง. ตารางที่ 43) คือลดลงจาก 5.05 MPa เป็น 3.57 MPa และ 3.25 MPa ตามลำดับ และค่าร้อยละการยึดตัวถึงจุดขาดจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 44) คือเพิ่มขึ้นจาก 7.59% เป็น 14.70% และ 18.45% ของความยาวเดิมตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้เหมือนกับการใช้ กลิเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ เนื่องจากพลาสติกไซเซอร์จะเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างแต่ละสายของโปรตีน ทำให้ interaction bonding ต่ำลง และทำให้ฟิล์มมีลักษณะที่ยึดตัวได้มากขึ้น (Donhowe and Fennema, 1994) เช่นเดียวกันกับการใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (รูปที่ 31) พบว่าเมื่อปริมาณของซอร์บิทอลซึ่งใช้เป็นพลาสติกไซเซอร์เพิ่มขึ้นจาก 40% เป็น 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จะทำให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 45) คือเพิ่มจาก  $1.15 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa เป็น  $1.47 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa และ  $1.59 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากพลาสติกไซเซอร์จะไปเพิ่ม intermolecular spacing ของฟิล์มทำให้สมบัติด้าน permeability ของฟิล์มสูงขึ้น (McHugh, Aujard and Krochta, 1994) เช่นเดียวกับการใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์ม (รูปที่ 32) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของซอร์บิทอลซึ่งใช้เป็นพลาสติกไซเซอร์ จะทำให้ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 46) คือเพิ่มจาก 25.64% เป็น 36.93% และ 42.60% ตามลำดับ เนื่องจากซอร์บิทอลที่ใช้เป็นพลาสติกไซ์นั้นมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีพอใช้นอกจากนี้พลาสติกไซเซอร์ที่เติมลงไปยังไปช่วยลดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เมื่อความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์สูงขึ้นแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของโปรตีนก็ยิ่งต่ำลง ทำให้โปรตีนสามารถละลายออกมาได้มากขึ้น (Choi and Han, 2001) ซึ่งเป็นเหตุผลเดียวกับการใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ นอกจากนี้จะสังเกตได้ว่าค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มที่ผลิตโดยซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซอร์จะต่ำกว่าเมื่อใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ (รูปที่ 28) ในทุกปริมาณพลาสติกไซเซอร์ที่ใช้

เมื่อพิจารณาค่าสีจากตารางที่ 11 พบว่า เมื่อผลิตฟิล์มบริโภคนได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงโดยใช้ซอร์บิทอล 40% 50% และ 60% เป็นพลาสติกไซเซอร์ ฟิล์มที่ผลิตได้ในทุกภาวะมีค่า L ค่อนข้างสูงคือประมาณ 83.45 – 83.58 แสดงว่าฟิล์มมีความสว่างมากหรือมีความใสมาก ส่วนค่า a และ b อยู่ในช่วงค่อนข้างต่ำคือประมาณ 0.41 – 0.45 และ 3.61 – 4.19 ตามลำดับ จะเห็นว่าค่า b มีค่าสูงกว่า a แสดงว่าแผ่นฟิล์มมีสีออกเหลืองอ่อนๆ ทุกภาวะการผลิต และเมื่อคำนวณทางสถิติพบว่า ค่า L a และ b ของฟิล์มทุกภาวะการผลิตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 47 – 49) แสดงว่าปริมาณของ

ซอร์บิทอลที่ใช้เป็นพลาสติกไฮเซอรไม่มีผลต่อค่าสีของฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

#### 5.4.2.3 การวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของฟิล์มบริโภาคใต้ที่ผลิตโดยใช้โพลิเอททิลีนไกลคอล ปริมาณต่างๆ กันเป็นพลาสติกไฮเซอร

จากรูปที่ 33 และ 34 เมื่อพิจารณาค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มที่ใช้โพลิเอททิลีนไกลคอลเป็นพลาสติกไฮเซอรพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณพลาสติกไฮเซอร จาก 40% เป็น 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ ค่าการต้านทานแรงดึงขาดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 50) คือลดลงจาก 2.23 MPa เป็น 2.04 MPa และ 1.54 MPa ตามลำดับ และค่าร้อยละการยืดตัวถึงจุดขาดจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 51) คือเพิ่มขึ้นจาก 28.01% เป็น 52.80% และ 65.76% ของความยาวเดิมตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้เหมือนกับการใช้กลีเซอรอลและซอร์บิทอล (รูปที่ 25 และ 29) เป็นพลาสติกไฮเซอร เนื่องจากพลาสติกไฮเซอรจะเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างแต่ละสายของโปรตีน ทำให้ interaction bonding ต่ำลง และทำให้ฟิล์มมีลักษณะที่ยืดตัวได้มากขึ้น (Donhowe and Fennema, 1994)

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (รูปที่ 35) พบว่าเมื่อปริมาณของโพลิเอททิลีนไกลคอลซึ่งใช้เป็นพลาสติกไฮเซอรเพิ่มขึ้นจาก 40% เป็น 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ จะทำให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 52) คือเพิ่มจาก  $1.45 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa เป็น  $1.54 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa และ  $1.61 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากพลาสติกไฮเซอรจะไปเพิ่ม intermolecular spacing ของฟิล์มทำให้สมบัติด้าน permeability ของฟิล์มสูงขึ้น (McHugh, Aujard and Krochta, 1994) เช่นเดียวกับการใช้กลีเซอรอลและซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไฮเซอร

เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์ม (รูปที่ 36) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของโพลิเอททิลีนไกลคอลซึ่งใช้เป็นพลาสติกไฮเซอรเป็น 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้จะทำให้ค่าการละลายทั้งหมดของฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 53) คือเพิ่มจาก 41.63% และ 45.11% เมื่อใช้โพลิเอททิลีนไกลคอล 40% และ 50% และเพิ่มเป็น 59.14% เมื่อใช้โพลิเอททิลีนไกลคอล 60% เนื่องจากโพลิเอททิลีนไกลคอลที่ใช้เป็นพลาสติกไฮเซอรนั้นมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีพอใช้ และพลาสติกไฮเซอรที่เติมลงไปยังไปช่วยลดแรงดึงดูระหว่างโมเลกุลของโปรตีน เมื่อความเข้มข้นของพลาสติกไฮเซอรสูงขึ้นแรงดึงดูระหว่างโมเลกุลของโปรตีนก็ยิ่งต่ำลง ทำให้โปรตีนสามารถละลายออกมาได้มากขึ้น (Choi and Han, 2001)

เมื่อพิจารณาค่าสีจากตารางที่ 12 พบว่า เมื่อผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงโดยใช้โพลีเอทิลีนไกลคอล 40% 50% และ 60% เป็นพลาสติกไซเซออร์ ฟิล์มที่ผลิตได้ในทุกภาวะมีค่า  $L$  ค่อนข้างสูงคือประมาณ 83.08 – 84.04 แสดงว่าฟิล์มมีความสว่างมากหรือมีความใสมาก ส่วนค่า  $a$  และ  $b$  อยู่ในช่วงค่อนข้างต่ำคือประมาณ 0.38 – 0.48 และ 6.98 – 7.41 ตามลำดับ จะเห็นว่าค่า  $b$  มีค่าสูงกว่า  $a$  แสดงว่าแผ่นฟิล์มมีสีออกเหลืองอ่อนๆ ทุกภาวะการผลิต และเมื่อคำนวณทางสถิติพบว่า ค่า  $L$   $a$  และ  $b$  ของฟิล์มทุกภาวะการผลิตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 54 – 56) แสดงว่าปริมาณของโพลีเอทิลีนไกลคอลที่ใช้เป็นพลาสติกไซเซออร์ไม่มีผลต่อค่าสีของฟิล์มจากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกันระหว่างพลาสติกไซเซออร์แต่ละชนิดพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณพลาสติกไซเซออร์ระหว่าง 40 – 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้ในการผลิตฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงพบว่า การใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์จะทำให้ฟิล์มที่ผลิตได้มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด คืออยู่ในช่วง 3.25 – 5.05 MPa (รูปที่ 29) รองลงมาคือการใช้กลีเซอรอลและโพลีเอทิลีนไกลคอล ซึ่งจะมีค่าในช่วง 1.62 – 2.91 MPa และ 1.54 – 2.23 MPa ตามลำดับ (รูปที่ 26 และ 33) ผลการทดลองดังกล่าวขัดแย้งกับ Gennadios และคณะ (1996) ซึ่งผลิตฟิล์มบริโภาคได้จาก egg albumin โดยใช้กลีเซอรอล (40%, 50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้) ซอร์บิทอล และโพลีเอทิลีนไกลคอล (50% และ 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนที่ใช้) เป็นพลาสติกไซเซออร์ และพบว่าที่ปริมาณพลาสติกไซเซออร์เท่ากันการผลิตฟิล์มโดยใช้โพลีเอทิลีนไกลคอลเป็นพลาสติกไซเซออร์ทำให้ได้ฟิล์มที่มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด รองลงมาคือการใช้ซอร์บิทอลและกลีเซอรอลตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของโปรตีนที่ใช้ในการผลิตฟิล์มบริโภาคได้ Guilbert และ Biquet (1996) กล่าวว่าพลาสติกไซเซออร์แต่ละชนิดจะมีผลกระทบต่อสมบัติต่างๆ ของฟิล์มที่ผลิตจากโพลิเมอร์ต่างชนิดกันแตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของพลาสติกไซเซออร์ระหว่าง 40 – 60% ของปริมาณโปรตีนที่ใช้ การใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์จะทำให้ฟิล์มมีค่าการซึมผ่านของไอน้ำต่ำที่สุดคืออยู่ในช่วง  $1.15 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa ถึง  $1.59 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa รองลงมาคือโพลีเอทิลีนไกลคอล และกลีเซอรอล ซึ่งจะมีค่าในช่วง  $1.45 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa ถึง  $1.61 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa และ  $1.49 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa ถึง  $2.03 \times 10^{-10}$  g.m/m<sup>2</sup>.s.Pa ตามลำดับ ผลการทดลองดังกล่าวตรงกับผลการทดลองของ Gennadios และคณะ (1996) ซึ่งศึกษาผลของชนิดและปริมาณของพลาสติกไซเซออร์ต่อค่าการซึมผ่านของไอน้ำในฟิล์มบริโภาคได้จาก egg albumin



#### 5.4.3 การวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวและโครงสร้างของแผ่นฟิล์มโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

จากภาพถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ในรูปที่ 37 - 42 พบว่าพื้นผิวของฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์ (รูปที่ 39) มีความเรียบมากกว่าฟิล์มที่ใช้กลีเซอรอลและโพลีเอทิลีนไกลคอล (รูปที่ 37 และ 41) และเมื่อพิจารณาภาพตัดขวางของฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์ (รูปที่ 40) จะพบว่ามีความแน่นมากกว่าฟิล์มที่ผลิตโดยใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซออร์ ลักษณะเช่นนี้ทำให้ฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่า เนื่องจากเนื้อฟิล์มมีความต่อเนื่องกันมากกว่า (Fang *et al.*, 2002; Pol *et al.*, 2002) แต่ฟิล์มที่ผลิตโดยใช้โพลีเอทิลีนไกลคอลจะมีลักษณะผิวไม่เรียบ และแตกเป็นแฉ่งๆ ถึงแม้ว่าภาพตัดขวางของฟิล์มนี้จะแสดงให้เห็นว่ามีลักษณะอัดตัวกันแน่น แต่ก็มีรอยแตกกระจายอยู่ทั่วไป แสดงให้เห็นว่าปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเกิดได้ไม่ดีนัก จึงทำให้ฟิล์มที่ผลิตได้มีค่าการต้านทานแรงดึงขาดต่ำกว่าฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอลเป็นพลาสติกไซเซออร์

จากผลการศึกษานิดและปริมาณพลาสติกไซเซออร์ที่มีผลต่อสมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์ม ดังที่กล่าวมาจึงเลือกฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดงที่ผลิตโดยใช้ซอร์บิทอล 40% และ กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไซเซออร์มาศึกษาอายุการเก็บในขั้นต่อไป เนื่องจากฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ซอร์บิทอล 40% มีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด ส่วนฟิล์มที่ผลิตโดยใช้กลีเซอรอล 60% มีค่าร้อยละการยืดตัวที่ตีกว่ามากและมีสมบัติด้านอื่นไม่ด้อยมากนัก

#### 5.5 การศึกษาอายุการเก็บที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนละลายน้ำจากปลาทรายแดง

##### 5.5.1 การศึกษาอายุการเก็บที่มีผลต่อสมบัติต่างๆ ของฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ซอร์บิทอล 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนเป็นพลาสติกไซเซออร์

จากการวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์มพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มนานขึ้นค่าการต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มมีแนวโน้มไม่คงที่ และมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 57) เมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยืดตัวของแผ่นฟิล์มในรูปที่ 45 พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บแผ่นฟิล์มนานขึ้นจะทำให้แผ่นฟิล์มมีค่าร้อยละการยืดตัวต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 58) ตั้งแต่ 2 สัปดาห์

แรกของการเก็บรักษาและมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ 8 คือลดลงจาก 7.59% ของความยาวเดิมเมื่อเริ่มผลิตเป็น 5.56% ของความยาวเดิมในสัปดาห์ที่ 8 ของการเก็บรักษา ผลการทดลองดังกล่าวเป็นไปในลักษณะเดียวกับการทดลองในฟิล์มจากไคโตแซน (chitosan film) ของ Canner, Vergano และ Wiles (1998) ซึ่งพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มไม่มีผลกระทบต่อค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มแต่จะมีผลทำให้ค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  สำหรับฟิล์มจากไคโตแซนที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 9 สัปดาห์ โดยลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์มพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มนานขึ้นค่าการซึมผ่านของไอน้ำจะมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 59) คือเพิ่มขึ้นจาก  $1.17 \times 10^{-10} \text{ g.m/m}^2.\text{s.Pa}$  เมื่อเริ่มผลิตแผ่นฟิล์ม เป็น  $1.41 \times 10^{-10} \text{ g.m/m}^2.\text{s.Pa}$  ในสัปดาห์ที่ 8 ของการเก็บรักษา ผลการทดลองนี้ขัดแย้งกับการทดลองในฟิล์มจากไคโตแซนของ Canner, Vergano และ Wiles (1998) ซึ่งพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มไม่มีผลกระทบต่อค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจากไคโตแซน

เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของแผ่นฟิล์มที่ใช้ซอร์บิทอล 40% โดยน้ำหนักของโปรตีนเป็นพลาสติกไซเซออร์พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มนานขึ้นมีผลทำให้ค่าการละลายทั้งหมดลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 60) โดยลดลงจาก 58.11% เมื่อเริ่มผลิตแผ่นฟิล์ม เป็น 45.62% ในสัปดาห์ที่ 8 ของการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาค่าสีในระบบ L a b ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ (ตารางที่ 13) พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มนานขึ้นแผ่นฟิล์มจะมีสีเข้มขึ้นเล็กน้อยสังเกตได้จากค่า a และ b ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 62 และ 63)

#### 5.5.1 การศึกษาอายุการเก็บที่มีผลต่อสมบัติต่างๆ ของฟิล์มที่ผลิตโดยใช้กลีเซอรอล 60% โดยน้ำหนักของโปรตีน เป็นพลาสติกไซเซออร์

จากการวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของแผ่นฟิล์มพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มนานขึ้น แผ่นฟิล์มจะมีค่าการต้านทานแรงดึงขาดจะมีแนวโน้มคงที่ในช่วง 4 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษา และจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 64) ในช่วงสัปดาห์ที่ 6 และ 8 ของการเก็บคือเพิ่มขึ้นจากประมาณ 1.77 MPa ใน 4 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษา เป็น 1.87 MPa และ 1.95 MPa ในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 ของการเก็บรักษาตามลำดับ ซึ่งผลดังกล่าวขัดแย้งกับผลของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้ซอร์บิทอล 40% เป็นพลาสติกไซเซออร์ และการ

ทดลองในฟิล์มจากโคโตนของ Canner, Vergano และ Wiles (1998) ซึ่งพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มไม่มีผลกระทบต่อค่าการต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม เมื่อพิจารณาค่าร้อยละการยืดตัวของแผ่นฟิล์มในรูปที่ 48 พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บแผ่นฟิล์มนานขึ้นจะทำให้แผ่นฟิล์มมีค่าร้อยละการยืดตัวต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 65) ตั้งแต่ 2 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษาและมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ 8 คือลดลงจาก 63.14% ของความยาวเดิมเมื่อเริ่มผลิต เป็น 31.68% ของความยาวเดิมในสัปดาห์ที่ 8 ของการเก็บรักษา ผลการทดลองดังกล่าวเป็นไปในลักษณะเดียวกับการทดลองในฟิล์มจากโคโตนของ Canner, Vergano และ Wiles (1998) ซึ่งพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มมีผลทำให้ค่าร้อยละการยืดตัวของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  สำหรับฟิล์มจากโคโตนที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 9 สัปดาห์ โดยลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาค่าการซึมผ่านของไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์มพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มนานขึ้นค่าการซึมผ่านของไอน้ำจะมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 66) คือเพิ่มขึ้นจาก  $1.52 \times 10^{-10} \text{ g.m/m}^2.\text{s.Pa}$  เมื่อเริ่มผลิตแผ่นฟิล์ม เป็น  $1.93 \times 10^{-10} \text{ g.m/m}^2.\text{s.Pa}$  ในสัปดาห์ที่ 8 ของการเก็บรักษา ผลการทดลองนี้ขัดแย้งกับการทดลองในฟิล์มจากโคโตนของ Canner, Vergano และ Wiles (1998) ซึ่งพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มไม่มีผลกระทบต่อค่าการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจากโคโตน

เมื่อพิจารณาค่าการละลายทั้งหมดของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้กลีเซอรอล 60% โดยน้ำหนักของโปรตีนเป็นพลาสติกไฮเซอ์พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มนานขึ้นมีผลทำให้ค่าการละลายทั้งหมดลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 67) โดยลดลงจาก 61.54% เมื่อเริ่มผลิตแผ่นฟิล์ม เป็น 46.38% ในสัปดาห์ที่ 8 ของการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาค่าสีในระบบ L a b ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตโดยใช้กลีเซอรอล 60% เป็นพลาสติกไฮเซอ์ (ตารางที่ 14) พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาแผ่นฟิล์มนานขึ้นแผ่นฟิล์มจะมีสีเข้มขึ้นเล็กน้อยสังเกตได้จากค่า a และ b ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  (ภาคผนวก ง. ตารางที่ 69 และ 70)