



โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การตัดแปรรูปฟิล์มโปรตีนกั่วเหลืองบริโภคได้โดยใช้สารสกัดชา

ชื่อนิสิต นางสาวสุริสา ดีดีอี่พันธ์
นางสาวชนินาก เจริญชัยกิจ

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รายงานการวิจัย

ภายใต้โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

เรื่อง

การดัดแปรฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคนได้โดยใช้สารสกัดชา

Modification of edible soy protein film using tea extracts

โดย

นางสาวสุธิสา ตีตอี่พันธุ์

นางสาวชนินาถ เจริญชัยกิจ

ประจำปีการศึกษา 2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตัดแปรรูปฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคได้โดยใช้สารสกัดชา

โดย

นางสาวสุธิสา ตีดีอีพันธ์

นางสาวชนินาถ เจริญชัยกิจ

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2562

MODIFICATION OF EDIBLE SOY PROTEIN FILM USING TEA EXTRACTS

Suthisa Tidepan

Chaninart Charoenchaikij

Project Advisor

Asst. Prof. Thanachan Mahawanich, Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2019

หัวข้องานวิจัย การตัดแปรรูปฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคนได้โดยใช้สารสกัดชา
โดย นางสาวสุธิสา ตีตอพันธ์
นางสาวชนินาถ เจริญชัยกิจ
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช
ปีการศึกษา 2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ประจำปีการศึกษา 2562



.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชนินาถ ธนานวงศ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร



.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย	การตัดแปรรูปฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคนได้โดยใช้สารสกัดชา
โดย	นางสาวสุธิสา ตีตอพันธ์ นางสาวชนินาถ เจริญชัยกิจ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช
ปีการศึกษา	2562

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติของฟิล์มบริโภคนได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำ โดยงานวิจัยนี้ได้แปรปริมาณของสารสกัดเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง พบว่าการเติมสารสกัดชาเขียวเข้มข้น 5% ทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณของสารสกัดชาเขียวเพิ่มขึ้นเป็น 10% ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลง ส่วนตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำพบว่ามีความต้านทานแรงดึงขาดต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่เติมสารสกัดชาเขียวในปริมาณเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับการยึดตัวถึงจุดขาด โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างที่เติมสารสกัดชามีการยึดตัวถึงจุดขาดไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตามฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำเข้มข้น 5 และ 10% มีการยึดตัวถึงจุดขาดต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในแง่ของสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำ พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำมีสมบัติที่ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในด้านสมบัติเชิงแสง พบว่าฟิล์มมีความโปร่งแสงลดลงเมื่อปริมาณสารสกัดชาเพิ่มขึ้น สำหรับสมบัติด้านสี ฟิล์มทุกตัวอย่างมีมุมสีอยู่ในช่วงมุมของสีเหลืองจนถึงเหลืองส้ม ส่วนความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดชาเพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ DPPH และ FRAP พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชา มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าชาดำ

Project Title	Modification of edible soy protein film using tea extracts
Student	Suthisa Tidepan Chaninart Charoenchaikij
Study Program	Bachelor of Science in Food Technology
Advisor	Asst. Prof. Thanachan Mahawanich, Ph.D.
Academic Year	2019

ABSTRACT

This study aimed to investigate the properties of edible soy protein film using green tea and black tea extracts. The extracts were added at three different levels: 2, 5 and 10% by weight of protein. Tensile strength of the film with 5% green tea extract was found to be significantly higher than that of the control ($p \leq 0.05$). However, the film with 10% green tea extract demonstrated a lower tensile strength as compared to that added with 5% green tea extract. On the other hand, the films with black tea extract demonstrated lower tensile strength than the control and those with the same amount of green tea extract. In general, the films with tea extract were of similar elongation at break to the control ($p > 0.05$). However, the films with 5 and 10% black tea extract had significantly lower elongation than the control ($p \leq 0.05$). Addition of green tea or black tea extract did not affect water vapor permeability and water solubility of the film. With regards to optical property, addition of green tea or black tea extract resulted in a film with decreasing transparency. In terms of color, hue angle of the film samples were of the values representing yellow to yellow-orange hue. Chroma was found to increase in extract-added film samples. Total phenolic content, as determined by Folin-Ciocalteu assay, and antioxidant activity, as determined using DPPH and FRAP assay, were found to be greater in extract-added films as compared to the control. The films with green tea extract exhibited greater total phenolic content and antioxidant activity than those with black tea extract.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนในระดับปริญญาตรีของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณของโครงการการเรียนการสอน เพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2562

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่ได้ตั้งไว้อย่างสมบูรณ์โดยความกรุณาและความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานอีกด้วย

ขอขอบคุณเพื่อนนิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในเรื่องต่างๆ ตลอดจนเป็นกำลังใจในการทำโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และอำนวยความสะดวกในการทำโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนทุนวิจัย

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัว ซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียนตลอดจนคอยช่วยเหลือและให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	1
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 फिल्मบริโภคได้	2
2.2 फिल्मโปรตีน	2
2.2.1 फिल्मโปรตีนถั่วเหลือง	2
2.3 การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน	3
2.4 สารประกอบพีนอลิก	4
2.5 ชาเขียว และชาดำ	4
2.5.1 ชาเขียว	5
2.5.2 ชาดำ	5
2.6 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชา	6
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย	7
3.1 วัสดุดิบและสารเคมี	7
3.2 อุปกรณ์	7
3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย	8
3.3.1 การเตรียมสารสกัดชา	8
3.3.2 การศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง	8

บทที่ 4 ผลการวิจัย และอภิปรายผล	13
4.1 ผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง	13
4.1.1 ความหนา	13
4.1.2 สมบัติเชิงกล	13
4.1.3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	15
4.1.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน	16
4.1.5 ความโปร่งแสง	17
4.1.6 สี	18
4.1.7 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ	19
4.1.8 ความสามารถในการละลายน้ำ	20
4.1.9 โครงสร้างของฟิล์ม	21
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	22
เอกสารอ้างอิง	23
ภาคผนวก	26
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์	27
ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu	27
ดัดแปลงจากวิธีของ Waterhouse (2005)	
ก.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ	29
ferric ion reducing antioxidant power (FRAP)	
ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain (1996)	
ก.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ	31
1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity	
ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995)	
ภาคผนวก ข รายละเอียดโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์	32
ภาคผนวก ค ประวัติผู้วิจัย	40

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
ตารางที่ 3.1	ปริมาณวัตถุคิบ (กรัม) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์ม 100 กรัม	9
ตารางที่ 4.1	ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	13
ตารางที่ 4.2	ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	14
ตารางที่ 4.3	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	16
ตารางที่ 4.4	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	17
ตารางที่ 4.5	ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	18
ตารางที่ 4.6	CIE L^* , a^* และ b^* ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	19
ตารางที่ 4.7	มุมสีและความเข้มสีในระบบ CIE ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	19
ตารางที่ 4.8	สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (WVP) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	20
ตารางที่ 4.9	ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ	20

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
รูปที่ 4.1	โครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มที่ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า	21
รูปที่ ก. 1	กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu	28
รูปที่ ก. 2	กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP	30

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมอาหารเป็นอุตสาหกรรมที่มีการใช้บรรจุภัณฑ์ในปริมาณสูงและเป็นสัดส่วนหลักของขยะจากครัวเรือน ขยะเหล่านี้อาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมหากมีการจัดการที่ไม่ดีพอ จากความตระหนักของผู้ผลิตและผู้บริโภคเกี่ยวกับการคงอยู่ของมนุษย์ร่วมกับสิ่งแวดล้อม ทำให้มีแนวคิดในการพัฒนาวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในรูปของวัสดุบรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้หรือไบโอดีกรี โปรตีนอาหารหลายชนิดมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มย่อยสลายได้และฟิล์มไบโอดีกรี อย่างไรก็ตามฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไปยังมีสมบัติที่ด้อยกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ผลิตจากพอลิเมอร์ฐานปิโตรเลียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านสมบัติเชิงกลที่ผ่านมามีรายงานว่าสารสกัดจากพืชสามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนได้โดยอาศัยปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามโปรตีนของสารประกอบฟีนอลิกในพืชเหล่านั้น โดยสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในสถานะออกซิไดส์และไม่ออกซิไดส์อาจมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนที่ต่างกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกที่เติมลงในฟิล์มยังอาจทำหน้าที่อื่นนอกเหนือจากการเชื่อมข้ามโปรตีน เช่น การต้านออกซิเดชัน และการต้านจุลินทรีย์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาสมบัติของฟิล์มไบโอดีกรีจากโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำ

1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย

การศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate) โดยสารสกัดชาเป็นสารสกัดด้วยน้ำ (water extract) ที่นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) แปรความเข้มข้นของผงสารสกัดชาเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ได้ผลิตต้นแบบ (prototype) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองไบโอดีกรีที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำซึ่งมีสมบัติต้านออกซิเดชัน

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 फिल्मบริโภคได้

ฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ (edible film and coating) หมายถึงวัสดุแผ่นบางที่รับประทานได้ผลิตจากส่วนผสมที่เป็นเกรดอาหาร (food-grade ingredient) โดยสามารถผลิตได้ทั้งจากคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน การเคลือบผิวของผลิตภัณฑ์อาหารสามารถทำได้โดยใช้เทคนิคต่างๆ เช่น การห่อหุ้ม การจุ่ม การทาด้วยแปรง หรือการพ่นกระจาย (Kester and Fennema, 1986) เพื่อทำหน้าที่ป้องกันการเคลื่อนตัวของไอน้ำ ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ กลิ่น และไขมัน หรือทำหน้าที่เป็นตัวพา (carrier) ของวัตถุเจือปนอาหาร เช่น วัตถุกันเสีย สารให้กลิ่นรส ตลอดจนช่วยให้ความคงตัวเชิงโครงสร้าง (structural integrity) แก่อาหารเพื่อความสะดวกในการขนส่ง (Krochta et al., 1994)

ฟิล์มต่างจากสารเคลือบในแง่ฟิล์มจะมีชั้นรูปแผ่นฟิล์มแยกต่างหากก่อน แล้วจึงนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์ (มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด, 2535) โดยองค์ประกอบหลักของการผลิตฟิล์ม ได้แก่ โมเลกุลพอลิเมอร์ เช่น โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ รวมทั้งไขมันจากพืชและสัตว์ อย่างไรก็ตามฟิล์มที่ได้มักมีความเปราะ จึงต้องเติมพลาสติกไซเซอร์ ซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น กลีเซอรอล ซอร์บิทอล พอลิเอทิลีนไกลคอล พอลิพรพิลีนไกลคอล และกรดไขมัน (Krochta and Mulder-Johnston, 1997) เพื่อช่วยเพิ่มความอ่อนตัว การยืดตัว และความคงทนต่อการใช้งาน (Banker, 1966)

ฟิล์มนอกจากจะใช้ในแง่การเป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ทำหน้าที่ปกป้องผลิตภัณฑ์ภายในแต่เพียงอย่างเดียวแล้ว (passive packaging material) ยังอาจพัฒนาให้เป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging material) เช่น ทำหน้าที่เป็นตัวพาและปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ต่างๆ ได้แก่ สารยับยั้งออกซิเดชัน และสารยับยั้งจุลินทรีย์ วัสดุบรรจุภัณฑ์แอคทีฟนี้ได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบัน (Mandal et al., 2009)

2.2 फिल्मโปรตีน

โปรตีนเป็นโมเลกุลพอลิเมอร์ที่มีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มบรรจุภัณฑ์เนื่องจากประกอบไปด้วยหมู่เคมีที่หลากหลาย สามารถเกิดพันธะและอันตรกิริยาทางเคมีระหว่างกัน เกิดเป็นโครงร่างแหที่ให้ความเสถียรต่อโครงสร้างของฟิล์มได้ ที่ผ่านมามีการนำโปรตีนชนิดต่างๆ รวมทั้งโปรตีนอาหารมาใช้เพื่อพัฒนาเป็นฟิล์มบรรจุภัณฑ์ เช่น เจลาติน คอลลาเจน โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ซีรัมอัลบูมิน เคราติน ไฟโบรอินและเซรีซินจากรังไหม โปรตีนไข่ขาว เคซีน เวย์โปรตีน โปรตีนข้าวสาลี เซอีน (โปรตีนข้าวโพด) โปรตีนถั่วพี โปรตีนถั่วป็น รวมถึงโปรตีนถั่วเหลือง

โปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์ม โดยโครงสร้างพื้นฐานที่จำเป็นต่อเสถียรภาพของฟิล์มคือ โครงสร้างแหของโปรตีนที่เกิดอันตรกิริยากันทั้งระหว่างโมเลกุลและภายในโมเลกุลของโปรตีน (inter- and intra-molecular interaction) (Park et al., 2002) ถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนหลัก 2 ชนิด ได้แก่ ไกลซีนินและเบตา-คอนไกลซีนิน ซึ่งโปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีโครงสร้างถึงระดับจตุรภูมิ (quaternary structure) โปรตีนถั่วเหลืองตามธรรมชาติจะมีการจัดเรียงตัวกันโดยกรดอะมิโนที่มีสมบัติชอบน้ำจะมีตำแหน่งอยู่ที่ด้านนอกและกรดอะมิโนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำรวมทั้งหมู่ซัลไฟไฮดริลจะมีตำแหน่งอยู่ที่ด้านในของโครงสร้างสามมิติของสายพอลิเพปไทด์ที่จัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างระดับตติยภูมิ (tertiary structure) ตามที่กล่าวแล้วว่ามีอันตรกิริยาทางเคมีหลายประเภทที่จำเป็นต่อการเกิดเป็นโครงสร้างฟิล์มที่เสถียร ในการเตรียมสารละลายฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองจึงต้องให้ความร้อนแก่สารละลายโปรตีนเพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพบางส่วน (partial denaturation) สายพอลิเพปไทด์เกิดการคลายตัว และหมู่ที่ไม่ชอบน้ำและหมู่ซัลไฟไฮดริลซึ่งอยู่ด้านในของโครงสร้างระดับตติยภูมิจะปรากฏขึ้นที่ด้านนอกและสามารถเกิดอันตรกิริยากับพอลิเพปไทด์สายอื่นด้วยพันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก เกิดเป็นโครงสร้างของฟิล์ม (Liu, 2012)

2.3 การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน

เนื่องจากธรรมชาติของโปรตีนส่วนใหญ่ที่มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ประกอบกับการเติมพลาสติกไซเซอร์ที่มีสมบัติชอบน้ำในขั้นตอนการผลิตฟิล์ม ฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไปรวมถึงฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองจึงมีสมบัติเด่นในด้านการต้านทานการซึมผ่านของโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เช่น ออกซิเจนและไขมัน อย่างไรก็ตามฟิล์มโปรตีนยังคงมีข้อจำกัดสำคัญในด้านการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำและด้านสมบัติเชิงกล (Chambi and Grosso, 2006) เพื่อพัฒนาฟิล์มโปรตีนให้สามารถนำไปใช้งานได้อย่างแพร่หลาย จึงต้องมีการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนโดยส่งเสริมให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเชื่อมข้ามด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent cross-linking)

การส่งเสริมให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนในฟิล์มสามารถทำได้โดยวิธีต่างๆ เช่น การฉายรังสี (Ouattara et al., 2002) การใช้ความร้อน (Hernández-Muñoz et al., 2004a) การใช้เอนไซม์ (Mariniello et al., 2003) รวมถึงวิธีทางเคมี (Hernández-Muñoz et al., 2004b) สำหรับการใช่วิธีทางเคมีเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน ที่ผ่านมาสารเคมีที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ แอลดีไฮด์ เนื่องจากเป็นตัวเชื่อมข้ามโปรตีน (protein cross-linker) ที่มีประสิทธิภาพสูง แต่จากความตระหนักถึงความเป็นพิษของแอลดีไฮด์ จึงมีความพยายามในการแสวงหาตัวเชื่อมข้ามอื่นที่มีความปลอดภัยสูงกว่า (Gonzalez et al., 2011)

2.4 สารประกอบฟีนอลิก

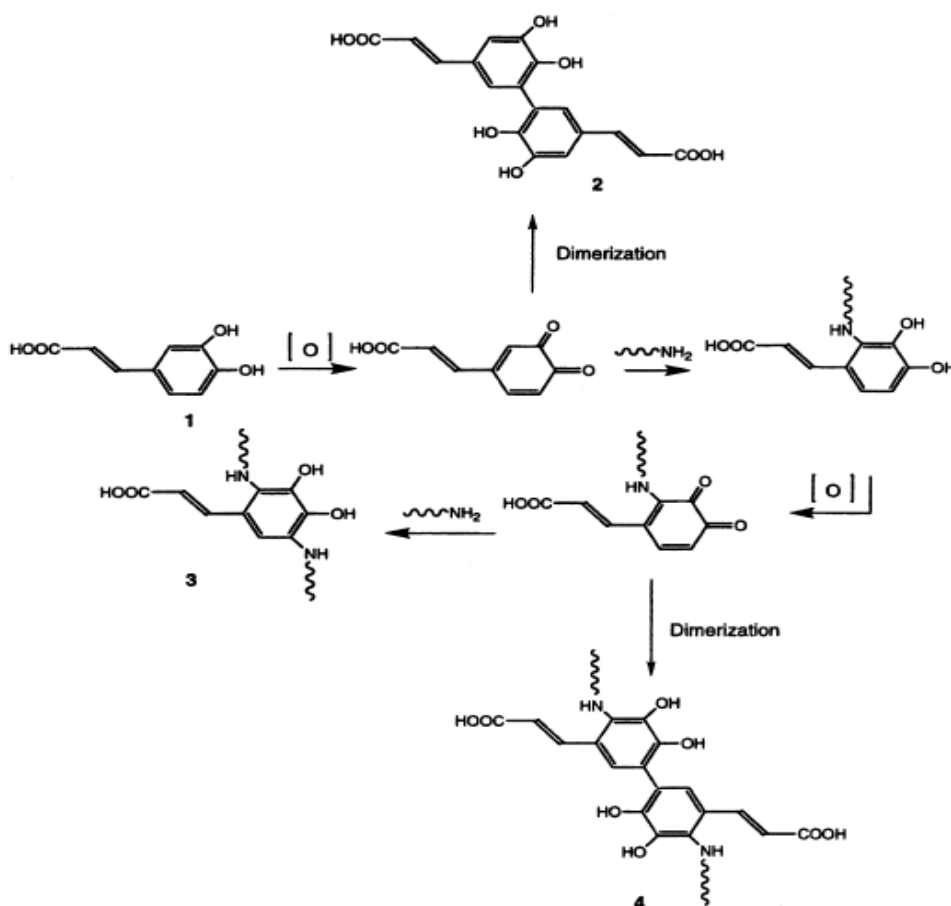
สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดที่พบตามธรรมชาติมีความสามารถในการส่งเสริมให้เกิด พันธะและอันตรกิริยาทางเคมีระหว่างโมเลกุลโปรตีน โดยพันธะและอันตรกิริยาที่เกิดขึ้น ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก รวมทั้งพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้าม (Strauss and Gibson, 2004; Hoque et al., 2011) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกที่มีสถานะออกซิเดชันต่างกันยังมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนที่ต่างกัน Rawel et al) .2002 รายงานว่าความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีน (ขึ้นอยู่กับความสามารถของสารนั้นๆ ที่จะถูกออกซิไดส์ไปเป็นสารประกอบควิโนน

Strauss and Gibson (2004) อธิบายปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอลิกกับหมู่เคมีของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของพอลิเพปไทด์ดังรูปที่ 2.1 สารประกอบฟีนอลิก (1) สามารถถูกออกซิไดส์ได้เป็นสารประกอบควิโนน โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอาจเป็นปฏิกิริยาแบบอาศัยเอนไซม์หรือไม่อาศัยเอนไซม์ก็ได้ ควิโนนที่เกิดขึ้นสามารถเกิดปฏิกิริยาข้างเคียง (side reaction) โดยเกิดไดเมอไรเซชันได้เป็นไดเมอร์ (2) ซึ่งในกรณีนี้จะได้สารประกอบฟีนอลิกที่มีโมเลกุลใหญ่ขึ้นโดยไม่เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและโปรตีน ในอีกทางหนึ่งควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของพอลิเพปไทด์เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์ชนิดคาร์บอนไดไฮโดรควิโนนกลับคืนมา ไฮโดรควิโนนซัลเฟอร์ และ-ไนโตรเจนหรือคาร์บอน-ที่เกิดขึ้นนี้สามารถถูกออกซิไดส์อีกครั้ง และเกิดปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนหรือหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของพอลิเพปไทด์อีกสายหนึ่ง ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของพอลิเพปไทด์สองสายเข้าด้วยกัน (3) อีกเส้นทางหนึ่งซึ่งอาจเกิดขึ้นได้คือควิโนนที่จับอยู่กับสายพอลิเพปไทด์หนึ่งสายแล้วสามารถเกิดไดเมอไรเซชันทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของสายพอลิเพปไทด์ (4)

Hoque et al. (2011) ซึ่งศึกษาสมบัติของฟิล์มเจลลาตินจากหมึกสาย (cuttlefish) ที่เติมสารสกัดที่มีฟีนอลิกจากเครื่องเทศ 3 ชนิด ได้แก่ อบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก โดยแปรสถานะออกซิเดชันของสารสกัดเป็น 2 สถานะ ได้แก่ สารสกัดที่ออกซิไดส์และสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดเครื่องเทศมีความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) สูงกว่าตัวอย่างควบคุม และฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์

2.5 ชาเขียวและชาดำ

ใบชาเป็นแหล่งที่สำคัญของพอลิฟีนอล โดยสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในใบชา ได้แก่ แคทีคิน (catechin) ตามระดับการ ผลิตภัณฑ์ชาที่นำมาใช้ซึ่งเป็นเครื่องดื่มสามารถแบ่งได้เป็นประเภทต่างๆ ออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกที่เกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการหมักชา(fermentation step)



รูปที่ 2.1 ปฏิกิริยาของกรดฟีนอลิกกับหมู่อะมิโนที่เป็นโซ่ข้างของสายพอลิเพปไทด์
ที่มา: Strauss and Gibson (2004)

สำหรับชาเขียว (green tea) ในกระบวนการผลิตชาชนิดนี้จะไม่มีขั้นตอนการหมัก การผลิตทำโดยนำยอดอ่อนของชา (tea flush) มาให้ความร้อนเพื่อยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสที่มีอยู่ตามธรรมชาติในยอดชาซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของพอลิฟีนอล ชาเขียวจึงประกอบด้วยฟลาโวนอล (flavanol) ที่ไม่ถูกออกซิไดส์ในปริมาณสูง

ส่วนชาดำ (black tea) ผลิตโดยนำยอดอ่อนของชามาทำให้แห้ง แล้วนำไปบดด้วยลูกกลิ้งเพื่อให้เนื้อเยื่อถูกทำลายและเกิดการแตกของเซลล์ เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสจะสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของพอลิฟีนอลในระหว่างขั้นตอนการหมักชาได้ ชาดำจึงประกอบด้วยฟลาโวนอลที่ไม่ถูกออกซิไดส์ในปริมาณต่ำ แต่กลับมีปริมาณพอลิฟีนอลที่ถูกออกซิไดส์ในปริมาณสูง Shahidi and Naczki (1995) รายงานว่าชาเขียวปริมาณ 100 กรัม ประกอบด้วยแคทีคินประมาณ 17-30 กรัม ในขณะที่ชาดำปริมาณ 100 กรัม มีปริมาณแคทีคินเพียง 5 กรัม แต่มีพอลิฟีนอลที่ถูกออกซิไดส์สูงถึง 25 กรัม และเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลิตภัณฑ์ชาต่างชนิดจึงอาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต่างกัน

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเติมสารสกัดชาในฟิล์ม Wu et al. (2013) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาเขียวต่อสมบัติของฟิล์มเจลลาติน พบว่าฟิล์มเจลลาตินมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดชาเขียวเข้มข้น 0.7% มีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มเจลลาตินที่ไม่เติมสารสกัดชาเขียวถึง 45% ผู้วิจัยเสนอว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดชาเขียวสามารถเกิดปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนและหมู่ซัลไฟไฮไดรลของโปรตีนได้ ทำให้เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามระหว่างโปรตีน และช่วยเพิ่มความแข็งแรงเชิงกลให้แก่ฟิล์มเจลลาติน นอกจากนี้ผู้วิจัยรายงานว่าฟิล์มที่ได้ยังมีสมบัติต้านออกซิเดชัน โดยฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant activity) ของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดชาเขียวที่วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวเพิ่มสูงขึ้น

2.6 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชา

เป็นที่ทราบกันดีว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากความสามารถในการเกิดเรโซแนนซ์ของโครงสร้างวงฟีนอลิก ส่งผลให้อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกมีความเสถียร จึงเป็นการตัดตอนปฏิกิริยาที่มีกลไกแบบเร่งตัวเอง (self-catalytic mechanism) ในขั้นตอน propagation ของปฏิกิริยาออกโตออกซิเดชัน ดังนั้นชาที่ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่ยังไม่ถูกออกซิไดส์ จึงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าชาที่ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกออกซิไดส์ไปแล้ว Almajano et al. (2008) รายงานว่าน้ำชาเขียว (green tea infusion) มีค่า trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) เท่ากับ 6344 มิลลิโมลของโทรล็อกซ์/ลิตร ซึ่งสูงกว่าน้ำชาดำ (black tea infusion) ซึ่งมีค่า TEAC เท่ากับ 3771 มิลลิโมลของโทรล็อกซ์/ลิตร

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (กรุงเทพเคมี, กรุงเทพฯ)

ไบซาเซียวอบแห้ง (สุวิรุฬห์ชาไทย, เชียงราย)

ไบซาตาอบแห้ง (สุวิรุฬห์ชาไทย, เชียงราย)

Acetic acid, glacial, AR grade, QRëC™ (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

Ethanol, 95%, AR grade (Carlo Erba Reagenti, Ronado, Italy)

Folin-Ciocalteu's phenol reagent, AR grade (Carlo Erba Reagenti, Ronado, Italy)

Gallic acid, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

Glycerol (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Hydrochloric acid, AR grade, QRëC™ (Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

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

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

3.2 อุปกรณ์

Centrifuge, model Z36HK (Hermle Labortechnik, Wehingen, Germany)

Color meter system, Chroma Meter, model CR-400 (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan)

Digital thickness gauge, model 7301 (Mitutoyo, Tokyo, Japan)

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

Laboratory hot air oven, model PRO/150 (Genlab Prime, Cheshire, UK)

Mini spray dryer, model B290 (BÜCHI Labortechnik, Flawil, Switzerland)

Platform shaker, Innova® , model 2050 (New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA)

Rotary vacuum evaporator (EYELA, Tokyo, Japan)

Scanning electron microscope, model JSM-6610LV (JEOL, Tokyo, Japan)

Texture analyzer, model TA-X2i (Stable Micro Systems, Surrey, UK)

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

Visible spectrophotometer, model GENESYS20 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)

Waring[®] blender, model 8010BU (Conair Corporation, East Windsor, NJ, USA)

Water bath, model SW23 (Julabolabortechnik, Seelbach, Germany)

3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การเตรียมสารสกัดชา

ใบชาเขียวอบแห้งและใบชาดำอบแห้งที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าในรูปแบบของชาทั้งใบ (whole leaf) การเตรียมสารสกัดชาทำโดยนำใบชามาบดละเอียด สกัดโดยใช้น้ำโดยใช้อัลตราโซนิกร่วม (ultrasonic-assisted water extraction) ตามวิธีของ Xia et al. (2006) จากนั้นนำสารสกัดไปทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย บรรจุผงสารสกัดชาในภาชนะปิดสนิทและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.3.2 การศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

สำหรับการศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ใช้ในการเตรียมฟิล์มเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า แปรความเข้มข้นของผงสารสกัดชาเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์มแสดงดังตารางที่ 3.1 กำหนดให้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมสารสกัดชาเป็นตัวอย่างควบคุม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เตรียมฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Jiang et al. (2007) โดยเตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (พีเอช 7.4) ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์โดยเติมที่ความเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง นำของผสมไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (model SW23, Julabolabortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน จากนั้นจึงเติมสารละลายผงสารสกัดชา นำสารละลายฟิล์มไปโฮโมจีไนส์ กำจัดฟองอากาศโดยใช้เทคนิคอัลตราโซนิค แล้วขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มโดยปิเปตต์

สารละลายฟิล์มปริมาตร 40.0 มิลลิลิตร บรรจุลงในพิมพ์สแตนเลสสตีลที่บุด้วยแผ่นพอลิเตทราฟลูออโรเอทิลีน (ptfe sheet) นำไปทำให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออก แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมความชื้นที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ฟิล์มที่ไม่เติมสารสกัดชา

ตารางที่ 3.1 ปริมาณวัตถุคิบ (กรัม) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฟิล์ม 100 กรัม

วัตถุดิบ	ความเข้มข้นของสารสกัดชาในตัวอย่างฟิล์ม (% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลือง)			
	0	2	5	10
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	5.00	5.00	5.00	5.00
สารละลายบัฟเฟอร์*	92.25	82.25	82.25	82.25
กลีเซอรอล	2.75	2.75	2.75	2.75
ผงสารสกัดชา	0	0.10	0.25	0.50
สารละลายบัฟเฟอร์**	0	9.90	9.75	9.50

*สารละลายบัฟเฟอร์ส่วนที่ใช้ละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

**สารละลายบัฟเฟอร์ส่วนที่ใช้ละลายผงสารสกัดชา

สมบัติของฟิล์มที่วิเคราะห์มีดังต่อไปนี้

(1) ความหนา วัดโดยใช้เครื่องวัดความหนาแบบดิจิทัล (model 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan) โดยสุ่มวัด 15 จุดบนชั้นตัวอย่างฟิล์มขนาด 3 เซนติเมตร × 8 เซนติเมตร นับเป็น 1 ซ้ำ

(2) สมบัติเชิงกล ทดสอบแรงดึง (tensile test) โดยใช้เครื่อง texture analyzer (model TA-X2i, Stable Micro Systems, Surrey, UK) ซึ่งติดตั้งด้วยโหลดเซลล์ขนาด 3 กิโลกรัม ใช้หัววัด tensile grips (A/TG) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 8 เซนติเมตร ติดตั้งฟิล์มลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน โดยยึดจับด้านที่มีความกว้าง 3 เซนติเมตร กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 50 มิลลิเมตร และ trigger force เท่ากับ 10 กรัมแรง (g) ดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 5.0 มิลลิเมตร/วินาที จนกระทั่งแผ่นฟิล์มขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็น กรัมแรง) และระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกมาได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็น มิลลิเมตร) คำนวณความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดโดยใช้สมการที่ (3.1) และ (3.2) ตามลำดับ

$$\text{ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล)} = (F \times 0.009807 \times 10^{-6})/w d \quad \dots(3.1)$$

เมื่อ F คือ แรงที่ใช้ในการดึงชิ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (กรัมแรง)

w คือ ความกว้างของชิ้นตัวอย่าง (เมตร)

d คือ ความหนาของชิ้นตัวอย่าง (เมตร)

$$\text{การยืดตัวถึงจุดขาด (\%)} = L_f \times 100/L_i \quad \dots(3.2)$$

เมื่อ L_f คือ ระยะทางที่สามารถดึงชิ้นตัวอย่างให้ยืดออกได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (มิลลิเมตร)

L_i คือ ความยาวของชิ้นตัวอย่างระหว่างส่วนยึดจับก่อนดึง (มิลลิเมตร)

(3) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด สกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่างฟิล์มโดยนำตัวอย่างฟิล์ม 0.25 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วย Waring® blender (model 8010BU, Conair Corporation, East Windsor, NJ, USA) จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่า Innova® (model 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมากรอง นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Waterhouse (2005) (ภาคผนวก ก.1)

(4) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สกัดตัวอย่างฟิล์มโดยนำตัวอย่างฟิล์มปริมาณ 0.25 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วย Waring® blender (model 8010BU, Conair Corporation, East Windsor, NJ, USA) จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่าสาร Innova® (model 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมากรอง นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain (1996) (ภาคผนวก ก.2) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995) (ภาคผนวก ก.3)

(5) ความโปร่งแสง (transparency) วัดความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Tang et al. (2005) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 1 เซนติเมตร × 4 เซนติเมตร ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มลงบนพื้นผิวด้านในของด้านที่แสงส่องผ่านของคิวเวตต์แก้ว วัดร้อยละของแสงส่องผ่านด้วย visible spectrophotometer (model GENESYS20, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยกำหนดให้ร้อยละของแสงที่ส่องผ่านคิวเวตต์เปล่า (แบลนก์) มีค่าเท่ากับ 100

(6) สี ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 8 เซนติเมตร วัดค่า L^* , a^* และ b^* ในระบบ CIELAB โดยใช้ chroma meter (model CR-400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมมอง 10 องศา จากนั้นนำค่า L^* , a^* และ b^* ที่ได้มาคำนวณมุมสี (hue angle) และความเข้มสี (chroma) โดยใช้สมการที่ (3.3) และ (3.4) สุ่มวัดสีตัวอย่างละ 5 จุด นับเป็น 1 ซ้ำ

$$\text{มุมสี (องศา)} = \arctan (b^*/a^*) \quad \dots(3.3)$$

$$\text{ความเข้มสี} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad \dots(3.4)$$

(7) สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM (ASTM, 2004)

(8) ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility) วิเคราะห์ตามวิธีของ Perez-Gago and Krochta (2001) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 เซนติเมตร × 2 เซนติเมตร นำตัวอย่างฟิล์มไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างฟิล์มมาชั่งน้ำหนัก บันทึกเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น บรรจุตัวอย่างฟิล์มที่ชั่งน้ำหนักแล้วลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องเขย่าสาร (model INNOVA 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสิ่งที่ได้มารองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 ที่อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว ชะด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำกระดาษกรองและสิ่งที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก เมื่อหักน้ำหนักกระดาษกรองออกแล้วได้เป็นน้ำหนักแห้งสุดท้าย คำนวณความสามารถในการละลายน้ำโดยใช้สมการที่ (3.5)

$$\text{ความสามารถในการละลายน้ำ (\%)} = (\text{น้ำหนักแห้งเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักแห้งสุดท้าย}) \times 100 / \text{น้ำหนักแห้งเริ่มต้น} \quad \dots(3.5)$$

(9) โครงสร้างของฟิล์ม ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 5 เซนติเมตร × 5 เซนติเมตร เก็บไว้ในภาชนะปิดสนิทที่บรรจุซิลิกาเจลเป็นเวลา 7 วัน ในการศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวาง เตรียมตัวอย่างโดยตัดแต่งชิ้นฟิล์มให้มีขนาดเล็กกว่าแท่นติดตั้งตัวอย่าง แล้วจุ่มลงในไนโตรเจนเหลวเพื่อแช่แข็ง หักตัวอย่างฟิล์ม แล้วทิ้งไว้ให้ตัวอย่างฟิล์มอ่อนตัวลง จากนั้นติดตั้งตัวอย่างลงบนแท่นติดตั้งตัวอย่างทองเหลืองแล้วฉาบด้วยทอง ศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (model JSM-6610LV, JEOL, Tokyo, Japan) ที่กำลังขยาย 1500 เท่า

3.3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (Cochran and Cox, 1957) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

4.1.1 ความหนา

ความหนาของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.15-0.18 มิลลิเมตร Cuq et al. (1996) และ Galus et al. (2012) เสนอว่าปัจจัยที่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ได้แก่ ปริมาณของแข็งและภาวะที่ใช้ในการผลิตฟิล์ม เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในงานวิจัยนี้มีปริมาณของแข็งที่ใกล้เคียงกันและผลิตภายใต้ภาวะเดียวกัน การเติมสารสกัดจากชาเขียวหรือชาดำจึงไม่มีผลต่อความหนาของตัวอย่างฟิล์ม

ตารางที่ 4.1 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ความหนา (มิลลิเมตร) ^{ns}
Control	0	0.15±0.04
Films with green tea extract	2	0.17±0.03
	5	0.18±0.02
	10	0.15±0.01
Films with black tea extract	2	0.16±0.03
	5	0.18±0.05
	10	0.17±0.04

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

ns ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ความหนาเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อสมบัติด้านอื่นๆ ของฟิล์ม เช่น สมบัติเชิงกล ความโปร่งแสง และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตในงานวิจัยนี้มีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังนั้นสมบัติด้านใดด้านหนึ่งที่อาจแตกต่างกันของตัวอย่างฟิล์มจึงไม่ได้เป็นผลมาจากความหนา

4.1.2 สมบัติเชิงกล

สมบัติเชิงกลของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำแสดงดังตารางที่ 4.2 โดยในงานวิจัยนี้ติดตามผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองในรูป

ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาด จากตารางที่ 4.2 พบว่าตัวอย่างควบคุมมีความต้านทานแรงดึงขาดเท่ากับ 3.96 เมกะพาสคาล ตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวเข้มข้น 2% มีความต้านทานแรงดึงขาดไม่ต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) เมื่อเติมสารสกัดชาเขียวเข้มข้น 5% ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาด 5.47 เมกะพาสคาล ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่เติมสารสกัดชาเขียวเข้มข้น 2% อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวเป็น 10% ความต้านทานแรงดึงขาดกลับมีค่าลดลงอีกครั้งหนึ่ง (4.30 เมกะพาสคาล) สำหรับการเติมสารสกัดชาดำ พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำทุกตัวอย่างมีความต้านทานแรงดึงขาดต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ($p\leq 0.05$) และฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำทุกตัวอย่างมีความต้านทานแรงดึงขาดไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.27-2.57 เมกะพาสคาล

ตารางที่ 4.2 ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโพรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ความต้านทานแรงดึงขาด (MPa)	การยืดตัวถึงจุดขาด (%)
Control	0	3.96±0.19 ^b	94.05±25.57 ^a
Films with green tea extract	2	4.06±0.33 ^b	48.89±2.50 ^{abc}
	5	5.47±0.07 ^a	83.97±15.91 ^{ab}
	10	4.30±0.24 ^b	52.87±4.41 ^{abc}
Films with black tea extract	2	2.27±0.99 ^c	63.50±40.30 ^{abc}
	5	2.57±0.89 ^c	37.87±20.79 ^{bc}
	10	2.35±0.13 ^c	24.92±8.83 ^c

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$)

ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wu et al. (2013) ซึ่งศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาเขียวต่อความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มเจลลาตินจากหนังปลาลิ้น (silver carp) และพบว่าฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดชาเขียวมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้น สำหรับงานวิจัยนี้ การที่สารสกัดชาเขียวเข้มข้น 5% มีผลช่วยเพิ่มความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโพรตีนถั่วเหลือง อาจเนื่องมาจากหมู่ไฮดรอกซีของสารประกอบฟีนอลิกในใบชาสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้กับหมู่ต่างๆ ในสายพอลิเพปไทด์ เช่น หมู่คาร์บอนิล หมู่อะมิโน และหมู่ข้างที่มีขั้ว (polar side group) ของกรดอะมิโน (Prodpran et al., 2012) อย่างไรก็ตามการเติมสารสกัดชาเขียวที่ความเข้มข้นสูง (10%) และการเติมสารสกัดชาดำกลับทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าลดลง Wang et al. (2013) เสนอว่าปริมาณฟีนอลิกหรือควิโนนที่มากเกินไปอาจส่งผลเชิงลบต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มโพรตีน โดยที่ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่สูง อาจเกิดการจับกันของโพรตีน

(protein aggregation) อย่างรวดเร็ว ทำให้โครงร่างแหของโปรตีนมีความเป็นระเบียบลดลง นอกจากนี้ Freitas and Mateus (2001) ยังเสนอว่าเมื่อเติมสารประกอบฟีนอลิกที่ความเข้มข้นสูง อาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกเกิดพอลิเมอร์ไรเซชัน มีการรวมตัวของฟีนอลิกด้วยตัวเองโดยไม่เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับโปรตีน ทำให้ไม่มีการเชื่อมข้ามโปรตีนเกิดขึ้น

สำหรับการยืดตัวถึงจุดขาด จากตารางที่ 4.2 พบว่าตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำมีการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม อย่างไรก็ตามการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างส่วนใหญ่ ยกเว้นตัวอย่างที่เติมสารสกัดชาดำเข้มข้น 5 และ 10% มีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) Prodpran et al. (2012) รายงานว่าการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนไมโอไฟบริลลาร์จากปลาตาหวานมีค่าลดลงเมื่อเติมกรดแคฟเฟอิก แคทีคิน กรดเพรุสิก และกรดแทนนิก การยืดตัวถึงจุดขาดที่ลดลงนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของอันตรกิริยาระหว่างสายโปรตีน

4.1.3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างฟิล์มที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่าตัวอย่างควบคุมมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 11.78 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตรของสารสกัดฟิล์ม สารประกอบฟีนอลิกที่พบในตัวอย่างควบคุมนี้มาจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ใช้เป็นวัตถุดิบ Seo and Morr (1984) วิเคราะห์องค์ประกอบของสารฟีนอลิกในผลิตภัณฑ์โปรตีนจากถั่วเหลืองและรายงานว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัดทางการค้ามีกรดฟีนอลิกในปริมาณ 467 ไมโครกรัม/กรัม และไอโซฟลาโวนอยด์ในปริมาณ 965 ไมโครกรัม/กรัม นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างควบคุม โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำที่ปริมาณเท่ากัน เนื่องจากใบชาประกอบด้วยสารประกอบพอลิฟีนอลมากมาย เช่น แคทีคิน และอีพิแกลโลแคทีคิน และในกระบวนการผลิตชาเขียวได้มีการใช้ความร้อนเพื่อยังยั้งกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสที่มีอยู่ตามธรรมชาติในใบชา ในงานวิจัยนี้พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวเข้มข้น 10% มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 44.17 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตรของสารสกัดฟิล์ม ส่วนในกระบวนการผลิตชาดำ มีการบดใบชาเพื่อให้เนื้อเยื่อถูกทำลายและเกิดการแตกของเซลล์ ในขั้นตอนการหมักเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสจะสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของพอลิฟีนอลได้ ฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำจึงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่ำกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียว โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำเข้มข้น 10% มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 26.13 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตรของสารสกัดฟิล์ม

ตารางที่ 4.3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/มิลลิลิตร)
Control	0	11.78±1.84 ^e
Films with green tea extract	2	16.57±0.61 ^d
	5	32.87±2.83 ^b
	10	44.17±3.43 ^a
Films with black tea extract	2	13.09±2.46 ^{de}
	5	18.30±0.61 ^d
	10	26.13±6.15 ^c

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

4.1.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ตารางที่ 4.4 แสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำที่วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันรวมถึงตัวอย่างควบคุม โดยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างควบคุมนี้ น่าจะเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีตามธรรมชาติในถั่วเหลือง ส่วนฟิล์มที่เติมสารสกัดชาพบว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าตัวอย่างควบคุม และเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น ในใบชาที่มีสารประกอบฟีนอลิกอยู่มาก ได้แก่ สารในกลุ่มแคทีคิน เช่น อีพิกแคทีคิน อีพิกัลโลแคทีคิน อีพิกัลโลแลต อีพิกัลโลแคทีคินแลลเลต แคทีคินแลลเลต และแลลโลแคทีคิน นอกจากนี้ในใบชายังมีสารในกลุ่มฟลาโวนอลต่างๆ เช่น เควอเซทิน แคมเฟอรอล เควอเซทาเจทิน และฟลาโวนต่างๆ เช่น รูทีน ไครซิน (Yilmaz, 2006; Chan et al., 2007) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกเหล่านี้ล้วนมีรายงานว่ามียฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดชาทั้งสองชนิด ในงานวิจัยนี้พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันใกล้เคียงกันที่ความเข้มข้นของสารสกัดต่ำๆ (2 และ 5%) แต่ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 10% ฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay สูงกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำ 2.1 และ 1.3 เท่าตามลำดับ

Wu et al. (2013) ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มเจลาตินจากหนังปลาลิ้นที่เติมสารสกัดชาเขียวโดยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay พบว่าเมื่อปริมาณสารสกัดจากชาเขียวเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น โดยผู้วิจัยเสนอว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นนี้เป็น

ผลจากปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น โดย Lee et al. (2015) เสนอว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชเป็นผลจากธรรมชาติและความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิก

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	DPPH (ไมโครโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)	FRAP (มิลลิโมลาร์, สมมูลของโทรลอกซ์)
Control	0	9.45±1.20 ^e	0.077±0.001 ^b
Films with green tea extract	2	26.65±2.05 ^c	0.070±0.005 ^b
	5	45.60±1.70 ^b	0.146±0.051 ^b
Films with black tea extract	10	55.55±0.92 ^a	0.610±0.101 ^a
	2	18.15±0.35 ^d	0.136±0.032 ^b
	5	30.30±2.69 ^c	0.234±0.174 ^b
	10	44.30±1.56 ^b	0.286±0.083 ^b

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

4.1.5 ความโปร่งแสง

ตารางที่ 4.5 แสดงความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน พบว่าตัวอย่างควบคุมมีลักษณะที่ค่อนข้างใส โดยมีค่าร้อยละของแสงส่องผ่านเท่ากับ 80.4 ส่วนตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีร้อยละของแสงส่องผ่านต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยร้อยละของแสงส่องผ่านมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น และฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวและสารสกัดชาดำในปริมาณเท่ากันมีความโปร่งแสงที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำเข้มข้น 10% มีร้อยละแสงส่องผ่านต่ำที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 22.8 และ 17.2 ตามลำดับ Tang et al. (2005) และ González et al. (2011) เสนอว่าความโปร่งแสงของฟิล์มที่ลดลงนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน หรืออาจเป็นผลเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์ที่มีสีของปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและโปรตีน (Pierpoint, 1969)

ตารางที่ 4.5 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ร้อยละของแสงส่องผ่าน
Control	0	80.4±2.4 ^a
Films with green tea extract	2	55.8±5.5 ^b
	5	43.4±11.4 ^{bc}
	10	22.8±6.2 ^d
Films with black tea extract	2	55.3±3.0 ^b
	5	28.1±4.5 ^{cd}
	10	17.2±7.7 ^d

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

4.1.6 สี

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าสีในระบบ CIELAB ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำ พบว่าการเติมสารสกัดชาส่งผลให้ความสว่าง (L^*) ของฟิล์มมีค่าลดลง ในขณะที่สีแดง ($+a^*$) และสีเขียว ($+b^*$) มีค่าเพิ่มขึ้น โดยการเปลี่ยนแปลงของ L^* , a^* , b^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ตารางที่ 4.7 แสดงมุมสีและความเข้มสีของตัวอย่างฟิล์ม พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่ามุมสีอยู่ในช่วงของสีเหลือง (90 องศา) โดยมุมสีของฟิล์มมีค่าเข้าใกล้มุมของสีแดง (0 องศา) มากขึ้นเมื่อปริมาณของสกัดชาเพิ่มขึ้น ตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวและสารสกัดชาดำเข้มข้น 10% มีค่ามุมสีประมาณ 70 องศาซึ่งเป็นมุมของสีเหลืองส้ม ในด้านความเข้มสี พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชามีความเข้มสีสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดชาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำมีความเข้มสีสูงกว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียว สีของตัวอย่างฟิล์มที่เติมสารสกัดชานี้เป็นผลมาจากสารสี (pigment) ตามธรรมชาติในใบชา สารสีและสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกออกซิไดส์ในระหว่างขั้นตอนการหมักใบชา และผลิตภัณฑ์ที่มีสีของปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและโปรตีน

ตารางที่ 4.6 CIE L^* , a^* และ b^* ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	L^*	a^*	b^*
Control	0	93.03±1.27 ^a	1.93±0.26 ^d	16.26±3.73 ^e
Films with green tea extract	2	82.37±2.57 ^b	2.43±1.03 ^d	32.49±6.89 ^c
	5	75.66±4.47 ^c	6.39±2.57 ^c	39.08±1.63 ^b
	10	66.99±6.53 ^d	12.48±2.80 ^b	44.91±0.97 ^a
Films with black tea extract	2	80.58±4.83 ^b	5.35±2.70 ^c	25.82±3.58 ^d
	5	67.54±2.34 ^d	15.86±4.72 ^a	35.74±2.95 ^{bc}
	10	66.61±4.50 ^d	17.21±2.00 ^a	38.00±4.52 ^b

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตารางที่ 4.7 มุมสีและความเข้มสีในระบบ CIE ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	มุมสี (องศา)	ความเข้มสี
Control	0	83.09±0.76 ^{ab}	16.37±3.73 ^f
Films with green tea extract	2	84.82±1.69 ^a	25.94±3.65 ^e
	5	80.12±3.36 ^b	36.36±3.30 ^c
	10	72.26±4.32 ^c	41.13±1.07 ^b
Films with black tea extract	2	81.31±3.34 ^{ab}	32.97±7.19 ^d
	5	69.03±2.61 ^{cd}	41.55±2.89 ^b
	10	67.09±8.41 ^d	48.14±0.36 ^a

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

4.1.7 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำแสดงดังตารางที่ 4.8 พบว่าฟิล์มทุกตัวอย่างมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.82-2.52 ($\times 10^{-5}$) กรัม เมตร/ตารางเมตร ชั่วโมง พาสคาล ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากฟิล์มทุกตัวอย่างประกอบด้วยโมเลกุลที่มีสมบัติชอบน้ำเป็นหลัก ได้แก่ โปรตีน และกลีเซอรอล สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มทุกตัวอย่างจึงมีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.8 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (WVP) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	WVP ($\times 10^{-5}$ กรัม เมตร/ ตารางเมตร ชั่วโมง พาสคาล) ^{ns}
Control	0	1.72 \pm 0.10
Films with green tea extract	2	1.94 \pm 0.09
	5	2.52 \pm 1.82
	10	1.82 \pm 0.13
Films with black tea extract	2	1.90 \pm 0.11
	5	1.92 \pm 0.05
	10	2.11 \pm 0.10

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

ns ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4.1.8 ความสามารถในการละลายน้ำ

ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำมีความสามารถในการละลายน้ำไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 43.58-53.47% ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากฟิล์มทุกตัวอย่างประกอบด้วยโมเลกุลที่มีสมบัติชอบน้ำเป็นหลัก ได้แก่ โปรตีน และกลีเซอรอล ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มทุกตัวอย่างจึงมีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.9 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาเขียวหรือชาดำ

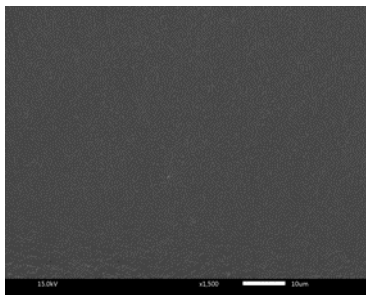
ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (%)	ความสามารถในการละลายน้ำ (%) ^{ns}
Control	0	46.22 \pm 1.72
Films with green tea extract	2	51.67 \pm 5.98
	5	50.94 \pm 3.46
	10	43.58 \pm 3.56
Films with black tea extract	2	45.54 \pm 0.35
	5	53.47 \pm 3.09
	10	52.25 \pm 2.88

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของการทดลอง 3 ซ้ำ

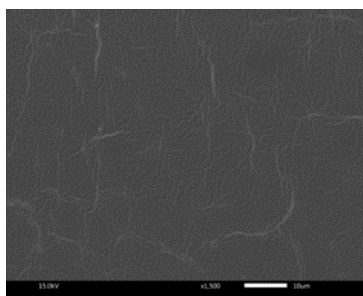
ns ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4.1.9 โครงสร้างของฟิล์ม

รูปที่ 4.1 แสดงโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มที่ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า พบว่าตัวอย่างฟิล์มในงานวิจัยนี้มีโครงสร้างภาคตัดขวางที่ใกล้เคียงกัน โดยเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดชาเพิ่มสูงขึ้น ตัวอย่างฟิล์มมีโครงสร้างที่หนาแน่นขึ้น เห็นได้จากภาพโครงสร้างภาคตัดขวางที่มีรอยเส้น (crease) เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการรวมตัวกันของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น



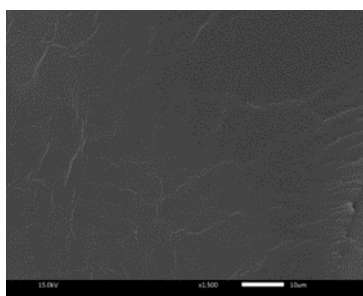
Control



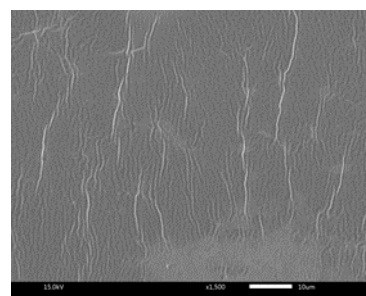
2% Green tea extract



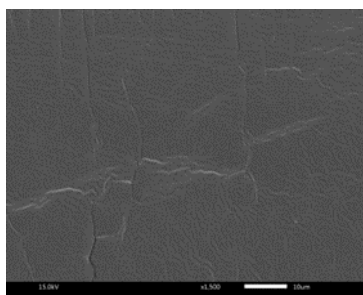
2% Black tea extract



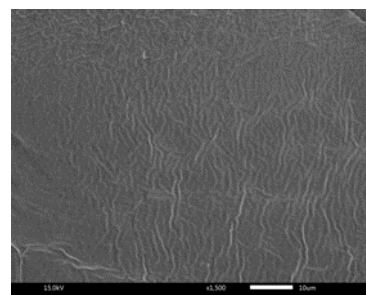
5% Green tea extract



5% Black tea extract



10% Green tea extract



10% Black tea extract

รูปที่ 4.1 โครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มที่ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดถ่ายที่กำลังขยาย 1500 เท่า

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สารสกัดชาเขียวและชาดำสามารถใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองได้ จากงานวิจัยนี้พบว่า การเติมสารสกัดชาไม่มีผลต่อความหนา แต่มีผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์ม โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวเข้มข้น 5% มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุดเท่ากับ 5.47 เมกะพาสคาล ซึ่งมีค่าเป็น 1.4 เท่าของตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดชา อย่างไรก็ตาม การเติมสารสกัดชาเขียวที่มากเกินไป (10%) กลับทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดลดลงอีกครั้งหนึ่ง ส่วนการเติมสารสกัดชาดำมีผลต่อความแข็งแรงของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง โดยทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่สูงอาจทำให้เกิดการจับกันของโปรตีนอย่างรวดเร็ว ทำให้โครงร่างแหของโปรตีนมีความเป็นระเบียบลดลง นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่สูง อาจเกิดพอลิเมอร์ไซชันของสารประกอบฟีนอลิก โดยไม่เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับโปรตีน ทำให้ไม่มีการเชื่อมข้ามโปรตีนเกิดขึ้น ในแง่ของการยืดตัวถึงจุดขาด ฟิล์มส่วนใหญ่มีค่าการยืดตัวถึงจุดขาดไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม อย่างไรก็ตาม ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดชาดำเข้มข้น 5 และ 10% มีการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม การเติมสารสกัดชาเขียวและชาดำมีผลค่อนข้างน้อยต่อสมบัติในการซึมผ่านไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำ สมบัติเชิงแสงพบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาจะมีความโปร่งแสงลดลงและมีสีเข้มขึ้น ฟิล์มที่เติมสารสกัดชาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยเฉพาะฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียว สอดคล้องกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้น โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดชาเขียวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดชาดำอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากงานวิจัยนี้จึงสรุปได้ว่าสามารถพัฒนาฟิล์มบิโอบีโอดีจากโปรตีนถั่วเหลืองที่มีความแข็งแรงเชิงกลและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้นโดยการเติมสารสกัดชาเขียว

สำหรับข้อเสนอแนะ คณะผู้วิจัยมีความเห็นว่าสมควรนำฟิล์มที่พัฒนาได้ไปทดลองประยุกต์กับผลิตภัณฑ์อาหารสดที่ต้องการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น ผลิตภัณฑ์ผลไม้สดตัดแต่ง

เอกสารอ้างอิง

- มณฑาทิพย์ ชุมนฉลาด. (2535). फिल्मและสารเคลือบที่รับประทานได้. วารสารอาหาร 1: 1-6.
- Almajano, M.P., Carbó, R., López Jiménez, J.A., and Gordon, M.H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. Food Chemistry 108: 55-63.
- Banker, G.S. (1966). Water vapor transmission properties of free polymer films. Journal of Pharmacological Sciences 18: 457-472.
- Chambi, H., and Grosso, C. (2006). Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. Food Research International 39: 458-466.
- Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., and Chew, Y.L. (2007). Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. Food Chemistry 102: 1214-1222.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J.L., and Guilbert, S. (1996). Rheological model for the mechanical properties of myofibrillar protein-based films. Journal of Agricultural and Food Chemistry 44: 1116-1122.
- Frietas, V., and Mateus, N. (2001). Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 940-945.
- Galus, S., Mathieu, H., Lenart, A., and Debeaufort, F. (2012). Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. Innovative Food Science & Emerging Technologies 16: 148-154.
- González, A., Strumia, M.C., and Alvarez Igarzabal, C.I. (2011). Cross-linked soy protein as material for biodegradable films: synthesis, characterization and biodegradation. Journal of Food Engineering 106: 331-338.
- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., and Chiralt, A. (2004a). Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. Food Hydrocolloids 18: 647-654.
- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., and Chiralt, A. (2004b). Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. Food Hydrocolloids 18: 403-411.
- Hoque, M.S., Benjakul, S., and Prodpran, T. (2011). Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. Food Hydrocolloids 25: 1085-1097.
- Kester, J.J., and Fennema, O.R. (1986). Edible films and coatings. Food Technology 40(12): 47-59.

- Krochta, J.M., Baldwin, E.A., and Nissperos-Carriedo, M.O. (1994). Edible Coating and Films to Improve Food Quality. New York: Technomic.
- Krochta, J.M., and Mulder-Johnston, C.D. (1997). Edible films solve problems. Food Technology 51(2): 60-74.
- Lee, J.H., Lee, J., and Song, K.B. (2015). Development of a chicken feet protein film containing essential oils. Food Hydrocolloids 46: 208-215.
- Liu, K. (2012). Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization. New York: Springer.
- Mandal, B.B., Mann, J.K., and Kundu, S.C. (2009). Silk fibroin/gelatin multilayered films as a model system for controlled drug release. European Journal of Pharmaceutical Sciences 37: 160-171.
- 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: 821-825.
- Park, S.K., Hettiarachchy, N.S., Ju, Z., and Gennadios, A. (2002). Formation and properties of soy protein films and coatings. In A. Gennadios (ed.), Protein-Based Films and Coatings, pp. 978-1587. Boca Raton: CRC.
- Pierpoint, W. (1969). *o*-Quinones formed in plant extracts: their reaction with bovine serum albumin. Biochemical Journal 112: 619-629.
- Prodpran, T., Benjakul, S., and Phatcharat, S. (2012). Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein. International Journal of Biological Macromolecules 51: 774-782.
- Rawel, H.M., Czajka, D., Rohn, S., and Kroll, J. (2002). Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. International Journal of Biological Macromolecules 30: 137-150.
- Seo, A., and Morr, C. (1984). Improved high-performance liquid chromatographic analysis of phenolic acids and isoflavonoids from soybean protein products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 32: 530-533.
- Shahidi, F., and Naczk, M. (1995). Food Phenolics. Lancaster: Technomic.
- Strauss, G., and Gibson, S.M. (2004). Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. Food Hydrocolloids 18: 81-89.
- Wang, Y., Xiong, Y.L., Rentfrow, G.K., and Newman, M.C. (2013). Oxidation promotes cross-linking but impairs film-forming properties of whey proteins. Journal of Food Engineering 115: 11-19.

- Waterhouse, A.L. (2005). Consumer labels can convey polyphenolic content: implications for public health. Journal of Immunology Research 12: 43-46.
- Wu, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J., and Zhang, Q. (2013). Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids 32: 42-51.
- Yilmaz, Y. (2006). Novel uses of catechins in foods. Trends in Food Science & Technology 17: 64-71.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงจากวิธีของ Waterhouse (2005)

รีเอเจนต์

สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว

1. ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำสารละลายมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 2

การเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

1. เตรียม stock solution ของกรดแกลลิกเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายกรดแกลลิกปริมาณ 0.5 กรัม ในเมทานอล 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

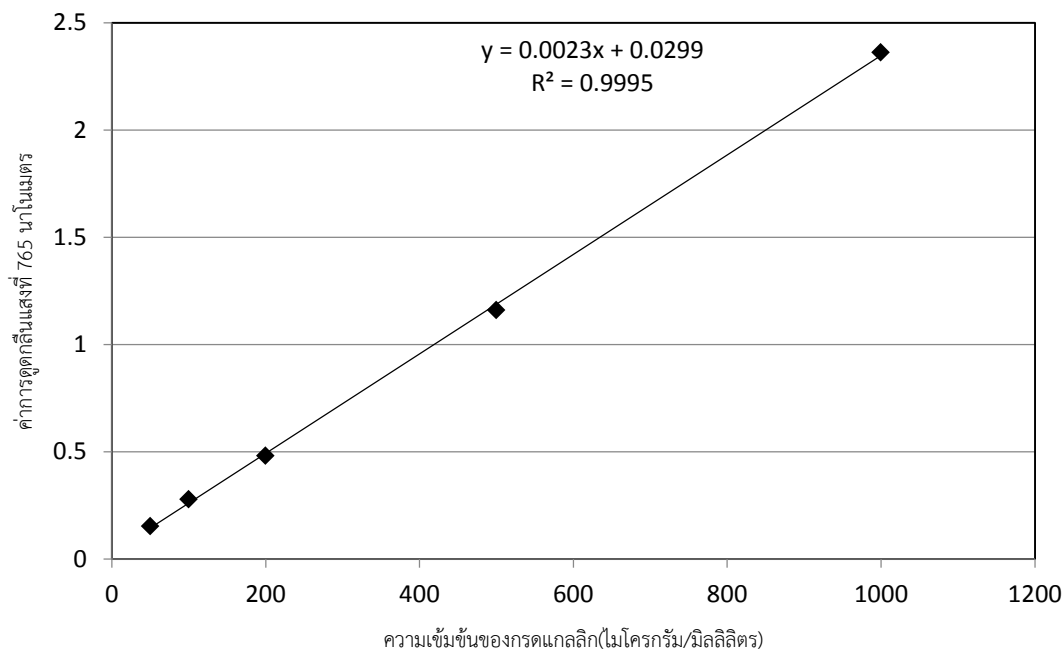
2. เตรียม standard solution ของกรดแกลลิกเข้มข้น 50, 100, 200, 500 และ 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จาก stock solution ในข้อ 1

3. ปิเปตต์ standard solution ปริมาตร 200 ไมโครลิตร บรรจุลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

4. เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร ปิเปตต์สารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในขวดกำหนดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 นาที

5. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัวปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้ถึงขีด 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

6. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง



รูปที่ ก.1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง

1. ปิเปตต์สารสกัดตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร บรรจุลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร ปิเปตต์สารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในขวดกำหนดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 นาที
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิมิตัวปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้ถึงขีด 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

ก.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain (1996)

รีเอเจนต์

สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมแอสซิเตต (พีเอช 3.6) เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

1. ชั่งโซเดียมแอสซิเตตปริมาณ 40.82 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 700 มิลลิลิตร
2. ปรับพีเอชของสารละลายด้วยเกลเซลแอซิดิกให้มีค่าเท่ากับ 3.6
3. ปรับปริมาตรของสารละลายในข้อ 2 ให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

หมายเหตุ สารละลายบัฟเฟอร์นี้ควรปรับพีเอชทุกครั้งเมื่อต้องการใช้

สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาณ 0.0324 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร

สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

1. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยเจือจางกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37% ปริมาตร 0.3316 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร
2. ละลาย TPTZ ปริมาณ 0.0312 กรัม ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในข้อ 1 ประมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 10 มิลลิลิตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

สารละลาย FRAP

ปิเปตต์สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมแอสซิเตตที่เตรียมไว้ข้างต้นปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย TPTZ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

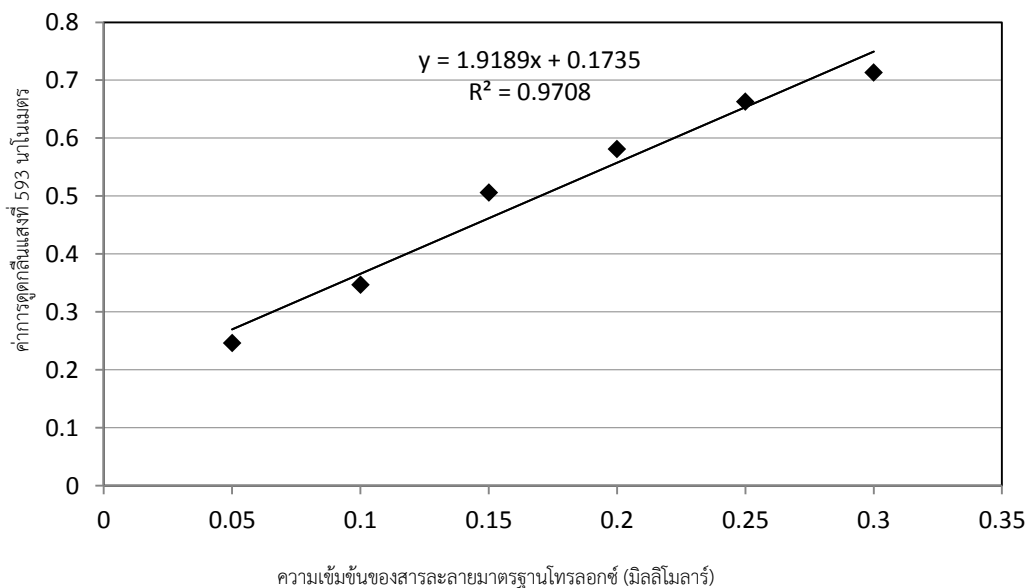
หมายเหตุ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ สารละลาย TPTZ และสารละลาย FRAP ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อต้องการใช้

การเตรียมกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ FRAP

1. เตรียม stock solution ของโทรลอกซ์ 1 มิลลิโมลาร์โดยละลายโทรลอกซ์ 0.025 กรัม ในเมทานอล 99.9% แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

2. เตรียม standard solution ของโทรลอกซ์เข้มข้น 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 มิลลิโมลาร์จาก stock solution ในข้อ 1

3. นำ standard solution ของโทรลอกซ์ไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP และสร้างกราฟเทียบมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นโทรลอกซ์และค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร



รูปที่ ก.2 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูป FRAP

1. ปิเปตต์สารละลาย FRAP ปริมาตร 2000 ไมโครลิตร บรรจุลงในหลอดทดลอง
2. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
3. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย FRAP ในหลอดทดลอง แล้วเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
4. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟเทียบมาตรฐานของสารละลายโทรลอกซ์

ก.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995)

รีเอเจนต์

สารละลาย DPPH

1. เตรียม stock solution ของ DPPH โดยละลาย DPPH ปริมาณ 12 มิลลิกรัม ในเมทานอล 99.9% แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร สารละลายนี้สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้ไม่เกิน 5 วัน

2. เตรียม daily solution ของ DPPH จากสารละลาย stock solution ในข้อ 1 โดยปิเปตต์ stock solution มา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล 99.9% จะได้สารละลาย DPPH เข้มข้น 1.2×10^{-4} โมลาร์ เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปแบบ DPPH

1. ปิเปตต์ตัวอย่างมา 150 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH เข้มข้น 1.2×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 950 ไมโครลิตร บรรจุลงในควีเวตต์ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐาน ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง แต่ใช้โทรลอกซ์เป็นสารละลายมาตรฐาน

2. นำของผสมที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 515 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นตัวอ้างอิง โดยสีของตัวอย่างจะเปลี่ยนจากสีม่วงไปเป็นสีเหลืองอ่อน

3. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (A_{initial} ควรมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 1.1) มาลบออกด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (A_{final}) ได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{\text{difference}}$) ตามสมการที่ (ก.1)

$$A_{\text{difference}} = A_{\text{initial}} - A_{\text{final}} \quad \dots(\text{ก.1})$$

4. นำ $A_{\text{difference}}$ ของตัวอย่างไปหาค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยเทียบกับ $A_{\text{difference}}$ ของกราฟเทียบมาตรฐานของโทรลอกซ์

ภาคผนวก ข

โครงงานวิจัย

รายละเอียดโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ประจำปีการศึกษา 2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ การดัดแปรฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคนได้โดยใช้สารสกัดชา

(Modification of edible soy protein film using tea extracts)

รายชื่อผู้เข้าร่วมโครงการ นางสาวสุธิสา ตี้อัพันธ์ 5932572123

นางสาวชนินาถ เจริญชัยกิจ 5932514823

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช

1. มุมเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

อุตสาหกรรมอาหารเป็นอุตสาหกรรมที่มีการใช้บรรจุภัณฑ์ในปริมาณสูงและเป็นสัดส่วนหลักของขยะจากครัวเรือน ขยะเหล่านี้ก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมหากมีการจัดการที่ไม่ดีพอ จากความตระหนักของผู้ผลิตและผู้บริโภคเกี่ยวกับการคงอยู่ของมนุษย์ร่วมกับสิ่งแวดล้อม ทำให้มีแนวคิดในการพัฒนาวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในรูปของวัสดุบรรจุภัณฑ์ย่อยสลายได้หรือบริโภคนได้ โปรตีนอาหารหลายชนิดมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มย่อยสลายได้และฟิล์มบริโภคนได้ อย่างไรก็ตามฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไปยังมีสมบัติที่ด้อยกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ผลิตจากพอลิเมอร์ฐานปิโตรเลียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านสมบัติเชิงกลที่ผ่านมามีรายงานว่าสารสกัดจากพืชสามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนได้โดยอาศัยปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามโปรตีนของสารประกอบฟีนอลิกในพืชเหล่านั้น โดยสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในสถานะออกซิไดส์และไม่ออกซิไดส์อาจมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนที่ต่างกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกที่เติมลงในฟิล์มยังอาจทำหน้าที่อื่นนอกเหนือจากการเชื่อมข้ามโปรตีน เช่น การต้านออกซิเดชัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคนได้ที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำ

2. แนวคิด เหตุผล และทฤษฎีสำคัญ

ฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไปรวมถึงฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติเด่นในด้านการต้านทานการซึมผ่านของออกซิเจนและไขมัน แต่ยังคงมีข้อจำกัดสำคัญในด้านสมบัติเชิงกล (Chambi and Grosso, 2006) เพื่อพัฒนาฟิล์มโปรตีนให้สามารถนำไปใช้งานได้อย่างแพร่หลาย จึงต้องมีการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนโดยส่งเสริมให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเชื่อมข้ามด้วยพันธะโควาเลนต์

การส่งเสริมให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนในฟิล์มสามารถทำได้โดยวิธีต่างๆ เช่น การฉายรังสี (Ouattara et al., 2002) การใช้ความร้อน (Hernández-Muñoz et al., 2004a) การใช้เอนไซม์ (Mariniello et al., 2003) รวมถึงวิธีทางเคมี (Hernández-Muñoz et al., 2004b) สำหรับการใช่วิธีทางเคมีเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน ที่ผ่านมาสารเคมีที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ แอลดีไฮด์ เนื่องจากเป็นตัวเชื่อมข้ามโปรตีน (protein cross-linker) ที่มีประสิทธิภาพสูง แต่จากความตระหนักถึงความเป็นพิษของแอลดีไฮด์ จึงมีความพยายามในการแสวงหาตัวเชื่อมข้ามอื่นที่มีความปลอดภัยสูงกว่า (Gonzalez et al., 2011) สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดที่พบตามธรรมชาติมีความสามารถในการส่งเสริมให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีน โดยอันตรกิริยาที่เกิดขึ้น ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก รวมทั้งพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้าม (Strauss and Gibson, 2004; Hoque et al., 2011) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกที่มีสถานะออกซิเดชันต่างกันยังมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนที่ต่างกัน Rawel et al. (2002) รายงานว่าความสามารถของสารประกอบฟีนอลิกในการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนขึ้นอยู่กับความสามารถของสารนั้นๆ ที่จะถูกออกซิไดส์ไปเป็นสารประกอบควิโนน

ฟิล์มโปรตีนนอกจากจะใช้ในแง่การเป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ทำหน้าที่ปกป้องผลิตภัณฑ์ภายในแต่เพียงอย่างเดียวแล้ว (passive packaging material) ยังอาจพัฒนาให้เป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging material) เช่น ทำหน้าที่เป็นตัวพาและปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ต่างๆ ได้แก่ สารยับยั้งออกซิเดชัน และสารยับยั้งจุลินทรีย์ วัสดุบรรจุภัณฑ์แอคทีฟนี้ได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบัน (Mandal et al., 2009) บัณฑิตา จิตตประไพ (2559) รายงานว่าการเติมสารสกัดจากขิงและข่าในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง นอกจากจะช่วยปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกลโดยการเชื่อมข้ามโปรตีนของสารประกอบฟีนอลิกแล้ว ยังทำให้ฟิล์มที่ได้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย

ใบชาสดเป็นแหล่งที่สำคัญของพอลิฟีนอล ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในใบชาได้แก่ แคทีคิน (catechin) ผลิตภัณฑ์ชาที่นำมาใช้ชงเป็นเครื่องดื่มสามารถแบ่งได้เป็นประเภทต่างๆ ตามระดับการออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการหมักชา (fermentation step) ตัวอย่างเช่น ชาเขียว (green tea) ในกระบวนการผลิตชาชนิดนี้จะไม่ขึ้นขั้นตอนการหมัก ผลิตโดยนำยอดอ่อนของชา (tea flush) มาให้ความร้อนเพื่อยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสที่มีอยู่ตามธรรมชาติในยอดชา ชาเขียวจึงประกอบด้วยฟลาวานอล (flavanol) ที่ไม่ถูกออกซิไดส์ในปริมาณสูง ส่วนชาดำ (black tea) ผลิตโดยนำยอดอ่อนของชามาทำให้แห้ง แล้วนำไปคั่วด้วยลูกกลิ้งเพื่อให้เนื้อเยื่อถูกทำลายและเกิดการแตกของเซลล์ เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสจะสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของพอลิฟีนอลในระหว่างขั้นตอนการหมักชาได้ ชาดำจึงประกอบด้วยฟลาวานอลที่ไม่ถูกออกซิไดส์ในปริมาณต่ำ แต่กลับมีปริมาณพอลิฟีนอลที่ถูกออกซิไดส์ในปริมาณสูง Shahidi and Naczki (1995) รายงานว่าชาเขียวปริมาณ 100 กรัม ประกอบด้วยแคทีคินประมาณ 17-30 กรัม ในขณะที่ชาดำปริมาณ 100 กรัม มีปริมาณแคทีคินเพียง 5 กรัม แต่มีพอลิฟีนอลที่ถูกออกซิไดส์สูงถึง 25

กรัม และเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลิตภัณฑ์ชาต่างชนิดจึงอาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต่างกัน ในแง่ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน Almajano et al. (2008) รายงานว่าน้ำชาเขียว (green tea infusion) มีค่า trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) เท่ากับ 6344 มิลลิโมลของโทรล็อกซ์/ลิตร ซึ่งสูงกว่าน้ำชาดำ (black tea infusion) ซึ่งมีค่า TEAC เท่ากับ 3771 มิลลิโมลของโทรล็อกซ์/ลิตร นอกจากนี้ผู้วิจัยยังรายงานว่าน้ำชาเขียวมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูงกว่าน้ำชาดำด้วย

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ งานวิจัยของ Hoque et al. (2011) ซึ่งศึกษาสมบัติของฟิล์มเจลลาตินจากหมึกสาย (cuttlefish) ที่เติมสารสกัดที่มีฟีนอลิกจากเครื่องเทศ 3 ชนิด ได้แก่ อบเชย กานพลู และโป๊ยกั๊ก โดยแปรสถานะออกซิเดชันของสารสกัดเป็น 2 ชนิด ได้แก่ สารสกัดที่ออกซิไดส์และสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์ พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดเครื่องเทศมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุม และฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ออกซิไดส์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดที่ไม่ออกซิไดส์

Wu et al. (2013) ศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาเขียวต่อสมบัติของฟิล์มเจลลาติน พบว่าฟิล์มเจลลาตินมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดชาเขียวเข้มข้น 0.7% มีค่าความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าฟิล์มเจลลาตินที่ไม่เติมสารสกัดชาเขียวถึง 45% ผู้วิจัยเสนอว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดชาเขียวสามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่เอมีโนและหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของโปรตีนได้ ทำให้เกิดพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามและช่วยเพิ่มความแข็งแรงเชิงกลให้แก่ฟิล์มเจลลาติน นอกจากนี้ผู้วิจัยรายงานว่าฟิล์มที่ได้ยังมีสมบัติต้านออกซิเดชัน โดยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของฟิล์มเจลลาตินที่เติมสารสกัดชาเขียวที่วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มสูงขึ้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งหวังพัฒนาฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคได้ที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำ

3. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคได้ที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำ

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (prototype) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองบริโภคได้ที่เติมสารสกัดชาเขียวและชาดำซึ่งมีสมบัติต้านออกซิเดชัน

5. รายละเอียดของการดำเนินโครงการ

1. ศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากหนังสือ วารสาร สิ่งพิมพ์ต่างๆ และสื่ออิเล็กทรอนิกส์ ที่เกี่ยวกับวัตถุดิบ กระบวนการวิจัย และวิธีวิเคราะห์
2. วิเคราะห์ข้อมูลทางวิชาการต่างๆ ที่รวบรวมได้ วางแผนและออกแบบการทดลอง รวมทั้งจัดทำวัตถุดิบ สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ

3. ดำเนินการทดลองและรวบรวมผลการทดลอง โดยแบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

3.1 การเตรียมสารสกัดชา

ใบชาเขียวอบแห้งและใบชาดำอบแห้งที่จะใช้ในงานวิจัยนี้เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า นำใบชามาบดละเอียด แล้วสกัดโดยใช้วิธี ultrasonic-assisted water extraction ตามวิธีของ Xia et al. (2006) นำไปทำแห้งด้วยวิธี Spray drying วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในผงสารสกัดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu ตามวิธีของ Waterhouse (2005)

3.2 การศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

สำหรับการศึกษาผลของการเติมสารสกัดชาต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate) ที่ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า แปรความเข้มข้นของผงสารสกัดชาเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2, 5 และ 10% ของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด เตรียมฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Jiang et al. (2007) โดยเตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักในสารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 8.0) ใช้กลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองเป็นพลาสติกไซเซอร์ ให้ความร้อนแก่สารละลายที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน (partial denaturation) แล้วเติมผงสารสกัดชา ไฮโมจีไนส์สารละลายฟิล์ม กำจัดฟองอากาศ แล้วขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม จากนั้นวิเคราะห์สมบัติดังต่อไปนี้ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ฟิล์มที่ไม่เติมสารสกัดชา

(1) ความหนา วัดโดยใช้ไมโครมิเตอร์

(2) สมบัติเชิงกล วัดความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) และการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) โดยใช้เครื่อง Texture Analyzer

(3) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant activity) วิเคราะห์โดย DPPH radical scavenging assay (Brand-Williams et al., 1995) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay (Benzie and Strain, 1996)

(4) ความโปร่งแสง วัดในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

(5) สี วัดค่า L^* , a^* และ b^* ในระบบ CIELAB โดยใช้ chroma meter

(6) สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM (ASTM, 2004)

(7) ความสามารถในการละลายน้ำ วิเคราะห์ตามวิธีของ Perez-Gago and Krochta (2001)

(8) โครงสร้างของฟิล์ม ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (Cochran and Cox, 1957)

3.3 วิเคราะห์ผลการทดลอง สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.4 จัดทำรายงานและนำเสนอผลการวิจัย

6. ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

ใช้ระยะเวลาในการดำเนินการประมาณ 1 ปี โดยเริ่มดำเนินงานในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 และคาดว่าจะแล้วเสร็จในเดือนเมษายน พ.ศ. 2563

ขั้นตอนการดำเนินงาน	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.
	2562										2563			
1. ศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากหนังสือ วารสาร สิ่งพิมพ์ต่างๆ และสื่ออิเล็กทรอนิกส์ ที่เกี่ยวกับวัตถุดิบ กระบวนการผลิต และวิธีวิเคราะห์														
2. วิเคราะห์ข้อมูลทางวิชาการต่างๆ ที่รวบรวมได้ วางแผนและออกแบบการทดลอง รวมทั้งจัดหาวัตถุดิบ สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ														
3. ดำเนินการทดลองและรวบรวมผลการทดลอง														
4. วิเคราะห์ วิวิจารณ์ และสรุปผลการทดลอง														
5. จัดเตรียมรายงานและนำเสนอผลงาน														

7. งบประมาณ

1. ค่าใช้สอย

- ค่าสำเนาเอกสารและสิ่งพิมพ์

1,500 บาท

- ค่าเดินทางในการจัดหาวัตถุดิบ	2,000 บาท
2. ค่าวัสดุ	
- วัสดุวิทยาศาสตร์	3,500 บาท
- กลีเซอรอล	300 บาท
- โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	800 บาท
- ชาเขียว	400 บาท
- ชาดำ	500 บาท
- วัสดุอุปกรณ์ในการทำรายงานและการนำเสนอ	2,000 บาท
รวม	11,000 บาท

เอกสารอ้างอิง

มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด (2535). फिल्मและสารเคลือบที่รับประทานได้. วารสารอาหาร 1: 1-6.

Almajano, M.P., Carbó, R., López Jiménez, J.A., and Gordon, M.H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. Food Chemistry 108: 55-63.

Banker, G.S. (1966). Water vapor transmission properties of free polymer films. Journal of Pharmacological Sciences 18: 457-472.

Chambi, H., and Grosso, C. (2006). Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. Food Research International 39: 458-466.

Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., & Chew, Y. L. (2007). Antioxidant activity of Camellia sinensis leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. Food Chemistry, 102, 1214-1222.

Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., and Guilbert, S. (1996). Rheological model for the mechanical properties of myofibrillar protein-based films. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(4): 1116-1122.

Galus, S., Mathieu, H., Lenart, A., and Debeaufort, F. (2012). Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. Innovative Food Science & Emerging Technologies 16: 148-154.

González, A., Strumia, M.C., and Alvarez Igarzabal, C.I. (2011). Cross-linked soy protein as material for biodegradable films: synthesis, characterization and biodegradation. Journal of Food Engineering 106: 331-338.

- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., and Chiralt, A. (2004a). Effect of thermal treatments on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. Food Hydrocolloids 18: 647-654.
- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R., and Chiralt, A. (2004b). Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. Food Hydrocolloids 18: 403-411.
- Hoque, M.S., Benjakul, S., and Prodpran, T. (2011). Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts. Food Hydrocolloids 25: 1085-1097.
- Kester, J. J., Fennema, O.R. (1986). Edible films and coatings. Food Technology 40(12): 47-59.
- Krochta, J.M., Baldwin, E.A., and Nissperos-Carriedo, M.O. (1994). Edible Coating and Films to improve Food Quality. New York: Technomic Publishing.
- Krochta, J.M., and Mulder-Johnston, C.D. (1997). Edible films solve problems. Food Technology 51(2): 60-74.
- Lee, J. H., Lee, J., & Song, K. B. (2015). Development of a chicken feet protein film containing essential oils. Food Hydrocolloids, 46, 208–215.
- Liu, K. (2012). Soybeans: chemistry, technology, and utilization: Springer.
- Mandal, B.B., Mann, J.K., and Kundu, S.C. (2009). Silk fibroin/gelatin multilayered films as a model system for controlled drug release. European Journal of Pharmaceutical Sciences 37: 160-171.
- Quattara, 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: 821-825.
- Park, S. K., Hettiarachchy, N. S., Ju, Z., and Gennadios, A. (2002). Formation and properties of soy protein films and coatings. Protein-based films and coatings: 978-1587.
- Pierpoint, W. (1969). o-Quinones formed in plant extracts. Their reaction with bovine serum albumin. Biochemical Journal, 112: 619-629.
- Rawel, H.M., Czajka, D., Rohn, S., and Kroll, J. (2002). Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. International Journal of Biological Macromolecules 30: 137-150.
- Seo, A., and Morr, C. (1984). Improved high-performance liquid chromatographic analysis of phenolic acids and isoflavonoids from soybean protein products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 32: 530-533.
- Shahidi, F., and Naczk, M. (1995). Food Phenolics. Lancaster, PA: Technomic.

- Strauss, G., and Gibson, S.M. (2004). Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients. Food Hydrocolloids 18: 81-89.
- Waterhouse, A. L. (2005). Consumer labels can convey polyphenolic content: Implications for public health. Journal of Immunology Research 12: 43-46.
- Wu, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J., and Zhang, Q. (2013). Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids 32: 42-51.
- Yilmaz, Y. (2006). Novel uses of catechins in foods. Trends in Food Science & Technology, 17, 64-71

ภาคผนวก ค

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวสุธิสา ดีคือพันธ์ุ
ตำแหน่ง	หัวหน้าโครงการ
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2563
โทรศัพท์	065-519-6955
Email	s.tidepan@gmail.com



ชื่อ-สกุล	นางสาวชนินาถ เจริญชัยกิจ
ตำแหน่ง	ผู้วิจัยร่วม
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2563
โทรศัพท์	089-447-3738
Email	giftswiftcake@gmail.com

