# ผลของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวและการบ่มด้วยยูวีต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง

น.ส.เมธาพร วงศ์อุ่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# EFFECTS OF SURFACTANT-MODIFIED CELLULOSE NANOCRYSTAL AND UV CURING ON PROPERTIES OF SOY PROTEIN-BASED COMPOSITE FILM

Miss Mathaporn Wongoun

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology
Department of Food Technology
FACULTY OF SCIENCE
Chulalongkorn University
Academic Year 2020

Copyright of Chulalongkorn University

| | |
|---|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | ผลของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวและการบ่มด้วยยูวีต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง |
| โดย | น.ส.เมธาพร วงศ์อุ่น |
| สาขาวิชา | เทคโนโลยีทางอาหาร |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช |

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ)

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

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ศิริมา พ่วงประพันธ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรางคณา สมพงษ์)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เมธาพร วงศ์อุ่น : ผลของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวและการบ่มด้วยยูวีต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง. ( EFFECTS OF SURFACTANT-MODIFIED CELLULOSE NANOCRYSTAL AND UV CURING ON PROPERTIES OF SOY PROTEIN-BASED COMPOSITE FILM) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของของเสริมเซลลูโลสดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวและการบ่มด้วยรังสียูวีต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง การทดลองส่วนแรกเป็นการดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลด้วยสารลดแรงตึงผิวและการพัฒนาฟิล์มคอมพอสิต ในการดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัล แปรชนิดของสารลดแรงตึงผิวเป็น 2 ชนิด ได้แก่ กลีเซอรอลโมโสเทียเรต (glycerol monostearate, GMS) และ โซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (sodium stearoyl lactylate, SSL) และแปรความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม พบว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย (z-average) อยู่ในช่วง 67.4-605.0 นาโนเมตร ส่วนศักย์ซีต้ามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างที่มีศักย์ซีต้าสูงสุด ได้แก่ เซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย GMS และ SSL เข้มข้น 10% ซึ่งมีศักย์ซีต้าเท่ากับ -69.9 และ -84.5 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโนมีเสถียรภาพสูงมาก จึงคัดเลือกมาเพื่อใช้ในการเตรียมฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง โดยแปรปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม พบว่าฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% มีความต้านทานแรงตึงขาดสูงสุดเท่ากับ 2.84 เมกะพาสคาล ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรถึง 68.0% ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าความสว่าง (*L**) และความโปร่งใสของฟิล์มมีค่าลดลงด้วย มุมสีของของฟิล์มทุกตัวอย่างอยู่ในช่วงมุมสีเหลืองและความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มสูงขึ้น สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำมีค่าลดลง และมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าสูงขึ้น เมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มสูงขึ้น จากการศึกษาโครงสร้างภาคตัดขวางด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรทำให้เมทริกซ์ของฟิล์มมีความเป็นเนื้อเดียวกันลดลงและมีช่องทางคดเคี้ยวมากขึ้น สำหรับการทดลองในส่วนที่สองเป็นการศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสียูวีซี โดยคัดเลือกฟิล์มที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด ได้แก่ ฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% มาบ่มด้วยยูวี แปรปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 6 ระดับ ได้แก่ 0.06, 0.19, 0.32, 0.45, 0.65 และ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร พบว่าการบ่มด้วยรังสียูวีส่งผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นและการยืดตัวถึงจุดขาดลดลง โดยฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวีถึง 2.2 เท่า การบ่มด้วยรังสียูวีส่งผลให้ความโปร่งใสของฟิล์มลดลง ค่าสีเหลือง (*+b**) และความเข้มสีมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มขึ้น การบ่มด้วยรังสียูวีไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ($p>0.05$) ในขณะที่มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นและความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มมีแนวโน้มลดต่ำลง การเชื่อมข้ามของโปรตีนที่เป็นผลจากการบ่มด้วยรังสียูวีสามารถยืนยันได้จากการเพิ่มขึ้นของไดไทโรซีนที่ติดตามโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปีและการเปลี่ยนแปลงของความเข้มของแถบโปรตีนที่ติดตามโดย SDS-PAGE

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

# # 6072089423 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEYWORD: CELLULOSE NANOCRYSTAL, NANOCOMPOSITE FILM, PROTEIN FILM, UV IRRADIATION

Mathaporn Wongoun : EFFECTS OF SURFACTANT-MODIFIED CELLULOSE NANOCRYSTAL AND UV CURING ON PROPERTIES OF SOY PROTEIN-BASED COMPOSITE FILM. Advisor: Asst. Prof. THANACHAN MAHAWANICH, Ph.D.

The objective of this study was to investigate the effect of reinforcement with surfactant-modified cellulose nanocrystals and UV curing on properties of soy protein-based composite film. The first part of the study was the modification of cellulose nanocrystals (CNC) using surfactants and the development of composite films. To modify cellulose nanocrystals, the surfactant used was either glycerol monostearate (GMS) or sodium stearoyl lactylate (SSL). The surfactant concentration was varied at 1, 5 and 10% by weight of total solids. It was revealed that particle size (z-average) of surfactant-modified CNCs was in the range of 67.4-605.0 nm. Zeta potential of the modified CNCs was found to increase with increasing surfactant concentration. The greatest zeta potentials were observed in those CNCs modified using 10% GMS and 10% SSL, with the values of -69.9 and -84.5 mV, respectively, which conferred their excellent stability. Therefore, these two modified CNCs were selected for using in the preparation of soy protein-based composite films. Different amount of surfactant-modified CNCs (5, 10 and 15% by weight) was added to the film-forming solution. It was found that the film reinforced with 15% of SSL-modified CNC demonstrated the highest tensile strength of 2.84 MPa, which was 68.0% greater than the non-reinforced control film. Meanwhile, elongation at break tended to decrease with increasing modified-CNC content. In addition, lightness ($L^*$) and transparency were found to decrease. Hue angle of all film samples was approaching a value representing yellow color and chroma was shown to slightly increase with increasing modified-CNC content. In terms of water vapor permeability and water solubility, both properties were found to decrease while contact angle between a water droplet and the film surface was noticeably increasing. From SEM micrographs, less homogeneous film matrix with observable tortuous path was demonstrated for the films reinforced with modified CNCs. The second part of the study dealt with the investigation of the effect of UV curing of dry film. The film used in this part was the reinforced film with greatest tensile strength, which was the film added with 15% of SSL-modified CNC. The absorbed radiation dose of UV-C was varied as 0.06, 0.19, 0.32, 0.45, 0.65 and 1.56 J/cm$^2$. The UV-cured film exhibited increasing tensile strength with reducing elongation at break. The film cured at 1.56 J/cm$^2$ radiation dose exhibited the highest tensile strength, a 2.2-time greater than the uncured control. UV curing also resulted in a reduction in transparency and an increase in yellowness ($+b^*$) and chroma upon increasing radiation dose. Despite that, water vapor permeability was unaffected by UV irradiation ($p>0.05$). Contact angle of the UV-cured film tended to increase while water solubility tended to decrease. UV-induced protein cross-linking was confirmed by an increase in dityrosine as monitored using fluorescence spectroscopy and the changes in band intensity observed using an SDS-PAGE.

| | | |
|---|---|---|
| Field of Study: | Food Technology | Student's Signature ..... |
| Academic Year: | 2020 | Advisor's Signature ..... |

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้สละเวลาอันมีค่าให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางการแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ที่เกิดขึ้น ตลอดจนดูแลเอาใจใส่ ตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ตั้งแต่เริ่มงานวิจัยจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์อันประกอบด้วย รองศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ รองศาสตราจารย์ ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล อาจารย์ ดร. ศิริมา พ่วงประพันธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. วรางคณา สมพงษ์ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำพร้อมข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือวัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม รวมทั้ง รองศาสตราจารย์ ดร. วาณี ชนเห็นชอบ และคุณธัญญารัตน์ คำดี สำหรับการอำนวยความสะดวกและคำแนะนำในการใช้เครื่องมือดังกล่าว

ขอขอบคุณ คุณธีรภัทร ตั้งสมบูรณ์ คุณอินท์วาริน กิตติอัครศรีกุล และคุณภารวี กุศลินกุล สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มและการวิเคราะห์โปรตีนรวมถึงคำแนะนำในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณคุณครูและอาจารย์ทุกท่าน และขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนนิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำมาโดยตลอด รวมถึงเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านสำหรับการอำนวยความสะดวกและความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้องที่คอยสนับสนุนและเป็นกำลังใจมาโดยตลอดจนประสบความสำเร็จในการศึกษา

เมธาพร วงศ์อุ่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# สารบัญ

หน้า


บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ ..... 1

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ ..... 3

2.1 ฟิล์มย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (bio-degradable film) ..... 3

2.2 ฟิล์มจากพอลิเมอร์ชีวภาพธรรมชาติ (naturally occurring biopolymer) ..... 4

2.2.1 ฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์ ..... 4

2.2.2 ฟิล์มจากโปรตีน ..... 4

2.2.3 ฟิล์มจากลิพิด ..... 5

2.3 ถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเหลือง ..... 5

2.4 การเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง ..... 9

2.5 การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง ..... 11

2.5.1 วิธีทางเคมี ..... 11

2.5.2 วิธีทางกายภาพ ..... 13

2.5.2.1 การบ่มด้วยความร้อน ..... 13

2.5.2.2 การฉายรังสี ..... 14

2.5.3 การใช้เอนไซม์ ..... 20



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.5.4 วิธีอื่นๆ ..... 21
2.5.4.1 การผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิต ..... 22
2.5.4.2 การเสริมแรงด้วยวัสดุนาโน ..... 23
2.6 เซลลูโลสและนาโนเซลลูโลส ..... 23
2.6.1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ..... 23
2.6.2 นาโนเซลลูโลส ..... 24
2.6.2.1 ประเภทของนาโนเซลลูโลส ..... 25
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย ..... 30
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี ..... 30
3.1.1 วัตถุดิบ ..... 30
3.1.2 สารเคมี ..... 30
3.2 อุปกรณ์ ..... 31
3.3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย ..... 33
3.3.1 ผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง ..... 33
3.3.1.1 การเตรียมเซลลูโลสนาโนคริสตัลและการดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลด้วยสารลดแรงตึงผิว ..... 33
3.3.1.2 การศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง ..... 34
3.3.2 ผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยยูวีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เสริมด้วยนาโนเซลลูโลสดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว ..... 40
3.3.2.1 การติดตามการเชื่อมข้ามไดไทโรซีนด้วยฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี ..... 42
3.3.2.2 การติดตามการเชื่อมข้ามไอโซไดไทโรซีนโดยใช้ FTIR ..... 42
3.3.2.3 การศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE ..... 42
3.3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ ..... 46

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง ..... 47
4.1 สมบัติของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว ..... 47
4.2 ผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง ..... 49
4.2.1 ความหนา ..... 50
4.2.2 สมบัติเชิงกล ..... 51
4.2.3 ความโปร่งใส ..... 54
4.2.4 ค่าสี ..... 56
4.2.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ..... 57
4.2.6 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม ..... 59
4.2.7 ความสามารถในการละลายน้ำ ..... 62
4.2.8 โครงสร้างระดับจุลภาค ..... 64
4.3 ผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยยูวีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เสริมด้วยนาโนเซลลูโลสดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว ..... 66
4.3.1 ความหนา ..... 66
4.3.2 สมบัติเชิงกล ..... 67
4.3.3 ความโปร่งใส ..... 70
4.3.4 ค่าสี ..... 71
4.3.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ..... 73
4.3.6 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม ..... 74
4.3.7 ความสามารถในการละลายน้ำ ..... 77
4.3.8 โครงสร้างระดับจุลภาค ..... 78
4.3.9 การเชื่อมข้ามไดไทโรซีน ..... 80
4.3.10 การเชื่อมข้ามไอโซไดไทโรซีน ..... 81

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.3.11 รูปแบบของแถบโปรตีน ..... 82

4.4 สรุปเปรียบเทียบสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และบ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร กับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่ผ่านการดัดแปร ..... 84

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง ..... 86

บรรณานุกรม ..... 89

ภาคผนวก ก ข้อมูลเฉพาะของผลิตภัณฑ์ ..... 104

ภาคผนวก ข กราฟเทียบมาตรฐาน ..... 107

ภาคผนวก ค รูปตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ..... 108

ภาคผนวก ง ข้อมูลผลการทดลอง ..... 110

ประวัติผู้เขียน ..... 122

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

# สารบัญตาราง

ตารางที่ 2. 1 กรดอะมิโนจำเป็นที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง .....9

ตารางที่ 2. 2 สมบัติของเส้นใยเซลลูโลสจากพืช .....26

ตารางที่ 3. 1 ปริมาณรังสีดูดกลืนและระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสียูวี .....42

ตารางที่ 3. 2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจลสำหรับการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE* .....45

ตารางที่ 4.1 ขนาดอนุภาคและศักย์ซีต้าของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว .....48

ตารางที่ 4. 2 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม .....50

ตารางที่ 4. 3 ค่าสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม .....57

ตารางที่ 4. 4 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียม สเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร .....67

ตารางที่ 4. 5 ค่าสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร .....72

ตารางที่ 4. 6 สมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และบ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร กับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่ผ่านการดัดแปร .....85

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ก. 1 โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (บริษัท กรุงเทพเคมี จำกัด, กรุงเทพฯ) ..... 104

ตารางที่ ก. 2 กลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) (Danisco, Copenhagen, Denmark)..... 106

ตารางที่ ก. 3 โซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) (บริษัท โอลิโอฟายน์ ออกานิก (ประเทศไทย) จำกัด, นนทบุรี)..... 107

ตารางที่ ง. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) ..... 110

ตารางที่ ง. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) ..... 111

ตารางที่ ง. 3 ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)..... 112

ตารางที่ ง. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)..... 113

ตารางที่ ง. 5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)..... 114

ตารางที่ ง. 6 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) ..... 115

ตารางที่ ง. 7 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ ..... 116

ตารางที่ ง. 8 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ ..... 117

ตารางที่ ง. 9 ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ..... 118

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ง. 10 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ ..... 119

ตารางที่ ง. 11 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ ..... 120

ตารางที่ ง. 12 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ ..... 121



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2. 1 แบบจำลองโครงสร้างจตุรภูมิของไกลซินินซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อยชนิดกรด (A) และหน่วยย่อยชนิดเบส (B) ..... 8

รูปที่ 2.2 แบบจำลองการเกิดเป็นฟิล์มโปรตีน เมื่ออยู่ในสารละลายฟิล์ม โมเลกุลของโปรตีนจะแขวนลอยอยู่ในสารละลาย [1] และเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายฟิล์ม โปรตีนจะเกิดการเสียภาพธรรมชาติบางส่วนและเกิดการคลายตัวออก [2] เมื่อนำสารละลายฟิล์มมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนที่อยู่ที่หน้าสัมผัส (interface) ของสารละลายฟิล์มและพื้นผิวที่ใช้ขึ้นรูป [3] ในขั้นตอนสุดท้ายเมื่อนำฟิล์มที่ขึ้นรูปไปทำให้แห้ง เมื่อน้ำระเหยออกไป จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนอีกครั้งโดยจะเกิดอันตรกิริยาและพันธะทางเคมีชนิดต่างๆ ส่งผลให้ฟิล์มมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น [4] ..... 11

รูปที่ 2. 3 การเชื่อมข้ามโปรตีนโดยฟอร์มาลดีไฮด์ ..... 12

รูปที่ 2. 4 กลไกการเกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนในกระบวนการบ่มด้วยความร้อนโดยพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างหมู่ข้างของกรดอะมิโนซิสเทอีนสองตัว ..... 14

รูปที่ 2. 5 กลไกการเกิดพันธะเชื่อมข้ามไดไทโรซีนในโปรตีนเมื่อฉายรังสีแกมมา ..... 16

รูปที่ 2. 6 กลไกระดับโมเลกุลของการเชื่อมข้ามไดไทโรซีน ($C_{ortho}$-$C_{ortho}$) โดยที่ (A) แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการสร้างไดไทโรซีน และ (B) แสดงการเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนด้วยไดไทโรซีน ..... 19

รูปที่ 2. 7 ปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามโปรตีนด้วยแทรนส์กลูทามิเนส (TGase) ..... 21

รูปที่ 2. 8 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ..... 24

รูปที่ 2. 9 การผลิตเซลลูโลสนาโนคริสตัล (CNC) และเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ (CNF) จากเซลลูโลสด้วยวิธีทางเคมีและทางกลตามลำดับ ..... 28

รูปที่ 3. 1 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว ..... 36

รูปที่ 3. 2 ภาพจำลองของตู้บ่มยูวี ..... 41

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05).....52

รูปที่ 4. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05).....53

รูปที่ 4. 3 ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05).....55

รูปที 4. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05).....58

รูปที่ 4. 5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05).....60

รูปที่ 4. 6ภาพถ่ายมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS-modified CNC) และที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL-modified CNC) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร.....61

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4. 7 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$).....63

รูปที่ 4. 8 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS-modified CNC) และที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL-modified CNC) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ถ่ายที่กำลังขยาย 5000 เท่า.....65

รูปที่ 4. 9 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$).....68

รูปที่ 4. 10 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$).....69

รูปที่ 4. 11 ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$).....71

รูปที่ 4. 12 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05).....74

รูปที่ 4. 13 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05).....75

รูปที่ 4. 14 ภาพถ่ายมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี...76

รูปที่ 4. 15 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05).....77

รูปที่ 4. 16 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ถ่ายที่กำลังขยาย 5000 เท่า.....79

รูปที่ 4. 17 Fluorescence emission spectrum ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี...80

Chulalongkorn University

รูปที่ 4. 18 FTIR spectrum ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี.....82

รูปที่ 4. 19 รูปแบบแถบโปรตีนที่ศึกษาด้วย SDS-PAGE ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% (ช่องที่ 1) ตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่บ่มด้วยรังสียูวี (ช่องที่ 2) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.06 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 3) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.19 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 4) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.32 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 5) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.45 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 6) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.65 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 7) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร (M) protein molecular weight marker.....83

รูปที่ ข. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry..... 108

รูปที่ ค. 1 ภาพถ่ายตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว GMS และ SSL โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ..... 108

รูปที่ ค. 2 ภาพถ่ายตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืน 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร..... 109

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 1
# บทนำ

ขยะบรรจุภัณฑ์นับเป็นสัดส่วนที่สำคัญของขยะของแข็งจากครัวเรือน (municipal solid waste) โดย United States Environmental Protection Agency (EPA) (2014) รายงานว่าสำหรับสหรัฐอเมริกา ขยะอาหารและบรรจุภัณฑ์มีปริมาณรวมกันสูงถึง 45% ของขยะที่ถูกฝังกลบ นอกจากนี้เมื่อประเทศพัฒนามากขึ้น ปริมาณขยะบรรจุภัณฑ์จะยิ่งเพิ่มสูงขึ้น ซึ่ง Rousta, & Bolton (2019) รายงานว่าปริมาณของขยะบรรจุภัณฑ์ซึ่งรวมถึงพลาสติกมีความสัมพันธ์กับรายได้ของประชากร โดยพบว่าประเทศที่ประชากรมีรายได้สูงจะมีพลาสติกในขยะของแข็งจากครัวเรือนมากเป็นสองเท่าของประเทศที่ประชากรมีรายได้ต่ำ หนึ่งในมาตรการที่ EPA แนะนำในการลดปริมาณขยะดังกล่าวคือการลดปริมาณขยะต้นทาง (source reduction) กล่าวคือ ป้องกันก่อนที่ขยะจะถูกผลิตขึ้น เพื่อเป็นการตอบสนองต่อนโยบายนี้ ปัจจุบันหลายภาคส่วนได้ให้ความสนใจในการพัฒนาวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพจากทรัพยากรที่ทดแทนใหม่ได้ (renewable resource) เช่น โปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์จากสัตว์และพืช เพื่อใช้ทดแทนบรรจุภัณฑ์จากพอลิเมอร์ฐานปิโตรเลียม

โปรตีนเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นฟิล์มย่อยสลายได้และฟิล์มบริโภคได้ ข้อดีของโปรตีนคือ ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีหมู่ข้างหลากหลาย จึงเอื้อต่อการดัดแปรด้วยเทคนิคต่างๆ เพื่อให้ได้ฟิล์มที่มีสมบัติตามที่ต้องการ โปรตีนถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่น่าสนใจชนิดหนึ่งเนื่องจากมีปริมาณมาก ราคาถูก ได้มาจากทรัพยากรที่ทดแทนใหม่ได้ และที่สำคัญคือมีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์ม (Cao et al., 2007; Tai et al., 2014) ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติที่ชอบน้ำ จึงสามารถป้องกันการซึมผ่านของโมเลกุลที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ เช่น ออกซิเจน ไขมัน และไอสารอินทรีย์ได้ดี แต่มีข้อจำกัดในด้านความแข็งแรงเชิงกลและการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ ทำให้ยังมีการนำมาใช้งานที่ค่อนข้างจำกัด การปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี การเสริมความแข็งแรงของฟิล์มโปรตีนด้วยอนุภาคระดับนาโนเมตร (nano-particle reinforcement) และการบ่มด้วยรังสียูวี (UV curing) เป็นอีกสองวิธีที่สามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนได้ (BenBettaïeb et al., 2016; Chiralt et al., 2018)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ที่ผ่านมาได้มีรายงานเกี่ยวกับการเสริมความแข็งแรงของฟิล์มโปรตีนด้วยอนุภาคระดับนาโนเมตร เช่น เซลลูโลสนาโนคริสตัล อย่างไรก็ตามอนุภาคระดับนาโนเมตรมีแนวโน้มที่จะรวมตัวกัน (aggregation) การดัดแปรผิวของอนุภาคระดับนาโนเมตรด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็นวิธีหนึ่งที่มีการนำมาใช้เพื่อป้องกันการรวมตัวกัน ดังนั้นจึงมีศักยภาพในการนำมาดัดแปรผิวของเซลลูโลสนาโนคริสตัล

การบ่มด้วยรังสียูวีเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่สามารถใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน โดยกรดอะมิโนชนิดแอโรมาติกมีหมู่ข้าง (side group) ซึ่งสามารถดูดกลืนรังสียูวีได้และทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนเกิดเป็นโครงร่างตาข่ายที่มีความแข็งแรง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวและการบ่มด้วยรังสียูวีต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 2
# วารสารปริทัศน์

## 2.1 ฟิล์มย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (bio-degradable film)

ปัจจุบันขยะพลาสติกเป็นปัญหาคุกคามสิ่งแวดล้อมในหลายประเทศทั่วโลก เนื่องจากบรรจุภัณฑ์พลาสติกที่ใช้กันอยู่ทั่วไปย่อยสลายได้ยากและต้องใช้พื้นที่มากในการฝังกลบเพื่อกำจัด นอกจากนี้ประชาคมโลกยังมีความกังวลเกี่ยวกับปัญหาของไมโครพลาสติกที่ส่วนหนึ่งมาจากการสลายตัว (breakdown) ของพลาสติกขนาดใหญ่ ซึ่งอาจเข้าไปฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อของสัตว์ รวมทั้งอาจปนเปื้อนในอาหารและน้ำดื่มของมนุษย์ได้ การพัฒนาวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพจากทรัพยากรที่ทดแทนใหม่ได้ เช่น โปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์จากสัตว์และพืช จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเพื่อใช้ทดแทนบรรจุภัณฑ์จากพอลิเมอร์ฐานปิโตรเลียม

ฟิล์มย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (bio-degradable film) คือ ฟิล์มที่สามารถย่อยสลายได้โดยกระบวนการทางชีววิทยาจากการทำงานของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย และรา หลังจากการใช้งานตามวัตถุประสงค์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีภายใต้ภาวะที่เหมาะสมในช่วงเวลาที่กำหนดอย่างสมบูรณ์ การย่อยสลายของพอลิเมอร์ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นออกซิเจน ไนโตรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ สารชีวมวล (biomass) และเกลืออนินทรีย์ ซึ่งไม่ก่อให้เกิดการสะสมหรือเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม พอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพอาจมาจากธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาและกระบวนการผลิต (Vieira, 2011)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

พอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพประเภทแรก ได้แก่ พอลิเมอร์ชีวภาพธรรมชาติ ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ (เช่น สตาร์ช เซลลูโลส เพกติน และไคโตซาน) โปรตีนจากสัตว์และพืช (เช่น เคซีน เวย์โปรตีน คอลลาเจน เจลาติน เซอีน โปรตีนถั่วเหลือง และกลูเตน) และลิพิด (เช่น ไขผึ้งและไขคาร์นูบา)

พอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพประเภทที่สอง ได้แก่ พอลิเมอร์ที่สร้างโดยจุลินทรีย์ เช่น พูลลูแลน คีเฟอแรน และพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (polyhydroxyalkanoate, PHA)

พอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพประเภทที่สาม ได้แก่ พอลิเมอร์ที่สังเคราะห์จากโมโนเมอร์ชีวภาพ ที่รู้จักกันดีได้แก่ พอลิแลกติกแอซิด (polylactic acid, PLA)

พอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพประเภทสุดท้าย ได้แก่ พอลิเมอร์ที่สังเคราะห์จากโมโนเมอร์และพอลิเมอร์ทางเคมีและจากแหล่งฟอสซิล เช่น พอลิคาโพรแลกโตน (polycaprolactone, PCL) และพอลิเอสเทอร์เอไมด์ (poly(ester amide, PEA)

**2.2 ฟิล์มจากพอลิเมอร์ชีวภาพธรรมชาติ (naturally occurring biopolymer)**

พอลิเมอร์ชีวภาพธรรมชาติ(naturally occurring biopolymer) ที่มีการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฟิล์มย่อยสลายได้ ได้แก่ พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน และลิพิด

**2.2.1 ฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์**

พอลิแซ็กคาไรด์ประกอบด้วยหน่วยย่อยโมโนแซ็กคาไรด์จำนวนมาก ตัวอย่างของพอลิแซ็กคาไรด์จากพืชและสัตว์ที่มีการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฟิล์ม ได้แก่ สตาร์ช แอลจิเนต เซลลูโลสเอสเทอร์ ไคโตซาน คาราจีแนน และเพกติน นอกจากนี้ยังมีการใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ เช่น พูลลูแลน และคีเฟอแรน ที่ผ่านมามีรายงานวิจัยเกี่ยวกับฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์จำนวนมาก ทั้งนี้เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์เป็นวัตถุดิบที่มีความหลากหลาย หาได้ง่าย ราคาถูก สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ รวมทั้งมีสมบัติทางกายภาพ สมบัติเชิงกล และสมบัติทางเคมี ที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ (Cazon et al., 2017)

**2.2.2 ฟิล์มจากโปรตีน**

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์สายยาวของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ จึงมีโครงสร้างที่ซับซ้อน โปรตีนที่นำมาใช้ในการผลิตฟิล์มสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ไฟบรัสโปรตีน และโกลบูลาร์โปรตีน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ไฟบรัสโปรตีนเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างเป็นเส้นยาวหลายเส้นเรียงตัวกันแบบขนาน มีความแข็งแรงสูง ได้แก่ เจลาติน โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ และโปรตีนไฟโบรอินจากรังไหม ส่วนโกลบูลาร์โปรตีนเป็นโปรตีนที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นก้อน อาจเป็นทรงกลม ทรงรี หรือรูปไข่ ประกอบด้วยโซ่พอลิเพปไทด์ขดม้วนไปมาแต่ไม่อัดแน่น ทำให้มีช่องว่างภายในโมเลกุล ตัวอย่างของโกลบูลาร์โปรตีน ได้แก่ กลูเตนจากข้าวสาลี เซอีนจากข้าวโพด โปรตีนถั่วเหลือง เวย์โปรตีน โปรตีนไข่ขาว และโปรตีนจากถั่ว

ฟิล์มโปรตีนและฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือ มีสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของสารที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ เช่น แก๊สออกซิเจน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

ไขมัน น้ำมัน และไอสารอินทรีย์ ได้เป็นอย่างดีโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ แต่มีข้อจำกัดในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำเนื่องจากธรรมชาติของโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยหมู่เคมีที่มีสมบัติชอบน้ำ นอกจากนี้ฟิล์มโปรตีนและฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ยังมีความแข็งแรงเชิงกลต่ำกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ผลิตจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ (Wihodo, & Moraru, 2013) การใช้โปรตีนเป็นวัตถุดิบในการผลิตฟิล์มมีข้อดีคือ โปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ซึ่งมีหมู่ข้างที่มีสมบัติหลากหลาย ทำให้เอื้อต่อการดัดแปรด้วยเทคนิคต่างๆ

**2.2.3 ฟิล์มจากลิพิด**

ฟิล์มและสารเคลือบ (coating) จากลิพิดมีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้เป็นอย่างดีเนื่องจากธรรมชาติของลิพิดที่มีความเป็นขั้วต่ำ โดยทั่วไปมักไม่นิยมใช้ลิพิดเพียงอย่างเดียวในการผลิตเป็นฟิล์ม เนื่องจากฟิล์มที่ได้จะมีความเปราะและความหนาสูง แต่จะมีการใช้ในลักษณะของสารเคลือบบนผิวของผลิตภัณฑ์หรือใช้ร่วมกับโปรตีนหรือพอลิแซ็กคาไรด์ในการผลิตฟิล์มคอมพอสิต โดยอาจผลิตเป็นฟิล์มสองชั้นหรือหลายชั้น (bilayer or multilayer film) หรือฟิล์มอิมัลชัน (emulsion film) โดยลิพิดจะช่วยลดสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) ของฟิล์มคอมพอสิตที่ได้ ลิพิดที่นิยมนำมาใช้ในการผลิตฟิล์มและสารเคลือบ ได้แก่ น้ำมันและไขมันจากพืชและสัตว์ ไข (wax) แล็ก (lac) และน้ำมันหอมระเหย

**2.3 ถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเหลือง**

ถั่วเหลืองเป็นโปรตีนจากพืชที่สำคัญและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีประโยชน์และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง รวมทั้งมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่หลากหลาย ได้แก่ ความสามารถในการเกิดเป็นเจล การเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ความสามารถในการอุ้มน้ำและน้ำมัน และการเกิดเป็นฟิล์ม (Nishinari et al., 2014)

ถั่วเหลืองทั้งเมล็ดประกอบด้วยโปรตีน 40% ลิพิด 20% คาร์โบไฮเดรต 35% และเถ้า 5% โดยน้ำหนักแห้ง (Preecea et al., 2017) โดยมีคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ ซูโครส ราฟฟิโนส และ สตาคีโอส ส่วนคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำไม่ได้ ได้แก่ เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เมื่อนำเมล็ดถั่วเหลืองมากำจัดเปลือกออกและสกัดน้ำมันออกแล้ว สามารถนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณโปรตีนแตกต่างกัน ได้แก่ แป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน (defatted soy flour) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนประมาณ 56% และคาร์โบไฮเดรตประมาณ 34% โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น (soy protein concentrate) ที่ผลิตโดยชะเอาคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำออกจากแป้งถั่วเหลือง ซึ่งจะได้เป็น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนประมาณ 65-75% และคาร์โบไฮเดรตประมาณ 18% ส่วนโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate) คือ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการสกัดเอาโปรตีนและทำให้บริสุทธิ์ซึ่งทำให้มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (มากกว่า 90% โดยน้ำหนักแห้ง) (Chhavi, 2017)

โปรตีนถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็นโปรตีนโกลบูลิน สามารถจำแนกตามอัตราการตกตะกอน (sedimentation rate) ได้ออกเป็น 4 ส่วน (fraction) ได้แก่ 2S, 7S, 11S และ 15S โดยโปรตีนส่วนที่มีปริมาณสูง ได้แก่ 7S และ 11S ซึ่งมีปริมาณ 37% และ 31% ของโปรตีนถั่วเหลืองทั้งหมดตามลำดับ (Cho, & Rhee, 2004; Wittaya, 2012)

โปรตีนส่วน 2S ประกอบด้วยโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลต่ำในช่วง 8000-20000 ดาลตัน ได้แก่ สารยับยั้งทริปซินโบวแมน-เบิร์ค (Bowman–Birk trypsin inhibitor) สารยับยั้งทริปซินคูนิทส์ (Kunitz trypsin inhibitor) ไซโตโครม-ซี และแอลฟา-คอนไกลซินิน (González-Pérez, & Arellano, 2009) สารยับยั้งทริปซินมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง เนื่องจากสารยับยั้งทริปซินเป็นโปรตีนที่สามารถลดแอกทิวิตีของทริปซินซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสลาย (breakdown) ของโปรตีน โดยสารยับยั้งทริปซินจะแข่งขันกับโปรตีนในการจับกับทริปซิน ทำให้ ทริปซินไม่สามารถจับกับโปรตีนในขั้นตอนการย่อยได้ (Kinsella, 1979) การนำถั่วเหลืองมาใช้ให้ได้คุณค่าทางโภชนาการจึงต้องทำลายสารยับยั้งทริปซินก่อนโดยการให้ความร้อน

โปรตีนส่วน 7S ประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด ได้แก่ ฮีแมกกลูตินิน (hemagglutinin) ไลพอกซีจีเนส เบตา-แอมิเลส และ 7S โกลบูลิน ซึ่งเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าเบตา-คอนไกลซินิน เบตา-คอนไกลซินินเป็นไกลโคโปรตีนซึ่งมีปริมาณประมาณ 50% ของโปรตีนส่วน 7S มีมวลโมเลกุลในช่วง 150-200 กิโล ดาลตัน ประกอบด้วยหน่วยย่อยหลัก 3 ชนิด ได้แก่ $\alpha'$, $\alpha$ และ $\beta$ ซึ่งมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 72, 68 และ 52 กิโลดาลตัน ตามลำดับ (Thanh, & Shibasaki, 1977)

โปรตีนส่วน 11S ประกอบด้วยโปรตีนเพียงชนิดเดียว ได้แก่ 11S โกลบูลินหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าไกลซินิน มีมวลโมเลกุลอยู่ในช่วง 300-380 กิโลดาลตัล ไกลซินินมีโครงสร้างเป็นเฮกซะเมอร์ประกอบด้วยพอลิเพปไทด์ชนิดกรดหรือหน่วยย่อยเอ (acidic subunit, A) ซึ่งมีมวลโมเลกุล 35 กิโลดาลตัน และพอลิเพปไทด์ชนิดเบสหรือหน่วยย่อยบี (basic subunit, B) ซึ่งมีมวลโมเลกุล 20 กิโลดาลตัน จำนวน 6 คู่ เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟล์ ในรูปแบบ AB เชื่อมโยงกันเป็นวงแหวนที่มีหน่วยย่อยวงละ 6 หน่วยจำนวน 2 วง เกิดเป็นรูปทรงกระบอกกลวงที่ยึดกันด้วยแรงทางไฟฟ้าและ

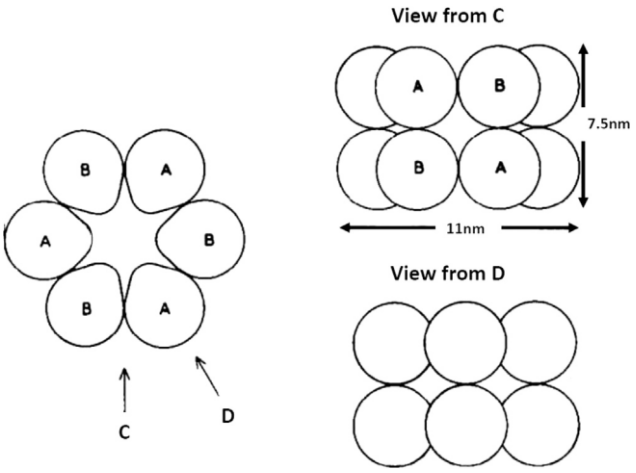
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

พันธะไฮโดรเจน (รูปที่ 2.1) พันธะไดซัลไฟด์นี้สามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนหรือสารที่รีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ (disulfide reductant) เช่น เบตา-เมอร์แคปโทเอทานอล (β-mercaptoethanol) (Badley et al., 1975; Peng et al. 1984; Nishinari et al., 2014) โปรตีนส่วนนี้ประกอบด้วยกลูทามีน แอสพาราจีน ฮิสทิดีน ทริปโตแฟน เมไธโอนีน และซิสเทอีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำอยู่ด้านในของโครงสร้างจำนวนมาก

โปรตีนส่วนสุดท้าย ได้แก่ โปรตีนส่วน 15S เป็นไดเมอร์ของไกลซินิน มีมวลโมเลกุล 600 กิโลดาลตัน (Berk, 1992)

ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนขึ้นอยู่กับพีเอช โดยทั่วไปแล้วโปรตีนที่พบตามธรรมชาติจะอยู่ในภาวะที่มีพีเอชสูงกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก ซึ่งทำให้โปรตีนมีประจุรวมเป็นลบ ประจุที่เหมือนกันจะทำให้เกิดการผลักกัน มีผลให้โปรตีนสามารถแขวนลอยหรือละลายในน้ำได้ อย่างไรก็ตามหากพีเอชสูงกว่า 9 โปรตีนอาจเกิดการเสียสภาพธรรมชาติได้ จุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนถั่วเหลืองอยู่ในช่วงพีเอชประมาณ 4.2-4.6 (Wijeratne, 1993) หากพีเอชของสารละลายโปรตีนมีค่าเท่ากับจุดไอโซ อิเล็กทริก จะทำให้ประจุรวมของโปรตีนเป็นศูนย์ โปรตีนจึงสามารถรวมตัวกัน (aggregation) เสียสภาพธรรมชาติ และตกตะกอน (precipitation) ได้ ที่จุดนี้โปรตีนจะมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำที่สุด และหากพีเอชของสารละลายโปรตีนต่ำกว่าจุดไอโซอิเล็กทริก โปรตีนจะมีประจุรวมเป็นบวก ซึ่งประจุที่เหมือนกันจะทำให้เกิดการผลักกัน หากแรงผลักรุนแรงอาจทำให้โครงสร้างของโปรตีนเปลี่ยนแปลง สายพอลิเพปไทด์อาจเกิดการคลายตัวและสูญเสียโครงสร้างตามธรรมชาติได้ ซึ่งจะมีผลคล้ายกับการเสียสภาพธรรมชาติด้วยความร้อน (Wijeratne, 1993)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University




รูปที่ 2.1 แบบจำลองโครงสร้างจตุรภูมิของไกลซินินซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อยชนิดกรด (A) และหน่วยย่อยชนิดเบส (B)
ที่มา : Badley et al. (1975)

โปรตีนถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นครบทุกตัว องค์ประกอบของกรดอะมิโนของโปรตีนจากถั่วเหลืองนั้นนับว่าสมบูรณ์ที่สุดในบรรดาโปรตีนจากพืชทั้งหมดและใกล้เคียงกับโปรตีนจากสัตว์คุณภาพสูงที่สุด กรดอะมิโนจำเป็นที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองแสดงดังตารางที่ 2.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 2.1 กรดอะมิโนจำเป็นที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง

| กรดอะมิโนจำเป็น | ปริมาณ (กรัม/16 กรัม ไนโตรเจน) |
|---|---|
| ไอโซลิวซีน | 4.54 |
| ลิวซีน | 7.78 |
| ไลซีน | 6.38 |
| เมไทโอนีน | 1.26 |
| ซิสเทอีน | 1.33 |
| ฟีนิลอะลานีน | 4.94 |
| ไทโรซีน | 3.14 |
| ทรีโอนีน | 3.86 |
| ทริปโตแฟน | 1.28 |
| วาลีน | 4.80 |

ที่มา : **Berk (1992)**

**2.4 การเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง**

ฟิล์มโปรตีนเกิดขึ้นเมื่อโมเลกุลโปรตีนเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันทั้งภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุล อันตรกิริยาและพันธะเคมีที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีน ได้แก่ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไดโพล-ไดโพล อันตรกิริยาไอออนิก อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะโควาเลนต์ การเกิดอันตรกิริยาระหว่างหมู่ข้างของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนส่งผลให้การเคลื่อนที่ของโมเลกุลถูกจำกัดลง (reduced molecular mobility) จึงช่วยเพิ่มความแข็งแรงและความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีน (Zhang et al., 2001)

โปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติในการเกิดเป็นฟิล์ม จึงมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มบริโภคได้และฟิล์มย่อยสลายได้ทางชีวภาพ การขึ้นรูปฟิล์มจากสารละลายฟิล์ม (film-forming solution) จะเกี่ยวข้องกับแรง 2 ชนิด ได้แก่ แรงโคฮีชัน (cohesion) ซึ่งเป็นแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ด้วยกันเอง และแรงแอดฮีชัน (adhesion) ซึ่งเป็นแรงดึงดูดระหว่างพอลิเมอร์และสารอื่น

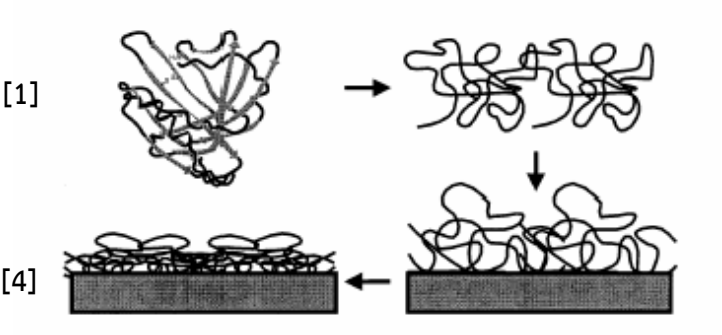
เมื่อโปรตีนอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เป็นน้ำ หน่วยย่อยกรดอะมิโนที่มีหมู่ข้างที่ไม่มีขั้ว (non-polar amino acid) ซึ่งมีสมบัติไม่ชอบน้ำจะจัดเรียงตัวอยู่ที่ตำแหน่งด้านในของโครงสร้างโปรตีน ในขณะที่หน่วยย่อยกรดอะมิโนที่มีหมู่ข้างที่มีขั้วและหน่วยย่อยกรดอะมิโนที่มีหมู่ข้างที่มีประจุ (polar and electrically charged amino acid) ซึ่งมีสมบัติชอบน้ำจะจัดเรียงตัวอยู่ที่ตำแหน่งด้านนอก

ของโครงสร้างโปรตีนซึ่งสัมผัสกับน้ำ ในการผลิตฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองจึงต้องมีการให้ความร้อนแก่สารละลายฟิล์มเพื่อทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน (partial denaturation) โครงสร้างโปรตีนเกิดการคลายตัวออก (unfolding) เป็นผลให้หมู่ซัลฟ์ไฮดริลและหมู่ที่ไม่ชอบน้ำซึ่งเดิมมีตำแหน่งอยู่ที่ด้านในของโครงสร้างสามมิติปรากฏขึ้นที่ด้านนอกและเกิดอันตรกิริยาหรือพันธะทางเคมีได้ เช่น เกิดเป็นพันธะ ไดซัลไฟด์และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างสายพอลิเพปไทด์เดียวกันหรือพอลิเพปไทด์สายอื่น เมื่อระเหยน้ำออกด้วยขั้นตอนการทำแห้งฟิล์มจะเกิดโครงร่างตาข่ายของโปรตีนที่เสถียรมากขึ้น (Wittaya, 2012) รูปที่ 2.2 แสดงแบบจำลองการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายฟิล์มและการทำแห้งฟิล์ม

โดยทั่วไปฟิล์มจากวัสดุพอลิเมอร์ชีวภาพมักมีความเปราะจึงต้องมีการเติมพลาสติไซเซอร์เพื่อช่วยลดแรงระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์และเพิ่มปริมาตรอิสระ (free volume) ซึ่งจะช่วยเพิ่มความสามารถในการเคลื่อนที่ของสายพอลิเมอร์ พลาสติไซเซอร์มีบทบาทในการลดอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature) ของฟิล์ม จึงช่วยให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่น (elasticity) และความอ่อนตัว (flexibility) มากขึ้น (รังสินี, 2559) พลาสติไซเซอร์ที่นิยมใช้ในการผลิตฟิล์มโปรตีน ได้แก่ กลีเซอรอล ซอร์บิทอล และพอลิเอทิลีนไกลคอล (Hernández-Izquierdo, & Krochta, 2008)

เช่นเดียวกับฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไป ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีข้อจำกัดในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ ทั้งนี้เนื่องมาจากธรรมชาติของโปรตีนที่ประกอบด้วยหมู่เคมีที่มีสมบัติชอบน้ำอยู่ในปริมาณมาก ประกอบกับในกระบวนการผลิตฟิล์มมักมีการเติมพลาสติไซเซอร์ที่มีสมบัติชอบน้ำ นอกจากนี้ข้อจำกัดอีกประการหนึ่งของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองได้แก่ ความแข็งแรงเชิงกล ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองจัดว่ามีความแข็งแรงปานกลางแต่ยังคงด้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ผลิตจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ (Andreuccetti et al., 2011)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University




รูปที่ 2.2 แบบจำลองการเกิดเป็นฟิล์มโปรตีน เมื่ออยู่ในสารละลายฟิล์ม โมเลกุลของโปรตีนจะแขวนลอยอยู่ในสารละลาย **[1]** และเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายฟิล์ม โปรตีนจะเกิดการเสียภาพธรรมชาติบางส่วนและเกิดการคลายตัวออก **[2]** เมื่อนำสารละลายฟิล์มมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนที่อยู่ที่หน้าสัมผัส (interface) ของสารละลายฟิล์มและพื้นผิวที่ใช้ขึ้นรูป **[3]** ในขั้นตอนสุดท้ายเมื่อนำฟิล์มที่ขึ้นรูปไปทำให้แห้ง เมื่อน้ำระเหยออกไป จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนอีกครั้งโดยจะเกิดอันตรกิริยาและพันธะทางเคมีชนิดต่าง ๆ ส่งผลให้ฟิล์มมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น **[4]**
ที่มา : De Graaf (2000)

## 2.5 การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

ข้อจำกัดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่ได้กล่าวไปแล้วในหัวข้อ 2.4 เป็นสาเหตุให้การนำฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมาใช้งานยังไม่แพร่หลายนัก สำหรับข้อจำกัดในด้านความแข็งแรงเชิงกล ได้มีการนำเทคนิคต่างๆ มาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ วิธีทางเคมี วิธีทางกายภาพ การใช้เอนไซม์ และวิธีอื่นๆ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

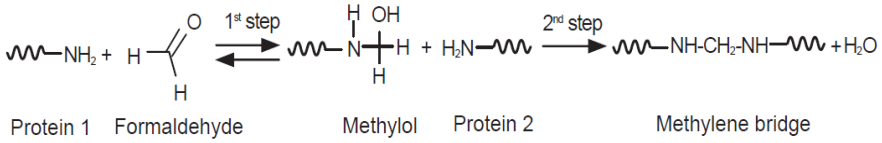
### 2.5.1 วิธีทางเคมี

ที่ผ่านมาได้มีการใช้สารเชื่อมข้าม (cross-linking agent) กันอย่างแพร่หลายเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน ในทางทฤษฎีเมื่อโปรตีนเกิดพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามมากขึ้น จะเกิดเป็นโครงร่างแหของโปรตีนที่แข็งแรงและฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรงเชิงกลมากขึ้น

สารเชื่อมข้ามที่นิยมนำมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ แอลดีไฮด์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เช่น ฟอร์มาลดีไฮด์ กลูทารัลดีไฮด์ ซินนามาลดีไฮด์ และไกลออกซัล สารเชื่อมข้ามจะทำปฏิกิริยากับหมู่เคมีของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนและเกิดเป็นพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามสายโปรตีน แอลดีไฮด์โดยเฉพาะอย่างยิ่งฟอร์มาลดีไฮด์และกลูทารัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมข้ามที่ใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีราคาไม่แพงมากนัก และเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับหมู่

เอ็พซิลอน-อะมิโนอิสระที่อยู่ในรูปที่ไม่จับกับโปรตอน (free non-protonated ε-amino group) ในโปรตีน Singh et al. (2006) และ Yue et al. (2012) รายงานว่าปฏิกิริยาเชื่อมข้ามระหว่างหมู่อะมิโนของโปรตีนกับแอลดีไฮด์สามารถยืนยันได้โดยเทคนิคฟูเรียร์แทรนสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier-transform infrared spectroscopy, FTIR) ซึ่งจะพบพีคที่เกี่ยวข้องกับการสั่นแบบยืดหดของหมู่อิมีน (imine) ที่มีพันธะ C=N

ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมข้ามที่มีความจำเพาะกับปฏิกิริยาและมีมวลโมเลกุลต่ำ จึงสามารถเข้าไปเกิดปฏิกิริยากับโปรตีนได้ง่าย โดยเกิดกับหมู่อะมิโนของซิสเทอีน ฮิสทิดีน และไลซีน (BenBettaïeb et al., 2016) ถึงแม้ว่าฟอร์มาลดีไฮด์จะมีหมู่หน้าที่ (functional group) เพียงหมู่เดียว แต่ก็สามารถเกิดปฏิกิริยาเชื่อมข้ามโปรตีนได้ด้วยกระบวนการ 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกเมื่อฟอร์มาลดีไฮด์เกิดปฏิกิริยากับโปรตีนจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นเมทิลออล (methylol) ขั้นตอนถัดมาจะเกิดการเชื่อมข้ามด้วยเมทิลีน (methylene bridge) ระหว่างสายโปรตีน (Audic, & Chaufer, 2005) ดังแสดงในรูปที่ 2.3




รูปที่ 2.3 การเชื่อมข้ามโปรตีนโดยฟอร์มาลดีไฮด์
ที่มา : Azeredo & Waldron (2016)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สำหรับกลูทาราลดีไฮด์ แอลดีไฮด์ตัวนี้มีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาสูงกว่าฟอร์มาลดีไฮด์ เนื่องจากมีหมู่หน้าที่จำนวน 2 หมู่ (Gerrard et al., 2002) ส่วนซินนามาลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมข้ามที่พบตามธรรมชาติและมีพิษต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแอลดีไฮด์ตัวอื่น (Balaguer et al., 2011) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าซินนามาลดีไฮด์เป็นพิษต่อไตของหนูทดลอง (Gowder, & Devaraj, 2010) ซินนามาลดีไฮด์สามารถทำให้เกิดพันธะโควาเลนต์เชื่อมข้ามระหว่างหน่วยย่อยกรดอะมิโนในโปรตีนไกลอะดินซึ่งเป็นโปรตีนในข้าวสาลี เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายของพอลิเมอร์ มีรายงานว่าฟิล์มไกลอะดินที่เติมซินนามาลดีไฮด์เข้มข้น 5% โดยน้ำหนัก มีความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) และมอดูลัสสภาพยืดหยุ่น (elastic modulus) เพิ่มขึ้นประมาณ 6 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มไกลอะดินที่ไม่เติมซินนามาลดีไฮด์ (Balaguer et al., 2011)

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าแอลดีไฮด์จะเป็นสารเชื่อมข้ามที่มีประสิทธิภาพสูง มีศักยภาพในการนำมาใช้ปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน แต่ยังคงมีความกังวลเกี่ยวกับความเป็นพิษของแอลดีไฮด์ที่ตกค้างอยู่ในฟิล์มและสามารถแพร่เข้าไปในผลิตภัณฑ์อาหาร รวมทั้งการที่ไม่สามารถนำแอลดีไฮด์มาใช้ในการผลิตฟิล์มบริโภคได้ จึงมีความพยายามในการเสาะหาสารเชื่อมข้ามอื่นที่ไม่เป็นพิษหรือมีความเป็นพิษต่ำเพื่อเป็นทางเลือกที่ดีกว่าสำหรับการนำฟิล์มที่ได้ไปใช้สัมผัสโดยตรงกับผลิตภัณฑ์อาหาร ตัวอย่างของสารเชื่อมข้ามโปรตีนที่มีการศึกษา ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (Insaward et al. 2015) และเจนิพิน (genipin) (Bigi et al., 2002)

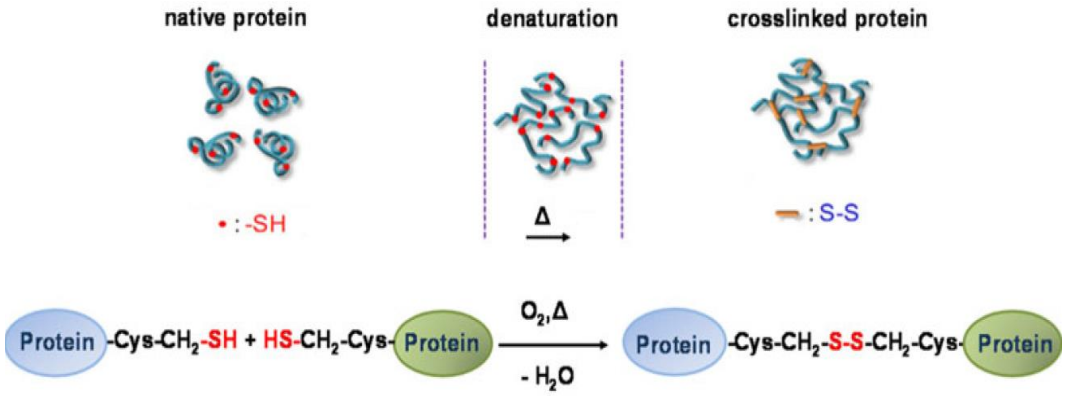
**2.5.2 วิธีทางกายภาพ**

วิธีทางกายภาพที่มีรายงานว่าสามารถใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนได้ ได้แก่ การบ่มด้วยความร้อน (heat curing) และการฉายรังสี (irradiation)

**2.5.2.1 การบ่มด้วยความร้อน**

การบ่มด้วยความร้อนเป็นวิธีทางกายภาพที่นิยมใช้ในการปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีน เทคนิคนี้สามารถทำได้ทั้งกับแผ่นฟิล์ม (dry film) และสารละลายฟิล์ม (film-forming solution) ระหว่างการบ่มด้วยความร้อน โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพธรรมชาติและคลายตัวเผยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ เช่น หมู่ซัลฟ์ไฮดริล ออกมา เมื่อตัวทำละลายถูกระเหยออกไปสายโปรตีนที่คลายตัวออกจะเกิดปฏิกิริยาการสลับเปลี่ยนไธออล-ไดซัลไฟด์ (thiol-disulfide interchange) ส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ซึ่งนำไปสู่การเกิดโครงสร้างที่แข็งแรงมากขึ้น (Chiralt, 2018) กลไกการเกิดพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมข้ามโปรตีนในกระบวนการบ่มด้วยความร้อนแสดงดังรูปที่ 2.4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University




รูปที่ 2.4 กลไกการเกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนในกระบวนการบ่มด้วยความร้อนโดยพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างหมู่ข้างของกรดอะมิโนซิสเทอีนสองตัว
ที่มา : ดัดแปลงจาก Sabato et al. (2001) และ Chang et al. (2012)

Stuchell and Krochta (1994) ศึกษาสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ผลิตจากสารละลายฟิล์มที่ไม่บ่มด้วยความร้อนและสารละลายฟิล์มที่บ่มด้วยความร้อนถึง 85 องศาเซลเซียส และรายงานว่าแม้ว่าสมบัติต่างๆ ของตัวอย่างฟิล์มจะไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีแนวโน้มว่าฟิล์มที่ผลิตจากสารละลายฟิล์มที่บ่มด้วยความร้อนมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) สูงกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มควบคุมที่ผลิตจากสารละลายฟิล์มที่ไม่บ่มด้วยความร้อน นอกจากนี้ฟิล์มที่ผลิตจากสารละลายฟิล์มที่บ่มด้วยความร้อนยังมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่า มีผิวที่เรียบกว่า และมีความโปร่งใส (transparency) สูงกว่าฟิล์มควบคุมอีกด้วย ผู้วิจัยเสนอว่าที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากความร้อนที่ใช้บ่มทำให้โปรตีนถั่วเหลืองเสียสภาพมากขึ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามของโปรตีนมากขึ้น ซึ่งมีผลลดการเคลื่อนที่ของสายโซ่พอลิเมอร์ ฟิล์มจึงมีโครงสร้างที่แน่นขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

**2.5.2.2 การฉายรังสี**

การฉายรังสีเป็นวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนเพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลและการป้องกันการซึมผ่านของฟิล์มได้ รังสีที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ประเภทแรกคือรังสีไอออไนซิง (ionizing radiation) ได้แก่ รังสีแกมมา (gamma radiation) และลำอิเล็กตรอนหรือรังสีเบตา (electron beam or beta radiation) รังสีประเภทนี้เมื่อชนเข้ากับตัวกลางจะถ่ายเทพลังงานให้กับอิเล็กตรอนของตัวกลางและมีพลังงานมากพอที่จะทำให้อิเล็กตรอนหลุดจากอะตอม ประเภทที่สองคือ รังสีนอน-ไอออนไนซิง (non-ionizing radiation) ได้แก่ รังสียูวี (UV radiation) รังสีประเภทนี้เมื่อชนเข้ากับ

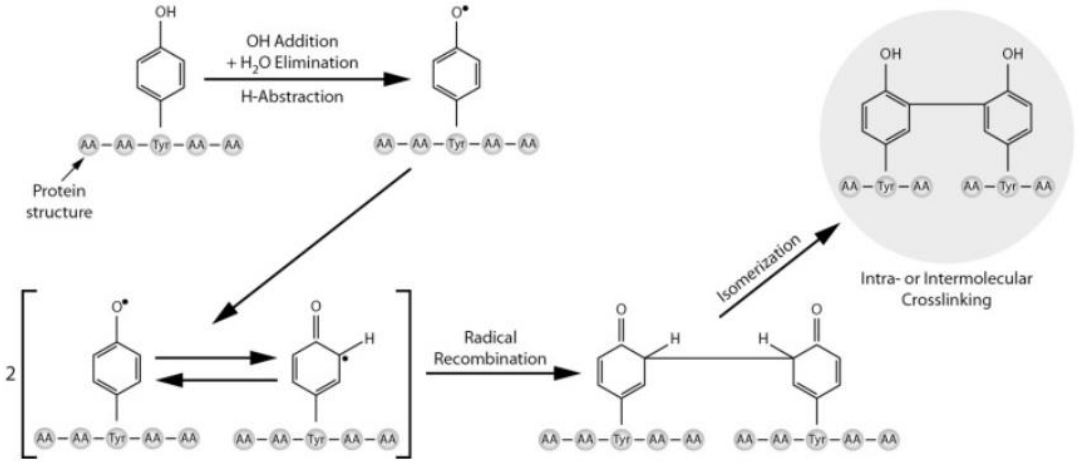
ตัวกลางจะถ่ายเทพลังงานให้กับตัวกลาง ทำให้อิเล็กตรอนของตัวกลางถูกกระตุ้นไปอยู่ในระดับพลังงานที่สูงขึ้น แต่ไม่ทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกจากอะตอม

สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการใช้รังสีเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ ชนิดและปริมาณของรังสีที่ใช้ รังสีที่เลือกใช้ต้องไม่เหนี่ยวนำให้เกิดกัมมันตภาพรังสีในฟิล์มที่ได้รับการฉายรังสี รังสีต้องพร้อมใช้งานและมีต้นทุนทางการค้าที่เหมาะสม และรังสีต้องไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างอยู่ภายในฟิล์ม (BenBettaïeb et al., 2016)

รังสีแกมมาเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) ที่มีความยาวคลื่นสั้นที่สุดในสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า มีอำนาจทะลุทะลวงสูงมาก เกิดจากการสลายตัวของนิวเคลียสของอะตอมที่อยู่ในสถานะกระตุ้น (excited state) กลับสู่สถานะพื้น (ground state) โดยการปลดปล่อยรังสีแกมมาออกมา ธาตุที่เป็นไอโซโทปกัมมันตรังสี เช่น โคบอลต์-60

การฉายฟิล์มโปรตีนด้วยรังสีแกมมาทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง เกิดการออกซิเดชันของกรดอะมิโน การแตกสลายของพันธะโควาเลนต์ เกิดเป็นอนุมูลอิสระของโปรตีน ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาการรวมตัวกันและปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน (Wihodo, & Moraru, 2013) ทำให้เกิดการเชื่อมข้ามโปรตีนขึ้น ดังนั้นสิ่งสำคัญที่ต้องตระหนักคือการฉายรังสีแม้จะทำให้เกิดการเชื่อมข้าม ในขณะเดียวกันก็อาจทำให้เกิดการแตกสลายของโมเลกุลพอลิเมอร์ได้ (Gennadios et al., 1998) การฉายโปรตีนด้วยรังสีแกมมาจะทำให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามไดไทโรซีน (dityrosine cross-link) โดยในขั้นตอนแรกจะเป็นการสร้างอนุมูลอิสระไทโรซีน (tyrosine radical) อนุมูลไทโรซีนที่เกิดขึ้นสามารถรวมตัวกัน (radical recombination) ได้เป็นไดไทโรซีนเกิดเป็นการเชื่อมข้ามภายในหรือระหว่างโมเลกุลโปรตีน (รูปที่ 2.5)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY




รูปที่ 2.5 กลไกการเกิดพันธะเชื่อมข้ามไดไทโรซีนในโปรตีนเมื่อฉายรังสีแกมมา
ที่มา : Queiroz et al. (2016)

Lee et al. (2005) ศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยฉายสารละลายฟิล์มด้วยรังสีแกมมา แปรปริมาณรังสีที่ถูกดูดกลืน (absorbed dose) เป็น 4 ระดับ ได้แก่ 4, 16, 32 และ 50 กิโลเกรย์ (kGy) จากนั้นนำสารละลายฟิล์มไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม พบว่าความหนืดของสารละลายฟิล์มมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มสูงขึ้น ผู้วิจัยเสนอว่าความหนืดที่ลดลงนี้มีสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (conformational change) ของโมเลกุลโปรตีนซึ่งเป็นผลมาจากอนุมูลอิสระของออกซิเจนที่เกิดจากการแตกสลายของโมเลกุลน้ำ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยพบว่าความต้านทานแรงดึงขาดของแผ่นฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มสูงขึ้น โดยตัวอย่างที่ฉายรังสีในปริมาณ 50 กิโลเกรย์มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงเป็น 2 เท่าของตัวอย่างควบคุมที่ไม่ฉายรังสี การเพิ่มขึ้นของความต้านทานแรงดึงขาดนี้เป็นผลมาจากการเชื่อมข้ามโปรตีนที่เหนี่ยวนำโดยรังสีแกมมา ผู้วิจัยสรุปว่าการฉายรังสีแกมมาทำให้เกิดการสูญเสียโครงสร้างที่เป็นระเบียบ (ordered structure) ของโมเลกุลโปรตีน ในขณะเดียวกันก็ทำให้เกิดการสลาย (degradation) การเชื่อมข้าม และการรวมตัวกันของสายพอลิเพปไทด์

นอกจากรังสีแกมมาแล้ว ลำอิเล็กตรอนยังเป็นรังสีไอออไนซิงอีกชนิดหนึ่งที่มีการใช้กันทั่วไปในอุตสาหกรรม ลำอิเล็กตรอนคือ ลำของอิเล็กตรอนที่มีความเข้มข้นสูง ผลิตขึ้นโดย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ใช้ความร้อน (thermionic emission) การระดมยิง (bombardment) อะตอมหรืออนุภาคที่มีประจุ (secondary electron emission) หรือสนามไฟฟ้าที่มีความแรงสูง (field emission) การประยุกต์ใช้ลำอิเล็กตรอนส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการฆ่าเชื้อ การเชื่อมข้ามพอลิเมอร์สังเคราะห์ สายไฟและสายเคเบิล โดยใช้ปริมาณรังสีที่สูง ปัจจุบันมีการศึกษาที่เกี่ยวกับการใช้เทคโนโลยีลำอิเล็กตรอนเพื่อดัดแปรฟิล์มโปรตีนอยู่น้อยมาก ข้อได้เปรียบของการใช้ลำอิเล็กตรอนในการเชื่อมข้ามวัสดุพอลิเมอร์ชีวภาพคือ ใช้เวลาในการฉายรังสีสั้น (Chmielewski, 2007) กลไกของลำอิเล็กตรอนที่มีผลต่อพอลิเมอร์มี 3 ขั้นตอน (Chmielewski, 2007) ขั้นตอนแรก คือ การเปลี่ยนแปลงของพอลิเมอร์จากสถานะพื้น (P) ไปสู่สถานะกระตุ้น (P*) (excitation) ดังสมการที่ (1)

$$P \longrightarrow P^* \qquad \ldots(1)$$

ขั้นตอนที่สอง คือ การตัดของโมเลกุล (scission) เกิดการแตกสลายของสาย พอลิเมอร์หลักและเกิดเป็นอนุมูลอิสระของพอลิเมอร์ (polymer radical) ($R_n$• และ $R_m$•) ดังสมการที่ (2)

$$P^* \longrightarrow R_n\bullet + R_m\bullet \qquad \ldots(2)$$

ขั้นตอนที่สาม คือ การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระของพอลิเมอร์ ส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามของพอลิเมอร์ (R-R) ดังสมการที่ (3)

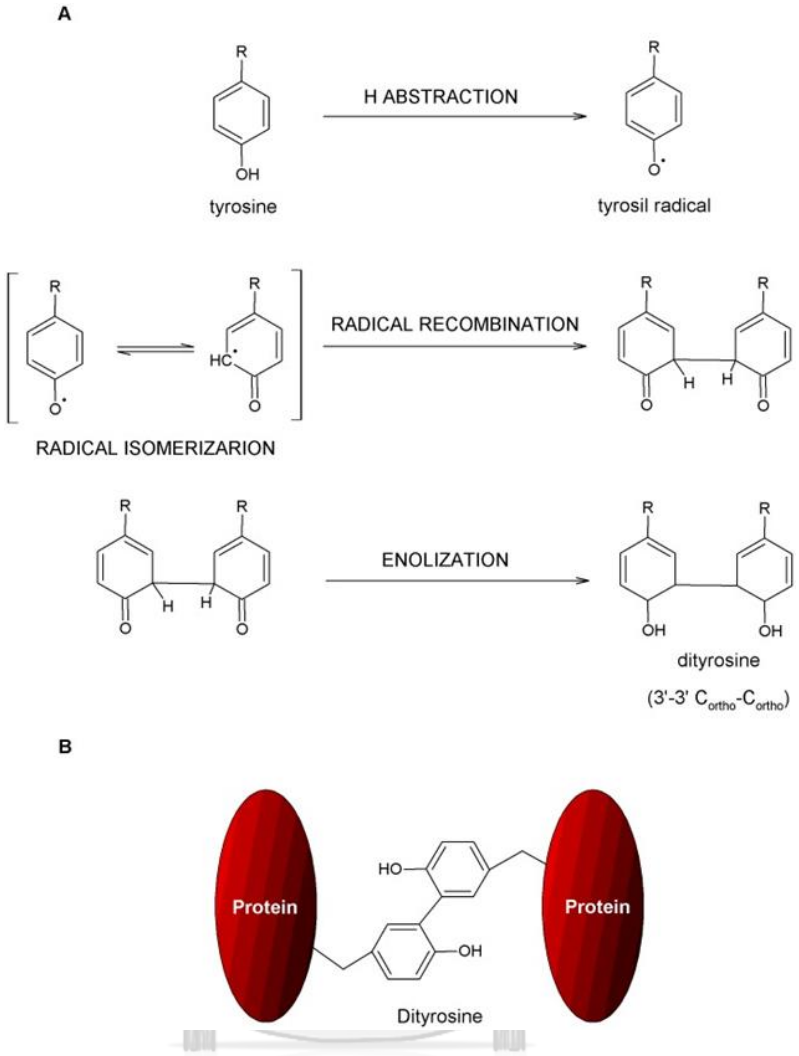
$$R_n\bullet + R_m\bullet \longrightarrow R\text{-}R \qquad \ldots(3)$$

Benbetta et al. (2016) ศึกษาผลการฉายลำอิเล็กตรอนต่อสมบัติของฟิล์ม เจลาตินปลา โดยใช้ลำอิเล็กตรอนพลังงาน 2.2 เมกะอิเล็กตรอนโวลต์ (MeV) และอัตราปริมาณรังสี (radiation dose rate) 0.3 กิโลเกรย์/วินาที โดยแปรปริมาณรังสีที่ถูกดูดกลืนเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 20, 40 และ 60 กิโลเกรย์ จากการศึกษาด้วยอิเล็กตรอนสปินเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (electron spin resonance spectroscopy, ESR) พบว่าเกิดพีคสูงสุดที่ความเข้มสนามแม่เหล็ก (magnetic field strength) ประมาณ 3500 เกาส์ (G) สำหรับฟิล์มที่ฉายรังสีที่ 60 กิโลเกรย์ ผู้วิจัยเสนอว่าการฉายลำอิเล็กตรอนเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระในรูปของอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electron) ในสาย พอลิเมอร์และเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมข้ามพอลิเมอร์ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังรายงานว่าฟิล์มที่ผ่านการฉายรังสีมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดและมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าลดลงเล็กน้อย แต่ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าแรงตึงผิวและอันตรกิริยา

โพลาร์[1]ของพลังงานผิวมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งผู้วิจัยอธิบายว่าการฉายรังสีสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดพันธะใหม่ๆ ขึ้นระหว่างสายพอลิเมอร์ ทำให้มีปริมาณของหมู่ที่มีขั้วเพิ่มขึ้นที่ผิว รังสีไอออไนซิงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่หลากหลายในฟิล์มโปรตีน ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง การออกซิเดชันของกรดอะมิโน การแตกออกของพันธะ โควาเลนต์ การเกิดเป็นอนุมูลอิสระของโปรตีน การรวมตัวใหม่หรือการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน อย่างไรก็ตามในการวิจัยนี้ผู้วิจัยอธิบายว่าเกิดการเชื่อมข้ามมากกว่าการแตกออกของสายพอลิเมอร์ จึงเป็นผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากการฉายรังสี

สำหรับรังสีอัลตราไวโอเลตหรือรังสียูวีเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 100-400 นาโนเมตร มีความถี่อยู่ในช่วง $10^{15}$-$10^{18}$ เฮิรตซ์ รังสียูวีแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ UV-A หรือเรียกชื่ออื่นว่า long wave UVR หรือ black light มีความยาวคลื่นในช่วง 315-400 นาโนเมตร มีระดับพลังงาน 3.10-3.94 อิเล็กตรอนโวลต์ (eV) ซึ่งเป็นพลังงานต่ำที่สุด มีอำนาจทะลุทะลวงผ่านชั้นผิวหนังได้ ชนิดที่สองคือ UV-B หรือเรียกชื่ออื่นว่า middle UVR หรือ sunburn radiation มีความยาวคลื่นในช่วง 280-315 นาโนเมตร มีระดับพลังงาน 3.94-4.43 อิเล็กตรอนโวลต์ และชนิดที่สามคือ UV-C หรือเรียกชื่ออื่นว่า short wave UVR หรือ germicidal radiation มีความยาวคลื่น 100-280 นาโนเมตร มีระดับพลังงาน 4.43-12.4 อิเล็กตรอนโวลต์ ซึ่งเป็นระดับพลังงานสูงที่สุด ใช้ฆ่าเชื้อโรคที่เป็นอันตรายได้ งานวิจัยที่นำรังสียูวีมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนส่วนใหญ่นิยมใช้รังสี UV-C ที่มีความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร ข้อได้เปรียบของการใช้รังสียูวีในการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีนคือ มีราคาถูก ใช้งานง่าย มีความปลอดภัย และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากกว่าการใช้รังสีไอออไนซิง รังสียูวีสามารถถูกดูดซับได้โดยหมู่ข้างของกรดอะมิโนชนิดแอโรมาติก ได้แก่ ไทโรซีน มีผลกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโน และเกิดอนุมูลอิสระขึ้น เมื่ออนุมูลอิสระรวมตัวกันจะส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามไดไทโรซีนขึ้นในทำนองเดียวกับการฉายรังสีแกมมา ดังแสดงในรูปที่ 2.6

[1] แรงยึดเหนี่ยวระหว่างอะตอมหรือโมเลกุลที่ทำให้เกิดพลังงานผิว (surface energy) หรือแรงตึงผิว (surface tension) นั้นประกอบด้วยอันตรกิริยาทางเคมีชนิดต่างๆ อันตรกิริยาที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงชั่วคราว (temporary fluctuation) ของการกระจายตัวของประจุในอะตอมหรือโมเลกุล เรียกว่า อันตรกิริยาดิสเพอร์ซีฟ (อันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์) ในขณะที่อันตรกิริยาระหว่างไดโพลถาวร (permanent dipole) ด้วยกัน และอันตรกิริยาระหว่างไดโพลถาวรและไดโพลเหนี่ยวนำ (induced dipole) เรียกว่า อันตรกิริยาโพลาร์




รูปที่ 2. 6 กลไกระดับโมเลกุลของการเชื่อมข้ามไดไทโรซีน ($C_{ortho}$-$C_{ortho}$) โดยที่ (A) แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการสร้างไดไทโรซีน และ (B) แสดงการเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนด้วยไดไทโรซีน

ที่มา : Correia et al. (2012)

Schmid et al. (2017) ศึกษาการใช้รังสียูวีเพื่อกระตุ้นการเชื่อมข้ามในฟิล์มเวย์โปรตีนสกัด (whey protein isolate) โดยแปรปริมาณรังสีที่ถูกดูดกลืนของ UV-C เป็น 5 ระดับ ได้แก่ 1.2, 2.8, 11.6, 19.9 และ 42 จูล/ตารางเซนติเมตร ผู้วิจัยรายงานว่ายังก์มอดูลัส (Young's modulus) ของฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกัน ยกเว้นตัวอย่างที่ได้รับปริมาณรังสี 19.9 จูล/ตารางเซนติเมตร ความต้านทานแรงดึงขาดของตัวอย่างฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่ได้รับปริมาณรังสีต่ำที่สุด (1.2 จูล/ตารางเซนติเมตร) มีค่าความต้านทานแรงดึงขาดไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) การยืดตัวถึงจุด

ขาดของฟิล์มทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ยกเว้นฟิล์มที่ได้รับปริมาณรังสี 42 จูล/ตารางเซนติเมตร ซึ่งมีการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและสภาพให้ซึมผ่านได้ของออกซิเจน (oxygen permeability) ของฟิล์มที่ผ่านการบ่มด้วยยูวีอาจแตกต่างกันในแง่ของตัวเลข แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ที่เป็นเช่นนี้อาจมีสาเหตุมาจากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ที่สูง ผู้วิจัยอธิบายว่าการเบี่ยงเบนของข้อมูลที่สูงอาจเนื่องมาจากโครงร่างตาข่ายของโปรตีนเกิดการเชื่อมข้ามที่ไม่เป็นระเบียบทำให้เมทริกซ์ของฟิล์มมีความไม่สม่ำเสมอ

**2.5.3 การใช้เอนไซม์**

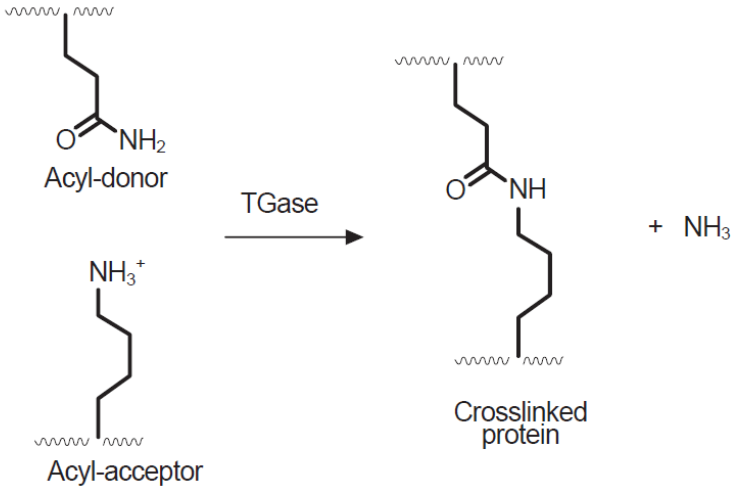
การใช้เอนไซม์เป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการเร่งให้เกิดการเชื่อมข้ามพอลิเมอร์ชีวภาพ เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะต่อปฏิกิริยาและสับสเตรท นอกจากนี้ยังเกิดปฏิกิริยาในภาวะที่ไม่รุนแรง เอนไซม์บางชนิดสามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดพันธะเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนได้ ตัวอย่างเช่น เพอร์ออกซิเดส (EC 1.11.1.7) และแทรนส์กลูทามิเนส (EC2.3.2.13)

เพอร์ออกซิเดสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของหน่วยย่อยไทโรซีน เกิดเป็น di-, tri- และ tert-tyrosine สารประกอบที่เกิดจากการออกซิเดชันของไทโรซีนจะส่งเสริมการเชื่อมข้ามของโปรตีน (Stuchell, & Krochta, 1994) จากงานวิจัยของ Stuchell, & Krochta (1994) ที่ศึกษาการเชื่อมข้ามโปรตีนในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดด้วยเพอร์ออกซิเดส พบว่าถึงแม้ว่าฟิล์มที่เติมเพอร์ออกซิเดสมีค่ายังก์มอดูลัสที่สูงขึ้น แต่กลับมีค่าความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดที่ลดลง ฟิล์มที่ได้จึงมีความเปราะเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุมที่ไม่เติมเอนไซม์ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังรายงานว่า เพอร์ออกซิเดสไม่มีผลช่วยปรับปรุงสมบัติการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด จากรูปแบบของแถบโปรตีนที่ศึกษาโดยใช้โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตพอลิอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟเรซิส (SDS-PAGE) พบว่าการเติมเพอร์ออกซิเดสทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโมเลกุลโปรตีน แต่ในขณะเดียวกันก็ยังทำให้เกิดการแตกสลายของโมเลกุลโปรตีนบางส่วนด้วย ผู้วิจัยจึงสรุปว่าเอนไซม์ที่ทำให้เกิดออกซิเดชันของโปรตีนเพื่อส่งเสริมให้เกิดการเชื่อมข้ามยังไม่มีความจำเพาะเพียงพอสำหรับการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน

เอนไซม์อีกตัวหนึ่งที่นิยมใช้ในการเร่งการเชื่อมข้ามโปรตีน ได้แก่ แทรนส์กลูทามิเนส ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการถ่ายโอนหมู่เอซิลระหว่าง $\gamma$-carboxyamide ของกลูทามีนซึ่งเป็นตัวให้เอซิล (acyl donor) และหมู่อะมิโนของไลซีนซึ่งเป็นตัวรับเอซิล (acyl acceptor) เกิดเป็นพันธะโควาเลนต์เชื่อม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ข้าม ε-(γ-glutamyl)-lysine ภายในและระหว่างโมเลกุลของโปรตีน (Motoki, & Seguro, 1998) (รูปที่ 2.7) มีรายงานว่าพอลิเมอร์ที่เกิดจากการเชื่อมข้ามด้วยแทรนส์กลูทามิเนสไม่มีความเป็นพิษ (Chen, Ho, & Sheu, 2005)




รูปที่ 2. 7 ปฏิกิริยาการเชื่อมข้ามโปรตีนด้วยแทรนส์กลูทามิเนส (TGase)
ที่มา : Azeredo, & Waldron (2016)

de Carvalho, & Grosso (2004) ศึกษาการใช้แทรนส์กลูทามิเนสเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มเจลาติน พบว่าการใช้แทรนส์กลูทามิเนสสามารถช่วยลดสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ แต่ไม่มีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม ในอีกรายงานหนึ่ง Porta et al. (2011) พบว่าแทรนส์กลูทามิเนสสามารถปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มคอมพอสิตของไคโตซานและแป้งถั่วเหลืองและฟิล์มคอมพอสิตของไคโตซานและเวย์โปรตีน ผู้วิจัยเสนอว่าการเชื่อมข้ามของโปรตีนมีผลลดความสามารถในการเคลื่อนที่ของโมเลกุล ส่งผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง อย่างไรก็ตามในการพิจารณาใช้เทคนิคนี้ในการผลิตทางการค้า อาจต้องคำนึงถึงต้นทุน เนื่องจากเอนไซม์บางชนิดมีราคาสูง จึงเป็นข้อจำกัดในการนำไปใช้ประโยชน์เพื่อเชื่อมข้ามฟิล์มบรรจุภัณฑ์

### 2.5.4 วิธีอื่นๆ

นอกจากวิธีดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีการใช้เทคนิคอื่นเพื่อปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโปรตีน ได้แก่ การผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิต และการเสริมแรงด้วยวัสดุนาโน (reinforcing nano material)

**2.5.4.1 การผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิต**

การผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิตเป็นการปรับปรุงสมบัติของฟิล์มโดยการใช้สมบัติที่เป็นที่ต้องการของวัสดุที่นำมาผลิตเป็นฟิล์มอย่างน้อย 2 ชนิด ตัวอย่างเช่น ฟิล์มโปรตีนและฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติป้องกันแก๊สออกซิเจนที่ดี มีความแข็งแรงเชิงกลปานกลาง แต่มีข้อจำกัดในด้านสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ การปรับปรุงความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนและฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์สามารถทำได้โดยการเพิ่มองค์ประกอบที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ เช่น ลิพิด การผลิตฟิล์มคอมพอสิตดังกล่าวทำได้โดยการเติมลิพิดลงในสารละลายฟิล์มโปรตีนหรือสารละลายฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์โดยตรงแล้วทำให้เป็นอิมัลชันโดยมีการกระจายของเม็ดไขมันในวัฏภาคต่อเนื่องของสารละลายโปรตีนหรือสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ ในกรณีนี้มักเติมอิมัลซิไฟเออร์ร่วมด้วยเพื่อช่วยในการกระจายตัวของเม็ดไขมันในสารละลายพอลิเมอร์ที่จะทำให้ได้อิมัลชันที่เสถียร (Krochta, 2002) ฟิล์มที่ผลิตด้วยเทคนิคนี้เรียกว่าฟิล์มอิมัลชัน (emulsion film) หรืออาจผลิตฟิล์มคอมพอสิตในลักษณะฟิล์มสองชั้นหรือหลายชั้น (bilayer or multilayer film) ซึ่งประกอบด้วยชั้นต่าง ๆ ของฟิล์มที่ขึ้นรูปแยกกันซึ่งทำจากวัสดุต่างกัน (layers of preformed films)

ที่ผ่านมาได้มีกลุ่มวิจัยหลายกลุ่มศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนและลิพิด โดยพบว่าฟิล์มโปรตีนที่เติมลิพิดมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มโปรตีนที่ไม่เติมลิพิด ตัวอย่างของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนและลิพิด ได้แก่ ฟิล์มคอมพอสิตของโซเดียมเคซีเนตและไขผึ้ง (Avena-Bustillos, & Krochta, 1993) ฟิล์มคอมพอสิตของเซอีนและกรดไขมัน (Park et al., 1994) ฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนถั่วเหลืองและกรดไขมัน (Gennadios et al., 1998) ฟิล์มคอมพอสิตของเวย์โปรตีนและไขต่างๆ (Shellhammer, & Krochta, 1997**;** Pérez-Gago, & Krochta, 1999) และฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนไข่ขาวและกรดไขมัน (Handa et al., 1999)

นอกจากฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนและลิพิดแล้ว ยังมีการผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ ตัวอย่างเช่น ฟิล์มคอมพอสิตของเซอีนและเมทิลเซลลูโลส (Park et al., 1994) ฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและโพรพิลีนไกลคอลแอลจิเนต (Shih, 1994) ฟิล์มคอมพอสิตของโปรตีนสกัดจาก *Pistacia terebinthus* และไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (Ayranci, & Cetin, 1995) ฟิล์มคอมพอสิตของเวย์โปรตีนหรือเคซีนและแอลจิเนตหรือ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เพกติน (Parris et al., 1995) ฟิล์มคอมพอสิตของเซอีนและสตาร์ช (Parris et al., 1997) และฟิล์มคอมพอสิตของโซเดียม เคซีเนตและสตาร์ช (Arvanitoyannis, & Biliaderis, 1998)

**2.5.4.2 การเสริมแรงด้วยวัสดุนาโน**

การเสริมแรงด้วยวัสดุนาโนในฟิล์มพอลิเมอร์จะส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรงมากขึ้นเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่เสริมแรงด้วยวัสดุนาโน นอกจากนี้ด้วยขนาดระดับนาโนเมตรจึงมีผลน้อยต่อความโปร่งใสของฟิล์มที่เสริมแรงด้วยวัสดุนาโน (Chiralt et al., 2018) ตัวอย่างของวัสดุนาโน ได้แก่ อนุภาคนาโน (nanoparticle) จากซิลิกา โลหะ และออกไซด์ของโลหะ ท่อนาโนคาร์บอน (carbon nanotube) เซลลูโลสนาโนวิสเกอร์หรือเซลลูโลสนาโนคริสตัล (cellulose nanowhisker or cellulose nanocrystal) เลเยอร์คริสตัล (layered crystal) และเลเยอร์ซิลิเกตเคลย์ (layered silicate clay)

มีงานวิจัยหลายชิ้นที่ศึกษาการใช้เลเยอร์ซิลิเกตเคลย์ เช่น มอนต์มอริลโลไนต์ (montmorillonite) เฮกโทไรต์ (hectorite) และซาพอไนต์ (saponite) เนื่องจากหาได้ง่ายและให้ผลในการเสริมสมบัติที่ดี ตัวอย่างเช่น Kumar et al. (2010) ศึกษาการเตรียมฟิล์มนาโนคอมพอสิตของโปรตีนถั่วเหลืองที่เสริมด้วยมอนต์มอริลโลไนต์ และพบว่าการเสริมด้วยมอนต์มอริลโลไนต์ช่วยปรับปรุงความต้านทานแรงดึงขาด การยืดตัวถึงจุดขาด และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

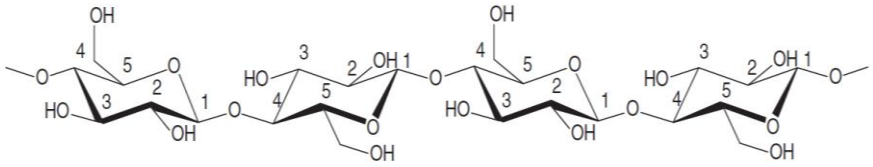
สำหรับเซลลูโลสนาโนวิสเกอร์หรือเซลลูโลสนาโนคริสตัลนิยมนำมาใช้เสริมแรงในฟิล์มย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ข้อดีของผลิตภัณฑ์จากเส้นใยเซลลูโลสคือ ได้มาจากธรรมชาติ ไม่เป็นพิษ ราคาไม่แพง มีความแข็งแรงสูง และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Huq, 2012)

## 2.6 เซลลูโลสและนาโนเซลลูโลส

### 2.6.1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่มีตามธรรมชาติโดยพบมากในพืช เป็นส่วนประกอบโครงสร้างหลักของผนังเซลล์พืช เป็นเส้นใยที่มีความแข็งแรงสูงและไม่ละลายน้ำ นอกจากพืชแล้วเซลลูโลสยังสังเคราะห์ได้จากรา แบคทีเรียบางชนิด (ได้แก่ *Acetobacter xylinum*) สาหร่ายสีเขียว รวมถึงสัตว์ทะเลที่อยู่ในซับไฟลัม Tunicata (Siro, & Plackett, 2010) โครงสร้างของเซลลูโลส

ประกอบด้วยหน่วยย่อย β-D-glucopyranose ตั้งแต่ 15-40,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด β-1,4 เป็นสายโซ่ยาว โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสแสดงในรูปที่ 2.8 เซลลูโลสมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลที่แน่น เป็นระเบียบ มีลักษณะเป็นเส้นตรง มีความแข็งแรง และมีโครงสร้างแบบผลึก ด้วยเหตุนี้เซลลูโลสจึงไม่ละลายน้ำ (Kester, 1986)



รูปที่ 2. 8 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส
ที่มา : Habibi (2013)

เซลลูโลสสามารถนำมาใช้ขึ้นรูปเป็นฟิล์มและสารเคลือบได้ โดยฟิล์มและสารเคลือบที่บริโภคได้จากเซลลูโลสไม่มีรสชาติ ไม่มีกลิ่น ให้พลังงานต่ำ มีความโปร่งใส สามารถป้องกันการซึมผ่านของไขมันและน้ำมันได้เนื่องจากธรรมชาติของเซลลูโลสประกอบด้วยหมู่เคมีที่มีสมบัติชอบน้ำ นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนและความชื้นได้ในระดับปานกลาง (Miller, 1997) นอกจากเซลลูโลสธรรมชาติ (native cellulose) แล้ว ยังมีการนำอนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น เมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส มาใช้ในการเตรียมฟิล์มด้วย (Hassan, 2018)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**2.6.2 นาโนเซลลูโลส**

นาโนเซลลูโลส หมายถึง เซลลูโลสที่มีขนาดระดับนาโนเมตร ที่ผ่านมาได้มีความสนใจในการนำนาโนเซลลูโลสไปใช้ประโยชน์ เนื่องจากนาโนเซลลูโลสมีสมบัติที่เด่นหลายประการ ได้แก่ มีการขยายตัวต่อความร้อนที่ต่ำ มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง (aspect ratio) และพื้นที่ผิว (surface area) ที่สูง (Moon et al., 2011) สามารถใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของแก๊ส เสริมความแข็งแรงเชิงกล และเพิ่มเสถียรภาพต่อความร้อน มีการนำนาโนเซลลูโลสมาประยุกต์ใช้ในวัสดุนาโนคอมพอสิต กระดาษ สารเคลือบ และบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหาร (Belbekhouche et al., 2011) รวมทั้งยังมีการผลิตฟิล์มย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่เสริมด้วยนาโนเซลลูโลส นาโนเซลลูโลสสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพจึงมีศักยภาพในการนำไปใช้พัฒนาวัสดุนาโน

คอมพอสิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและการประยุกต์ใช้ในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ต่าง ๆ อีกด้วย (Abdul Khalil et al., 2012)

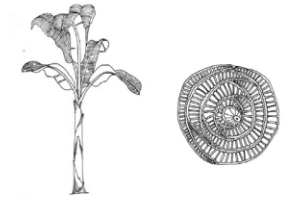
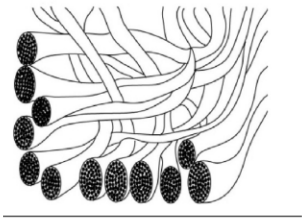
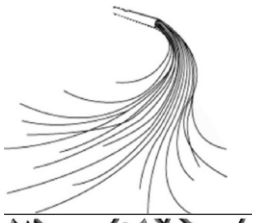
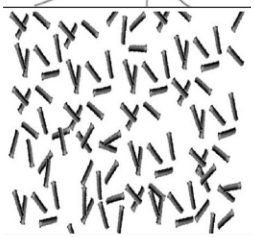
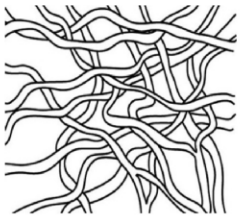
**2.6.2.1 ประเภทของนาโนเซลลูโลส**

นาโนเซลลูโลสจำแนกออกได้เป็น 3 ประเภทตามหน้าที่และวิธีการเตรียม ซึ่งจะขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเซลลูโลสเป็นหลัก ได้แก่ เซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ (cellulose nanofiber, CNF) เซลลูโลสนาโนคริสตัล (cellulose nanocrystal, CNC) และแบคทีเรียลเซลลูโลส (bacterial cellulose, BC) ซึ่งสังเคราะห์โดย *Gluconoacetobacter xylinius* สำหรับนาโนเซลลูโลสที่เตรียมได้จากพืชมีสมบัติดังแสดงในตารางที่ 2.2

เซลลูโลสนาโนไฟเบอร์หรือเซลลูโลสนาโนไฟบริล (cellulose nanofibril) หรือนาโนไฟบริลเลเตดเซลลูโลส (nanofibrillated cellulose) โดยทั่วไปการผลิตเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์จะเริ่มจากการแยกเยื่อไม้ออกด้วยความดันก่อน จากนั้นจึงใช้สารเคมีหรือเอนไซม์เพื่อย่อยให้ได้เส้นใยระดับนาโนเมตร เซลลูโลสนาโนไฟเบอร์มีขนาดประมาณ 1-100 นาโนเมตร ประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึกสลับกับอสัณฐาน โดยทั่วไปความเป็นผลึก (crystallinity) ของเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์อยู่ในช่วง 40-80% (Chakraborty et al., 2006)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2. 2 สมบัติของเส้นใยเซลลูโลสจากพืช

| โครงสร้าง | ส่วนประกอบ | ค่ายังก์มอดูลัส |
|---|---|---|
|  | Biomass | ประมาณ 20 |
|  | Single fiber network | 40 |
|  | Microfibril | 70 |
|  | Cellulose nanocrystal | 50-143 |
|  | Cellulose nanofiber | 145-150 |

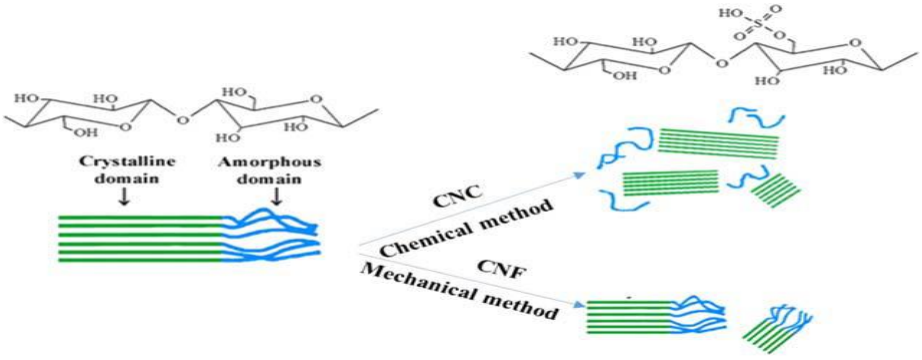
ที่มา : ดัดแปลงจาก Iwamoto et al. (2009); Shi et al. (2011); Wu et al. (2010)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เซลลูโลสนาโนคริสตัลหรือนาโนคริสตัลลีนเซลลูโลส (nanocrystalline cellulose, NCC) หรือเซลลูโลสนาโนวิสเกอร์ (cellulose nanowhisker, CNW) เป็นหนึ่งในวัสดุนาโนที่สามารถนำมาใช้เพื่อเสริมแรงของวัสดุต่างๆ เช่น พลาสติก เมทริกซ์ของสตาร์ชหรือโปรตีน ยาง และพอลิแล็กติกแอซิด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 2-20 นาโนเมตร และความยาวเฉลี่ย 100-600 นาโนเมตร ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้น การผลิตเซลลูโลสนาโนคริสตัลทำได้โดยใช้กรด เบส หรือเอนไซม์ทำปฏิกิริยากับเซลลูโลส (Abdul Khalil et al., 2014) แต่โดยทั่วไปมักใช้การไฮโดรไลซิสด้วยกรดร่วมกับการให้ความร้อน โดยกรดจะทำให้เกิดไฮโดรไลซิสของส่วนที่

เป็นอสัณฐานในโมเลกุลของเซลลูโลส คงเหลือไว้แต่ส่วนที่เป็นผลึก ซึ่งเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีความเป็นผลึกอยู่ในช่วงประมาณ 54-88% (Moon et al., 2011) ลักษณะของผลึกมีรูปทรงคล้ายเข็ม มีพื้นที่ผิวสูง และมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาได้ (reactive) เนื่องจากเซลลูโลสนาโนคริสตัลยังคงมีหมู่ไฮดรอกซีอยู่จำนวนมาก (Jonoobi et al., 2015) อย่างไรก็ตามสมบัติทางเคมีของผิวของเซลลูโลสนาโนคริสตัลขึ้นอยู่กับวิธีการผลิตเป็นหลัก เช่น เซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ผลิตโดยไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟูริกจะมีหมู่ซัลเฟตเอสเทอร์ที่ผิว ส่วนเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ผลิตโดยไฮโดรไลซิสด้วยกรดไฮโดรคลอริกจะมีหมู่ไฮดรอกซีที่ผิว (Abdul Khalil et al., 2012) ลักษณะเฉพาะประการหนึ่งของเซลลูโลสนาโนคริสตัลคือ มีแนวโน้มในการรวมตัวกันเองเนื่องด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding-induced self-aggregation) (Habibi, 2013) เนื่องจากเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีขนาดอนุภาคที่เล็กและมีรูปร่างที่เป็นไฟบริลทำให้มีพื้นที่ผิวสูง รูปที่ 2.9 แสดงการผลิตเซลลูโลสนาโนคริสตัลด้วยวิธีทางเคมีและเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ด้วยวิธีทางกล ซึ่งส่งผลให้ผลิตภัณฑ์นาโนเซลลูโลสทั้งสองชนิดมีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน

การป้องกันการรวมตัวกันเองของเซลลูโลสนาโนคริสตัลสามารถทำให้โดยการดัดแปรผิว (surface modification) โดยทำให้เกิดอันตรกิริยานอน-โควาเลนต์หรือพันธะโควาเลนต์กับสารหรือหมู่เคมีอื่น การดูดซับสารลดแรงตึงผิว (surfactant adsorption) เป็นวิธีหนึ่งที่มีการนำมาใช้เพื่อดัดแปรผิวของเซลลูโลสนาโนคริสตัล สำหรับกลไกการดูดซับของสารลดแรงตึงผิวบนนาโนเซลลูโลส มีงานวิจัยที่เสนอว่าการดูดซับของสารลดแรงตึงผิวบนนาโนเซลลูโลสเกิดจากอันตรกิริยา ไฮโดรโฟบิกระหว่างหมู่ที่ไม่ชอบน้ำของสารลดแรงตึงผิวกับส่วน (domain) ที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำของนาโนเซลลูโลส (Prathapan et al., 2016; Tardy et al., 2017; de Souza et al., 2020)




รูปที่ 2. 9 การผลิตเซลลูโลสนาโนคริสตัล (CNC) และเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ (CNF) จากเซลลูโลสด้วยวิธีทางเคมีและทางกลตามลำดับ
ที่มา : Rahimi Kord Sofla et al. (2016)

สำหรับเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวได้มีรายงานการนำมาใช้ในฟิล์มและวัสดุคอมพอสิตอื่น เช่น ในงานวิจัยของ Bondeson et al. (2007) ที่ศึกษาผลของเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติเชิงกลของวัสดุคอมพอสิตพอลิแล็กติกแอซิด โดยสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในงานวิจัยดังกล่าว ได้แก่ Beycostat™ A B09 (CECA, La Garenne-Colombes, France) ซึ่งเป็นแอซิดฟอสเฟตเอสเทอร์ของเอทอกซิเลเตดโนนิลฟีนอล (acid phosphate ester of ethoxylated nonylphenol) โดยแปรปริมาณของสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 20% โดยน้ำหนัก พบว่าการดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวทำให้เซลลูโลสนาโนคริสตัลมีการกระจายตัวในวัสดุคอมพอสิตที่ดีขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าวัสดุคอมพอสิตที่เติมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวปริมาณ 5% มีมอดูลัสสภาพยืดหยุ่น ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาด เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวัสดุคอมพอสิตที่เติมเฉพาะสารลดแรงตึงผิว อย่างไรก็ตามพบว่าวัสดุคอมพอสิตที่เติมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวปริมาณ 10 และ 20% มีมอดูลัสสภาพยืดหยุ่นและความต้านทานแรงดึงขาดลดต่ำลง ในขณะที่มีการยืดตัวถึงจุดขาดเพิ่มสูงขึ้น

Fortunati et al. (2012) ศึกษาผลของการใช้เซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว Beycostat™ A B09 ต่อสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของฟิล์มคอมพอสิตพอลิแล็กติกแอซิด โดยในงานวิจัยนี้แปรปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็น 2 ระดับ ได้แก่ 1 และ 5% โดยน้ำหนัก พบว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีการกระจายตัวที่ดีในฟิล์ม โดยฟิล์มที่เติมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวปริมาณ 1 และ 5% มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง 34 และ 11% เมื่อเทียบกับฟิล์มที่เติมเซลลูโลสนาโน

คริสตัลที่ไม่ดัดแปรในปริมาณเท่ากัน ผู้วิจัยอธิบายว่าการเสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีผลเพิ่มความคดเคี้ยวของช่องทางที่ไอน้ำสามารถเคลื่อนที่ผ่าน ส่งผลให้ฟิล์มสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

## 3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

### 3.1.1 วัตถุดิบ

Soy protein isolate (90. 20 % protein, wet basis) , food grade (Krungthepchemi, Bangkok, Thailand) (ภาคผนวก ก.1)

Glycerol monostearate, food grade (Danisco, Copenhagen, Denmark) (ภาคผนวก ก.2)

Sodium stearoyl lactylate, food grade (Oleofine Organics (Thailand), Nonthaburi, Thailand) (ภาคผนวก ก.3)

Microcrystalline cellulose, 20 μm particle size, AR grade (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)

3.1.2 สารเคมี

2-mercaptoethanol, AR grade (Merck, Billerica, MA, USA)

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

Acrylamide gel, 40% solution, AR grade (Phamacia, Uppsala, Sweden)

Ammonium persulfate, AR grade (USB, Cleveland, OH, USA)

Bovine serum albumin, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

Bromophenol blue, AR grade (USB, Cleveland, OH, USA)

Coomassie brilliant blue R-250, AR grade (Fluka, Buchs, Sweitzerland)

Copper (II) sulfate, AR grade (Univar, Seven Hills, New South Wales, Australia)

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

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

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Glycerol, AR grade (Ajax Finechem, Seven Hills, New South Wales, Australia)

Glycine, AR grade (USB, Cleveland, OH, USA)

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

N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED), AR grade (USB, Cleveland, OH, USA)

Potassium tartrate, AR grade (Univar, Seven Hills, New South Wales, Australia)

Protein molecular weight marker, wide range (molecular weight 6500-200000 Da) AR grade (Sigma-Aldrich, Munich, Germany)

Sodium bicarbonate, AR grade (Univar, Seven Hills, New South Wales, Australia)

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

Sodium deoxycholate, AR grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

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

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Sodium hydroxide, anhydrous, AR grade (QRëC™, Quality Reagent Chemical, Pulau Pinang, Malaysia)

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

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

**3.2 อุปกรณ์**

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

Contact angle measuring instrument, model OCA15EC (Data Physics Instrument, Filderstadt, Germany)

Dialysis tubing (molecular weight cut-off (MWCO) 8000-14000) (VAKE, Beijing, China)

Fourier transform infrared spectrometer (FTIR), model Spectrum One (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)

Gel electrophoresis system, model miniVE (Hoefer, Holiston, MA, USA)

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

Hotplate stirrer, model MS-H280-Pro (Scilogex, Rocky Hill, CT, USA)

Laboratory hot air oven, model 5200 (Kubota, Fujioka, Japan)

Laboratory shaker, model INNOVA 2050 (New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA)

Refrigerated microcentrifuge, model 22R (Hettich, Buckinghamshire, UK)

Scanning electron microscope, model JSM-IT300 (JEOL, Tokyo, Japan)

Spectrofluorometer, model FP-6200 (Jasco, Tokyo, Japan)

Texture Analyzer, model TA.XTplus (Stable micro system, Godalming, UK)

Thickness gauge, model 7301 (Mitutoyo, Tokyo, Japan)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

UV light meter, model SP-82UV (Lutron Electronic Enterprise, **Taipei, Taiwan)**

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

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

Ultrasonic homogenizer, model UP400S (Hielscher Ultrasonics, Teltow, Germany)

UV cabinet, model UV45-10WX2 (P Inter Supply, Bangkok, Thailand)

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

Zetasizer Nano ZS, model ZEN3600 (Malvern Panalytical, Malvern, UK)

**3.3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย**

**3.3.1 ผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง**

**3.3.1.1 การเตรียมเซลลูโลสนาโนคริสตัลและการดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลด้วยสารลดแรงตึงผิว**

ขั้นตอนแรกเป็นการเตรียมเซลลูโลสนาโนคริสตัล ทำโดยดัดแปลงจากวิธีของ Cranston, & Gray (2006) และ Maiti et al. (2013) เริ่มด้วยนำไมโครคริสตัลลีนเซลลูโลสซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) มาไฮโดรไลส์ด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 47% ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (อัตราส่วนของไมโครคริสตัลลีนเซลลูโลสต่อกรดซัลฟูริกเท่ากับ 1:8 โดยน้ำหนัก) จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ลงไป 10 เท่าของปริมาตรเพื่อหยุดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส แล้วนำไปเหวี่ยงแยกที่ 5720×*g* อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อกำจัดกรดออกบางส่วน ล้างสารแขวนลอยด้วยน้ำปราศจากไอออนและเหวี่ยงแยกจนกระทั่งได้ส่วนใส (supernatant) ที่มีความใส นำสารแขวนลอยส่วนที่ขุ่นไปกำจัดกรดออกโดยวิธีไดอะไลซิสโดยใช้ dialysis tubing (MWCO 8000-14000) (VAKE, Beijing, China) จนกระทั่งสารแขวนลอยมีพีเอชเป็นกลาง (พีเอช 7.0) นำสารแขวนลอยที่ได้มาผ่านกระบวนการโซนิเคชันด้วยเครื่อง ultrasonic homogenizer (model UP400S, Hielscher Ultrasonics, Teltow, Germany) ที่แอมพลิจูด 60% เป็นเวลา 30 นาที จะได้เป็นสารแขวนลอยเซลลูโลสนาโนคริสตัล นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทำการทดลองต่อไป

สำหรับการดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลด้วยสารลดแรงตึงผิวดัดแปลงจากวิธีของ Fortunati et al. (2012) แปรชนิดของสารลดแรงตึงผิวเป็น 2 ชนิด ได้แก่ กลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (glycerol monostearate, GMS) ซึ่งเป็น non-ionic surfactant และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (sodium stearoyl lactylate, SSL) ซึ่งเป็น anionic surfactant และแปรความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม ในขั้นตอนแรกนำสารแขวนลอยเซลลูโลสนาโนคริสตัลมาผสมกับสารลดแรงตึงผิวตามปริมาณที่กำหนด กวนผสมอย่างแรงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ปรับพีเอชให้เท่ากับ 8.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.25% เก็บเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวไว้ที่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการเตรียมฟิล์มคอมพอสิตต่อไป วิเคราะห์ปริมาณของแข็งแห้ง (dry solid content) โดยการนำสารแขวนลอยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวไปอบแห้ง โดยในงานวิจัยนี้เมื่อคำนวณแล้วพบว่าปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวในสารแขวนลอยมีอยู่ประมาณ 1% (น้ำหนัก/ปริมาตร) วิเคราะห์ขนาดอนุภาค (z-average) และศักย์ซีต้า (zeta potential) โดยใช้เครื่อง Zetasizer Nano ZS (model ZEN3600, Malvern Panalytical, Malvern, UK) คัดเลือกเซลลูโลส นาโนคริสตัลที่ดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดที่มีเสถียรภาพสูงที่สุดมาเพื่อใช้ในการเตรียมเป็นฟิล์มคอมพอสิตต่อไป

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ทดลอง 3 ซ้ำ

**3.3.1.2 การศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง**

จากหัวข้อที่ 3.3.1.1 ผู้วิจัยได้คัดเลือกเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดที่มีเสถียรภาพสูงที่สุดมาเพื่อใช้ในการเตรียมฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง โดยแปรปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม กำหนดให้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็นตัวอย่างควบคุม

สำหรับการเตรียมฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีขั้นตอนดังรูปที่ 3.1 โดยดัดแปลงจากวิธีของ Insaward et al. (2015) ขั้นตอนแรกเตรียมสารละลายฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% โดยน้ำหนัก ในสารละลาย Tris-HCl buffer เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 8.0) ใช้กลีเซอรอลเข้มข้น 50% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเป็นพลาสติไซเซอร์ เริ่มจากผสมกลีเซอรอลและสารละลายบัฟเฟอร์ให้เข้ากันโดยใช้ hotplate stirrer (model MS-H280-Pro, Scilogex, Rocky Hill, CT, USA) โดยไม่เปิดให้ความร้อน เติมโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแล้วนำไปโฮโมจีไนส์ให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจีไนเซอร์ (model X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็ว 22000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำสารละลายฟิล์มไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน แล้วจึงเติมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัด

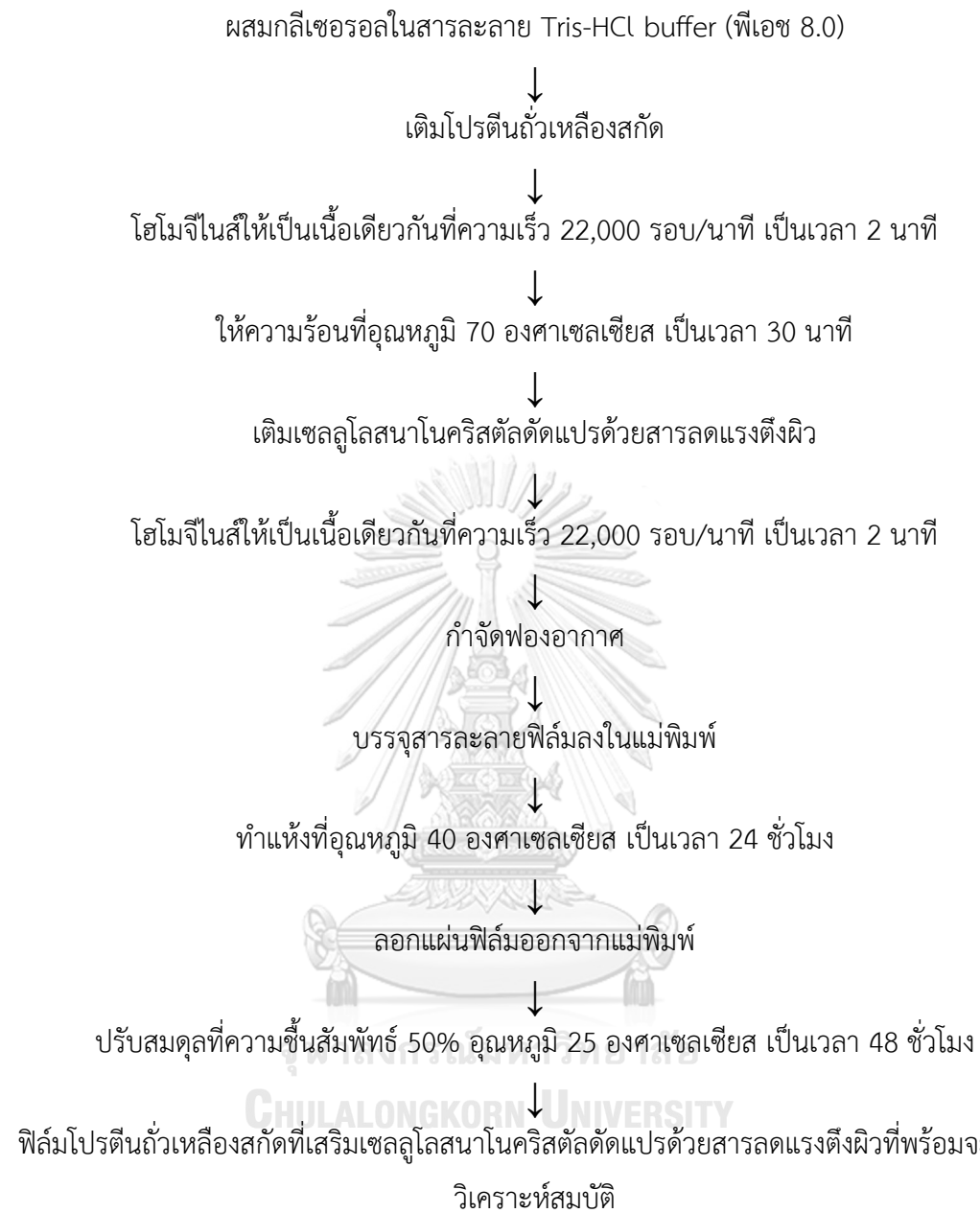
แปรด้วยสารลดแรงตึงผิวปริมาณ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม โฮโมจีไนส์ให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งโดยใช้ โฮโมจีไนเซอร์ (model X10/25, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) ที่ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปกำจัดฟองอากาศโดยใช้อ่างอัลตราโซนิก (model 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) เป็นเวลา 10 นาที สำหรับฟิล์มตัวอย่างควบคุมมีขั้นตอนการเตรียมเช่นเดียวกันแต่ไม่มีการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว

การขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มทำโดยปิเปตต์สารละลายฟิล์มปริมาตร 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในแม่พิมพ์อะคริลิกขนาด 15 เซนติเมตร × 15 เซนติเมตร นำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปปรับสมดุลในตู้ควบคุมความชื้นที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนนำตัวอย่างฟิล์มมาวิเคราะห์สมบัติ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทดลอง 3 ซ้ำ การวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์มมีดังนี้

3.3.1.2.1 ความหนา

วัดความหนาด้วยเครื่องมือวัดความหนา (model 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan) โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 10 เซนติเมตร สุ่มวัดความหนาของตัวอย่างฟิล์มชิ้นละ 15 จุด นำความหนาทั้ง 15 จุดมาคำนวณค่าเฉลี่ย นับเป็นความหนาของตัวอย่างฟิล์ม 1 ซ้ำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University




รูปที่ 3. 1 ขั้นตอนการเตรียมฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.1.2.2 สมบัติเชิงกล

ทดสอบแรงดึง (tensile test) โดยวัดความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มตามวิธีมาตรฐาน ASTM D882 (ASTM, 2009) ด้วยเครื่อง Texture Analyzer (model TA.XTplus, Stable Micro System, Godalming, UK) ซึ่งติดตั้งด้วยโหลดเซลล์ขนาด 1 กิโลกรัม และใช้หัววัด tensile grips (A/TG) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 10 เซนติเมตร ติดตั้งลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน โดยยึดจับด้านที่มีความกว้าง 3 เซนติเมตร กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 50 มิลลิเมตร ดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 8.33 มิลลิเมตร/วินาที จนกระทั่งแผ่นฟิล์มขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงชิ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นกรัม-แรง) และระยะทางที่สามารถดึงชิ้นตัวอย่างให้ยืดออกมาได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) คำนวณความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดโดยใช้สมการที่ (3.1) และ (3.2) ตามลำดับ

ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล) = $[F \times 0.009807 \times 10^{-6}]/w\ d$ .....(3.1)

เมื่อ F คือ แรงที่ใช้ในการดึงชิ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (กรัม-แรง)

w คือ ความกว้างของชิ้นตัวอย่าง (เมตร)

d คือ ความหนาของชิ้นตัวอย่าง (เมตร)

การยืดตัวถึงจุดขาด (%) = $L_f \times 100/L_i$ .....(3.2)

เมื่อ $L_f$ คือ ระยะทางที่สามารถดึงชิ้นตัวอย่างให้ยืดออกมาได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (มิลลิเมตร)

$L_i$ คือ ความยาวของชิ้นตัวอย่างระหว่างส่วนยึดจับก่อนดึง (มิลลิเมตร)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.1.2.3 ความโปร่งใส

วัดค่าความโปร่งใสของตัวอย่างฟิล์มตามวิธีมาตรฐาน ASTM D1746 (ASTM, 2015) ด้วยเครื่อง UV/Vis spectrophotometer (model GENESYS20, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) โดยความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 1 เซนติเมตร x 4 เซนติเมตร ติดตั้งแผ่นฟิล์มลงบนพื้นผิวด้านในของด้านที่แสงส่องผ่านของคิวเวตต์แก้วที่มีระยะแสงส่องผ่าน (light path length) เท่ากับ 1 เซนติเมตร กำหนดให้ร้อยละของแสงที่ส่องผ่านคิวเวตต์เปล่า (ใช้อากาศเป็นแบลงก์) มีค่าเท่ากับ 100

3.3.1.2.4 ค่าสี

วัดค่าสีในระบบ CIELAB ($L^*$, $a^*$, $b^*$) โดยใช้ Chroma Meter (model CR-400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมมอง 10 องศา โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 3 เซนติเมตร × 10 เซนติเมตร สุ่มวัดสีของตัวอย่างฟิล์มชิ้นละ 5 จุด นำค่าสีทั้ง 5 จุดมาคำนวณค่าเฉลี่ย นับเป็นค่าสีของตัวอย่างฟิล์ม 1 ซ้ำ จากนั้นนำค่า $L^*$, $a^*$, $b^*$ ที่ได้มาคำนวณมุมสี (hue angle) และความเข้มสี (chroma) ตามสมการที่ (3.3) และ (3.4)

มุมสี = $\arctan(b^*/a^*)$ .....(3.3)

ความเข้มสี = $(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ .....(3.4)

3.3.1.2.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM E96-95 (ASTM, 1999) โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 6 เซนติเมตร x 6 เซนติเมตร โดยตัวอย่างฟิล์มต้องปราศจากรูรั่วและรอยขีดข่วน นำซิลิกาเจลที่อบแห้งแล้วปริมาณ 20 กรัม บรรจุลงในขวดแก้วทรงกระบอก ทาซิลิโคนกรีสบริเวณปากขวด วางตัวอย่างฟิล์มปิดปากขวดให้แนบสนิท ขึงให้ตึง รัดด้วยยางวงแหวนและพันทับด้วยพาราฟิล์มรอบตำแหน่งยางวงแหวนอีกครั้งหนึ่ง นำขวดที่ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มแล้วไปชั่งและบันทึกเป็นน้ำหนักเริ่มต้น จากนั้นนำขวดที่ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มไปบรรจุไว้ในโถดูดความชื้นที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) บันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ คำนวณสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำโดยใช้สมการที่ (3.5)

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (กรัม เมตร/พาสคาล ชั่วโมง ตารางเมตร) = $\frac{\mathbf{W\,d}}{\mathbf{A\,t\,(P_2-P_1)}}$ .....(3.5)

เมื่อ W คือ น้ำหนักของขวดทดสอบที่เปลี่ยนแปลงไป (กรัม)

d คือ ความหนาของแผ่นฟิล์ม (เมตร)

A คือ พื้นที่หน้าตัดของแผ่นฟิล์มที่ไอน้ำผ่านได้ (ตารางเมตร)

t คือ เวลาที่น้ำหนักของขวดทดสอบคงที่ (ชั่วโมง)

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

3.3.1.2.6 มุมสัมผัส (contact angle) ระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

วัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Tang et al. (2005) โดยใช้ contact angle measuring instrument (model OCA15CE, Data Physics Instruments, Filderstadt, Germany) ตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 1 เซนติเมตร x 5 เซนติเมตร ติดตั้งบนแท่นวางตัวอย่าง แล้วหยดน้ำกลั่น 4 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าของแผ่นฟิล์ม วัดมุมของหยดน้ำที่สัมผัสกับผิวหน้าของแผ่นฟิล์ม สุ่มวัดมุมสัมผัสของตัวอย่างฟิล์มชิ้นละ 2 จุด นำมุมสัมผัสทั้ง 2 จุดมาคำนวณค่าเฉลี่ย นับเป็นค่ามุมสัมผัสของตัวอย่างฟิล์ม 1 ซ้ำ

3.3.1.2.7 ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility)

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำตามวิธีของ Perez-Gago and Krochta (2001) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 เซนติเมตร x 2 เซนติเมตร นำตัวอย่างฟิล์มและกระดาษกรอง Whatman เกรด 4 ไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (model 5200, Kubota, Fujioka, Japan) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างฟิล์มและกระดาษกรองมาชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักเริ่มต้นของตัวอย่างฟิล์มและกระดาษกรอง บรรจุตัวอย่างฟิล์มที่ชั่งน้ำหนักแล้วลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าอย่างต่อเนื่องโดยใช้เครื่องเขย่า (model INNOVA 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA ) ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำของผสมที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เกรด 4 ที่อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว ชะด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำกระดาษกรองและสิ่งที่ค้างอยู่บนกระดาษกรองไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก เมื่อหักน้ำหนักกระดาษกรองออกแล้วได้เป็นน้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มหลังอบ คำนวณความสามารถในการละลายน้ำโดยใช้สมการที่ (3.6)

ความสามารถในการละลายน้ำ (%) = $(W_i - W_f) \times 100/W_i$ .....(3.6)

เมื่อ $W_i$ คือ น้ำหนักตัวอย่างฟิล์มเริ่มต้น (กรัม)

$W_f$ คือ น้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มหลังอบ (กรัม)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.3.1.2.8 โครงสร้างระดับจุลภาค

ศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคของภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์ม โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) (model JSM-IT300, JEOL, Tokyo, Japan) เตรียมตัวอย่างโดยเก็บฟิล์มไว้ในโถดูดความชื้นที่มีซิลิกาเจลเป็นเวลา 7 วัน ตัดชิ้นฟิล์มให้มีความกว้าง 50 มิลลิเมตร จากนั้นตัดขวางตัวอย่างฟิล์มด้วยใบมีดโกนที่คมมาก ติดตั้งตัวอย่างบนแท่งทองเหลืองที่มีลักษณะเป็นร่องตั้งฉากกับพื้นผิวสำหรับติดตั้งตัวอย่าง นำไปฉาบด้วยทองและศึกษาลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางที่กำลังขยาย 5000 เท่า

คัดเลือกตัวอย่างฟิล์มที่เสริมด้วยนาโนเซลลูโลสดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุดมา 1 ตัวอย่างเพื่อศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสียูวีต่อไปในหัวข้อ 3.3.2

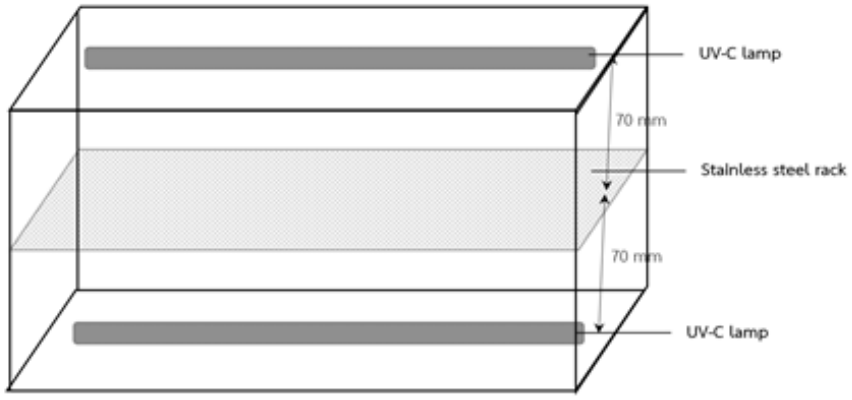
**3.3.2 ผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยยูวีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เสริมด้วยนาโนเซลลูโลสดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว**

นำตัวอย่างฟิล์มที่เสริมด้วยนาโนเซลลูโลสดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวที่คัดเลือกจากหัวข้อ 3.3.1 มาศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสียูวี เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ ฟิล์มตัวอย่างเดียวกันที่ไม่บ่มด้วยรังสียูวี

การบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสียูวีดัดแปลงจากวิธีของ Schmid et al. (2017) การบ่มด้วยยูวีทำใน UV cabinet (model UV45-10WX2, P Inter Supply, Bangkok, Thailand) ซึ่งโครงสร้างของตู้เป็นสเตนเลสสตีลทั้งหมดเพื่อป้องกันรังสีออกมาภายนอก ภายในตู้ประกอบด้วยหลอดยูวีที่ให้กำเนิดรังสี UV-C ที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร จำนวน 2 หลอด ติดตั้งอยู่ที่ผนังด้านบนและด้านล่าง โดยหลอดยูวีมีความยาวตลอดความยาวของผนังด้านบนและด้านล่าง ภายในตู้มีชั้นตะแกรงสำหรับวางตัวอย่างทำจากสเตนเลสสตีลจำนวน 1 ชั้น โดยระยะห่างของตำแหน่งที่วางแผ่นฟิล์มกับหลอดยูวีทั้งสองมีค่าเท่ากับ 70 มิลลิเมตร แบบจำลองของตู้บ่มยูวีแสดงดังรูปที่ 3.2 ก่อนเริ่มทดลองจะเปิดหลอดยูวีทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้แหล่งกำเนิดแสงอยู่ในสมดุลของอุณหภูมิและความดันซึ่งจะมีผลให้รังสีที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดมีความยาวคลื่นและความเข้มคงที่ ทำการทดลองโดยนำตัวอย่างฟิล์มไปวางบนชั้นวางตัวอย่าง ซึ่งแผ่นฟิล์มจะถูกบ่มด้วยรังสียูวีทั้งสองด้าน ความเข้มของรังสี UV-C (UV-C radiation intensity) ณ ตำแหน่งที่วางตัวอย่าง (บนชั้นวางตัวอย่างตรงกับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตำแหน่งของหลอดยูวี) ซึ่งวัดด้วย UV light meter (model SP-82UV Lutron Electronic Enterprise, Taipei, Taiwan) มีค่าเท่ากับ 18 ไมโครวัตต์/ตารางเซนติเมตร การแปรปริมาณรังสีดูดกลืนทำได้โดยแปรระยะเวลาในการฉายรังสี สำหรับการทดลองนี้แปรปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 6 ระดับ ได้แก่ 0.06, 0.19, 0.32, 0.45, 0.65 และ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ระยะเวลาที่ต้องใช้ในการฉายรังสีแสดงดังตารางที่ 3.1 หลังจากการฉายรังสีนำตัวอย่างฟิล์มไปปรับสมดุลในภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 50% อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์สมบัติตามหัวข้อ 3.3.1.2.1-3.3.1.2.8 นอกจากนี้ติดตามการเชื่อมข้ามไดไทโรซีนโดยใช้ฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี (fluorescence spectroscopy) การเชื่อมข้ามไอโซไดไทโรซีนโดยใช้ฟูเรียร์แทรนสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) และการเชื่อมข้ามของโปรตีนโดยใช้โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตพอลิอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟเรซิส (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) ตามหัวข้อ 3.3.2.1-3.3.2.3 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ




รูปที่ 3. 2 ภาพจำลองของตู้บ่มยูวี

ตารางที่ 3. 1 ปริมาณรังสีดูดกลืนและระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสียูวี

| ตัวอย่าง | ปริมาณรังสีดูดกลืน (จูล/ตารางเซนติเมตร) | ระยะเวลาฉายรังสี (ชั่วโมง) |
|---|---|---|
| Control | 0 | 0 |
| UV_0.06 | 0.06 | 1 |
| UV_0.19 | 0.19 | 3 |
| UV_0.32 | 0.32 | 5 |
| UV_0.45 | 0.45 | 7 |
| UV_0.65 | 0.65 | 10 |
| UV_1.56 | 1.56 | 24 |

**3.3.2.1 การติดตามการเชื่อมข้ามไดไทโรซีนด้วยฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี**

ติดตามการเปลี่ยนแปลงของความเข้มฟลูออเรสเซนส์ (flourescence intensity) ที่เกิดจากไดไทโรซีนโดยใช้สเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ (model FP-6200, Jasco, Tokyo, Japan) โดยใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น (excitation wavelength) ที่ 320 นาโนเมตร และติดตามฟลูออเรสเซนส์ที่ความยาวคลื่นปล่อยออกมา (emission wavelength) ในช่วง 400-420 นาโนเมตร (Al-Hilaly et al., 2016)

**3.3.2.2 การติดตามการเชื่อมข้ามไอโซไดไทโรซีนโดยใช้ FTIR**

ติดตามการเกิดไอโซไดไทโรซีนโดยใช้ FTIR (model Spectrum One, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) โดยวัดร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ในช่วงเลขคลื่น (wavenumber) ประมาณ 1040 เซนติเมตร$^{-1}$ ซึ่งชี้ว่ามีพันธะอีเธอร์และแสดงว่ามีการเกิดขึ้นของพันธะไอโซไดไทโรซีน (Carnes et al., 2020)

**3.3.2.3 การศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE**

ศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE โดยดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970) เปรียบเทียบรูปแบบของแถบโปรตีนของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวที่บ่มด้วยรังสียูวีและตัวอย่างควบคุมที่ไม่บ่มด้วยรังสียูวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

*การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีน*

เตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดยตัดตัวอย่างฟิล์มเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งมา 0.3 กรัม บรรจุลงใน sample buffer[2] ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอยู่ใน Eppendorf tube ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกที่ 12000×*g* อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ด้วย refrigerated micro-centrifuge (model 22R, Hettich, Buckinghamshire, UK) ที่ติดตั้งด้วย high speed angle rotor (model A1195-A, Hettich, Buckinghamshire, UK) เก็บส่วนใสเพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE ต่อไป

*การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน*

เตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนที่กล่าวด้านบน ยกเว้นสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ไม่มีส่วนประกอบของ bromophenol blue วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี modified Lowry (Peterson, 1983) เตรียมกราฟเทียบมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานของซีรัมอัลบูมินจากวัว (bovine serum albumin, BSA) โดยชั่ง BSA ปริมาณ 10 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตต์สารละลาย BSA ปริมาตรต่างๆ ลงใน Eppendorf tube แล้วใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1 มิลลิลิตร โดยให้ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 5-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เติม sodium deoxycholate เข้มข้น 0.15% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลาย tricholoroacetic acid เข้มข้น 72% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปเหวี่ยงแยกที่ 12000×*g* อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กำจัดส่วนใส นำตะกอนที่ได้มาเติมสารละลาย Reagent A[3] ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมจนตะกอนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

---

[2] Sample buffer ประกอบด้วย Tris-HCl เข้มข้น 0.5 โมลาร์, sodium dodecyl sulfate (SDS) เข้มข้น 10%, glycerol เข้มข้น 20%, 2-mercaptoethanol เข้มข้น 3.1% และ bromophenol blue เข้มข้น 1%

[3] Reagent A ประกอบด้วยสารละลาย 2 ส่วนผสมกันในอัตราส่วน 1:1 โดยสารละลายส่วนแรกประกอบด้วย sodium hydroxide เข้มข้น 0.8 นอร์มัล และ SDS เข้มข้น 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) สารละลายส่วนที่สองคือสารละลาย copper tartrate/carbonate (CTC) ซึ่งประกอบด้วย copper sulfate เข้มข้น 0.1% (น้ำหนัก/

จากนั้นเติมสารละลาย Reagent B[4] ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงก์ สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณของ BSA (กราฟมาตรฐานแสดงดังภาคผนวก ข.1)

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างฟิล์มด้วยทำเช่นเดียวกับการเตรียมกราฟเทียบมาตรฐาน แต่ใช้สารละลายตัวอย่างแทนการใช้สารละลาย BSA เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟเทียบมาตรฐานเพื่อคำนวณปริมาณโปรตีนของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้กราฟมาตรฐานที่แสดงในภาคผนวก ข.1

*การวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้ SDS-PAGE*

วิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE เริ่มจากเตรียมเจลโดยล้างแผ่นกระจกสำหรับหล่อเจลด้วยน้ำสะอาด จากนั้นชะด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วเช็ดด้วยเอทานอล ประกอบแผ่นกระจกด้านที่มีรอยเว้าเข้าด้านในของตัวเครื่อง gel electrophoresis system (model miniVE, Hoefer, Holiston, MA, USA) วางแผ่น spacer ที่มีความหนา 1 มิลลิเมตร คั่นไว้ที่ขอบทั้งสองด้าน ประกบกระจกอีกแผ่นเข้าหากัน จากนั้นติดตั้งเข้ากับตัวเครื่อง ปิเปตต์สารละลาย separating gel เข้มข้น 10% เติมลงในช่องระหว่างแผ่นกระจกอย่างช้าๆ เพื่อไม่ให้เกิดฟองอากาศ จนสารละลายอยู่ต่ำกว่าขอบบนของแผ่นกระจกที่มีรอยเว้าประมาณ 1.5 เซนติเมตร หยดบิวทานอลทับบริเวณผิวหน้า separating gel ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนกระทั่งเจลเซ็ตตัว ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณของสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม separating gel และ stacking gel

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

---

ปริมาตร), potassium tartrate เข้มข้น 0.2% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ sodium carbonate เข้มข้น 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร)

[4] Reagent B ประกอบด้วย Folin-Ciocalteu's phenol reagent และน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:5

ตารางที่ 3. 2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจลสำหรับการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE*

| สารเคมี | 10% Separating gel | 4.5% Stacking gel |
|---|---|---|
| Acrylamide stock solution, 30% | 6.7 มิลลิลิตร | 0.99 มิลลิลิตร |
| Separating gel buffer, 1.5 M (pH8.8) | 5 มิลลิลิตร | - |
| Stacking gel buffer, 0.5 M (pH6.8) | - | 1.87 มิลลิลิตร |
| Sodium dodecyl sulfate, 10% | 200 ไมโครลิตร | 74.25 ไมโครลิตร |
| Ammonium persulfate, 10% | 100 ไมโครลิตร | 37.58 ไมโครลิตร |
| TEMED | 6.7 ไมโครลิตร | 3.71 ไมโครลิตร |
| Distilled water | 8 มิลลิลิตร | 4.57 มิลลิลิตร |

*สำหรับเตรียมเป็นแผ่นเจลหนา 1 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น

เมื่อ separating gel เซ็ตตัวแล้ว เทบิวทานอลออก ชะด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ซับน้ำออกด้วยกระดาษกรอง จากนั้นปิเปตต์สารละลาย stacking gel เข้มข้น 4.5% (ตารางที่ 3.2) เติมลงในช่องว่างระหว่างแผ่นของกระจกจนถึงขอบกระจก จากนั้นเสียบ comb ลงบนช่องด้านบน ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงจนกระทั่ง stacking gel เซ็ตตัว จากนั้นถอด comb ออกจะเกิดช่องว่างสำหรับบรรจุตัวอย่าง ต่อ gel electrophoresis system เข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า เติม electrophoresis buffer[5] ลงใน chamber และช่องระหว่างแผ่นเจลจนสารละลายท่วมแผ่นเจล จากนั้นปิเปตต์สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (protein molecular weight marker) และสารละลายตัวอย่างที่มีโปรตีนปริมาณ 7 ไมโครกรัม บรรจุลงในช่องของแผ่นเจล ช่องละ 1 ตัวอย่าง ตั้งค่ากระแสไฟฟ้าเท่ากับ 40 มิลลิแอมแปร์ เปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้าจนกระทั่งสังเกตเห็นแถบโปรตีนเคลื่อนที่ห่างจากขอบล่างของแผ่นเจลประมาณ 0.5 เซนติเมตร จึงปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้า ถอดเครื่องกำเนิดไฟฟ้า แล้วแกะเจลออกจากกระจก นำแผ่นเจลมาแช่ใน staining solution[6] เป็น

[5] Electrophoresis buffer เตรียมโดยผสม Tris เข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 9.06 กรัม, glycine เข้มข้น 1.5% ปริมาณ 43.2 กรัม, SDS เข้มข้น 1% ปริมาณ 3 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 3000 มิลลิลิตร

[6] Staining solution ประกอบด้วย Coomassie blue R-250 ปริมาณ 1 กรัม, ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร, glacial acetic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร

เวลา 20 นาที จากนั้นนำไปแช่ใน destaining solution[7] จนแถบโปรตีนปรากฏขึ้น เทสารละลายทิ้ง แล้วล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น

### 3.3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V.22 for Windows® (SPSS, Chicago, IL, USA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (p=0.05) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

[7] Destaining solution ประกอบด้วย ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 250 มิลลิลิตร, glacial acetic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 650 มิลลิลิตร

# บทที่ 4
# ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

## 4.1 สมบัติของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว

การวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการเตรียมเซลลูโลสนาโนคริสตัลและดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ได้ด้วยสารลดแรงตึงผิว โดยแปรชนิดของสารลดแรงตึงผิวเป็น 2 ชนิด ได้แก่ กลีเซอรอลโมโน-สเทียเรต (glycerol monostearate, GMS) ซึ่งเป็น non-ionic surfactant และโซเดียมสเทียโรอิล แลกทิเลต (sodium stearoyl lactylate, SSL) ซึ่งเป็น anionic surfactant แปรความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม

สมบัติของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลและเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรมีค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค (z-average) อยู่ในช่วง 61.7-605 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับ Abdul Khalil et al. (2014) ที่รายงานว่าความยาวเฉลี่ยของเซลลูโลสนาโนคริสตัลอยู่ในช่วง 100-600 นาโนเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่นำมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นของการผลิตเซลลูโลส จากงานวิจัยนี้พบว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยสูงกว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ไม่ดัดแปร แม้ว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น 1% จะมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยไม่แตกต่างจากเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ไม่ดัดแปรอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามชนิดของสารลดแรงตึงผิวไม่มีผลต่อขนาดอนุภาคเฉลี่ยของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ($p>0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ศักย์ซีต้า (zeta potential) คือ ศักย์ไฟฟ้าที่ระนาบเลื่อน (slipping plane) ซึ่งอยู่ที่ผิวร่วม (interface) ที่แยกของไหลที่เคลื่อนที่ออกจากของไหลที่ติดอยู่กับผิว (surface) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าศักย์ซีต้าคือ ความต่างศักย์ระหว่างของไหลที่เคลื่อนที่และของไหลที่ติดอยู่กับผิว ศักย์ซีต้าเป็นดัชนีของเสถียรภาพของระบบคอลลอยด์ ค่าศักย์ซีต้าชี้ให้เห็นถึงระดับของแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) ระหว่างอนุภาคที่มีประจุเหมือนกัน ศักย์ซีต้าที่สูงจึงหมายถึงระบบคอลลอยด์ที่เสถียร Kumar, & Dixit (2017) จำแนกเสถียรภาพของระบบคอลลอยด์ตามศักย์ซีต้าดังนี้ หากศักย์ซีต้ามีค่ามากกว่า ±60 มิลลิโวลต์ หมายถึง ระบบคอลลอยด์มีเสถียรภาพสูงมาก หากศักย์ซีต้ามีค่าระหว่าง ±60 ถึง ±40 มิลลิโวลต์ หมายถึงระบบคอลลอยด์มีเสถียรภาพสูง หากศักย์ซีต้ามีค่า

ระหว่าง ±40 ถึง ±30 มิลลิโวลต์ หมายถึงระบบคอลลอยด์มีเสถียรภาพปานกลาง หากศักย์ซีต้ามีค่าระหว่าง ±30 ถึง ±10 มิลลิโวลต์ หมายถึงระบบคอลลอยด์เริ่มเกิดความไม่เสถียร และหากศักย์ซีต้ามีค่าระหว่าง ±5 ถึง 0 มิลลิโวลต์ หมายถึงระบบคอลลอยด์ที่ไม่เสถียร อนุภาคคอลลอยด์จะเกิดการรวมตัวกันเอง (self-aggregation) อย่างรวดเร็ว

ตารางที่ 4. 1 ขนาดอนุภาคและศักย์ซีต้าของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว

| ตัวอย่างเซลลูโลสนาโนคริสตัล | z-average ที่วัดได้ (นาโนเมตร) | | | ค่าเฉลี่ย (นาโนเมตร) | ศักย์ซีต้าที่วัดได้ (มิลลิโวลต์) | | | ค่าเฉลี่ย (มิลลิโวลต์) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| Unmodified | 61.9 | 62.4 | 60.8 | 61.7 ± 0.8$^{d}$ | -29.2 | -28.1 | -35.8 | -31.0 ± 4.2$^{f}$ |
| Modified with: | | | | | | | | |
| 1% GMS | 187.3 | 119.5 | 143.0 | 150.0 ± 34.4$^{d}$ | -42.1 | -42.5 | -41.8 | -42.1 ± 0.4$^{e}$ |
| 5% GMS | 461.7 | 378.5 | 288.2 | 376.0 ± 86.8$^{bc}$ | -44.1 | -43.7 | -44.4 | -44.1 ± 0.4$^{e}$ |
| 10% GMS | 653.0 | 516.7 | 304.4 | 491.0 ± 176.0$^{ab}$ | -69.8 | -71.6 | -68.2 | -69.9 ± 1.7$^{b}$ |
| 1% SSL | 70.4 | 64.6 | 70.4 | 67.4 ± 2.9$^{d}$ | -67.9 | -65.4 | -64.4 | -56.4 ± 2.0$^{d}$ |
| 5% SSL | 251.5 | 258.1 | 150.7 | 220.0 ± 60.2$^{cd}$ | -57.3 | -54.2 | -57.8 | -65.9 ± 1.8$^{c}$ |
| 10% SSL | 484.9 | 830.2 | 500.4 | 605.0 ± 195.0$^{a}$ | -84.6 | -82.1 | -86.7 | -84.5 ± 2.3$^{a}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ศักย์ซีต้าของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวที่เตรียมขึ้นในงานวิจัยนี้แสดงในตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลและเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีประจุที่ผิวของอนุภาคเป็นลบ จึงเกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิตซึ่งจะช่วยป้องกันการรวมตัวกัน โดยเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ไม่ดัดแปรมีศักย์ซีต้าเท่ากับ -31.0 มิลลิโวลต์ ในขณะที่เซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีศักย์ซีต้าที่สูงกว่า และศักย์ซีต้าของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น โดยเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ดัดแปรด้วย GMS และ SSL เข้มข้น 10% ของของแข็งโดยรวมมีศักย์ซีต้าสูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ -69.9 และ -84.5 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ซึ่งเมื่อจำแนกด้วยเกณฑ์ของ

Kumar, & Dixit (2017) จัดได้ว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเข้มข้น 10% มีเสถียรภาพที่สูงมาก

ประจุลบบนผิวของเซลลูโลสนาโนคริสตัลเป็นผลมาจากกระบวนการไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดซัลฟูริกซึ่งทำให้มีหมู่ซัลเฟตเอสเทอร์บนผิวของเซลลูโลสนาโนคริสตัล (Dong, & Gray, 1997; Wang et al., 2019) สำหรับการดัดแปรผิวของเซลลูโลสนาโนคริสตัลด้วยสารลดแรงตึงผิว Prathapan et al. (2016), Tardy et al. (2017) และ de Souza et al. (2020) เสนอว่าการดูดซับของสารลดแรงตึงผิวบนนาโนเซลลูโลสเกิดจากอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างหมู่ที่ไม่ชอบน้ำของสารลดแรงตึงผิวกับส่วนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำของนาโนเซลลูโลส ด้านที่มีสมบัติชอบน้ำของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิว (หมู่ที่มีขั้วหรือหมู่ที่มีประจุ) จะหันออกด้านนอก การดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลด้วยสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ เช่น SSL จึงทำให้ประจุลบบนผิวของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรมีค่าเพิ่มขึ้น สำหรับเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ดัดแปรด้วย GMS ยังคงพบว่าศักย์ซีต้ามีค่าเป็นลบเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ไม่ดัดแปร แม้ว่า GMS จะเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดนอน-ไอออนิก ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการยึดเหนี่ยวระหว่างหมู่ที่ไม่มีขั้วด้วยแรงลอนดอน (London dispersion force) ทำให้อิเล็กตรอนของอะตอมที่เกี่ยวข้องเกิดการผลักกันและทำให้เกิดการกระจายตัวของประจุใหม่ (redistribution of charge) ที่ไม่สมดุล กล่าวคือตำแหน่งที่มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูงจะมีประจุเป็นลบ ($\delta^-$) ในขณะที่ตำแหน่งที่มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนต่ำจะมีประจุเป็นบวก ($\delta^+$) ทำให้เกิดสภาพไดโพลชั่วคราวขึ้น (instantaneous or temporary dipole)

ในขั้นตอนนี้จึงคัดเลือกเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวที่มีเสถียรภาพสูงสุด ซึ่งได้แก่ เซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย GMS และ SSL เข้มข้น 10% เพื่อนำไปใช้ในการเตรียมเป็นฟิล์มคอมพอสิตต่อไปในหัวข้อ 4.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**4.2 ผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง**

ในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยแปรปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม กำหนดให้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเป็นตัวอย่างควบคุม ผลการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์มมีดังนี้

**4.2.1 ความหนา**

ความหนาของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่าฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีความหนาสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และความหนาของฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามความหนาของฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรในปริมาณที่ต่างกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยความหนาของฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรมีค่าอยู่ในช่วง 0.137-0.144 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4. 2 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว (%โดยน้ำหนักของสารละลาย) | ความหนา (มิลลิเมตร) |
|---|---|---|
| Control | 0 | $0.121 \pm 0.012^{b}$ |
| With GMS-modified CNC | 5 | $0.137 \pm 0.013^{a}$ |
| | 10 | $0.139 \pm 0.006^{a}$ |
| | 15 | $0.143 \pm 0.003^{a}$ |
| With SSL-modified CNC | 5 | $0.139 \pm 0.014^{a}$ |
| | 10 | $0.142 \pm 0.002^{a}$ |
| | 15 | $0.144 \pm 0.003^{a}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b] ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ความหนาของฟิล์มที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้นนี้ อาจเนื่องมาจากปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Reddy, & Rhim (2014) ซึ่งศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ผลิตจากเยื่อปอสา (paper mulberry pulp) ในฟิล์มอะการ์ โดยแปรปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลในช่วง 1-10% โดยน้ำหนักของอะการ์ ซึ่งผู้วิจัยพบว่าความหนาของฟิล์มคอมพอสิตมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Oun, & Rhim (2015) ที่พัฒนา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

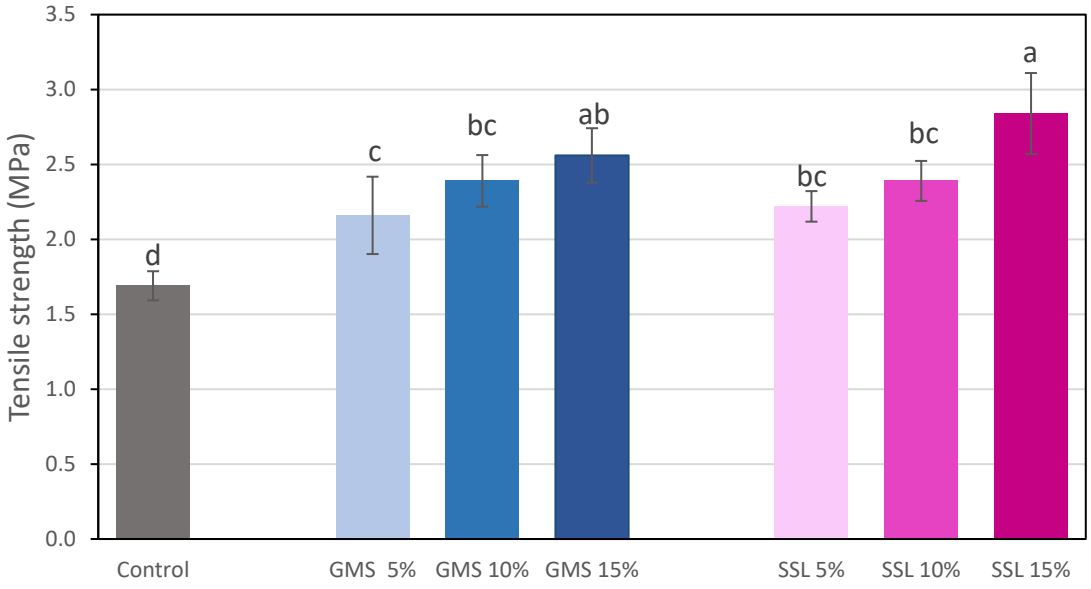
ฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ผลิตจากเยื่อปุยฝ้าย (cotton linter pulp) โดยแปรปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลในช่วง 1-10% โดยน้ำหนัก พบว่าฟิล์มที่ได้มีความหนาเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Qazanfarzadeh, & Kadivar (2016) ก็พบว่าฟิล์มเวย์โปรตีนเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ผลิตจากแกลบข้าวโอ๊ต (oat husk) มีความหนาเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเพิ่มขึ้นในช่วง 0-7.5%

**4.2.2 สมบัติเชิงกล**

ความต้านทานแรงดึงขาดของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.1 พบว่าการเสริมเซลลูโลส นาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวสามารถปรับปรุงความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวทุกตัวอย่างมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดมีค่าเพิ่มขึ้น ในแง่ชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลพบว่าไม่มีผลต่อค่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มคอมพอสิต ($p > 0.05$)

จากงานวิจัยนี้พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL โดยเสริมในปริมาณ 15% มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุดโดยมีค่าเท่ากับ 2.84 ± 0.27 เมกะพาสคาล ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุม (ความต้านทานแรงดึงขาดเท่ากับ 1.69 ± 0.10 เมกะพาสคาล) ถึง 68.0% ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากความแข็งแรงของเซลลูโลสนาโนคริสตัลเอง โดยในการผลิตไมโครคริสตัลลีนเซลลูโลสและเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีการใช้กรดกำจัดส่วนที่เป็นอสัณฐาน โครงสร้างจึงประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึกสูงและมีความแข็งแรงสูง นอกจากนี้นาโนคริสตัลซึ่งมีขนาดเล็กและได้รับการดัดแปรผิวด้วยสารลดแรง ตึงผิวทำให้สามารถกระจายตัวได้ดีในเมทริกซ์ของฟิล์ม จึงทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงเชิงกลที่ดี

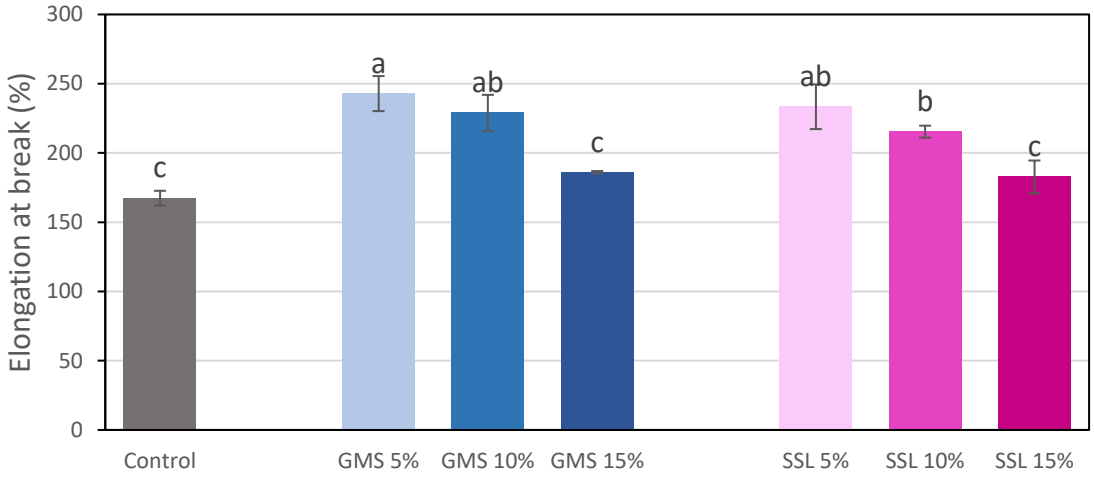
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY




รูปที่ 4. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

การยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.2 พบว่าฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีการยืดตัวถึงจุดขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวในปริมาณ 15% ที่แม้ว่าจะมีการยืดตัวถึงจุดขาดสูงกว่าตัวอย่างควบคุม แต่ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มขึ้น การยืดตัวถึงจุดขาดมีแนวโน้มลดต่ำลง โดยฟิล์มที่เสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย GMS และ SSL โดยเสริมในปริมาณ 15% มีการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 186.03 ± 0.92 และ 182.67 ± 11.87% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบฟิล์มที่เสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย GMS และ SSL พบว่าชนิดของสารลดแรงตึงผิวไม่มีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มคอมพอสิต ($p > 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University




รูปที่ 4. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Sukyai et al. (2018) ซึ่งพบว่าการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลทำให้ฟิล์มเวย์โปรตีนมีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นและการยืดตัวถึงจุดขาดลดลง ซึ่งผู้วิจัยอธิบายว่าความต้านทานแรงดึงขาดที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากการที่หมู่ข้างของกรดอะมิโนในโปรตีนเกิดพันธะไฮโดรเจนกับเซลลูโลสนาโนคริสตัล ยิ่งไปกว่านั้นการกระจายตัวที่ดีของเซลลูโลสนาโนคริสตัลในเมทริกซ์ของฟิล์มทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างกันได้ดีขึ้น ในด้านการยืดตัวถึงจุดขาดที่ลดลงผู้วิจัยให้เหตุผลว่าโครงสร้างแบบผลึกที่แข็งแรงของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเซลลูโลสนาโนคริสตัลกับโปรตีน ทำให้การยืดหยุ่นของฟิล์มลดลง

ในทำนองเดียวกัน Qazanfarzadeh, & Kadivar (2016) ศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลในฟิล์มเวย์โปรตีน โดยแปรปริมาณในช่วง 2.5-7.5% พบว่าฟิล์มที่เสริมเซลลูโลส นาโนคริสตัลในปริมาณ 5.0% มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงที่สุด โดยมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลถึง 93% ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง ผู้วิจัยอธิบายในทำนองเดียวกันว่าความต้านทานแรงดึงขาดที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากโครงสร้างที่แข็งแรงของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและการกระจายตัวที่ดีของเซลลูโลสนาโนคริสตัลในเมทริกซ์ของฟิล์ม รวมถึงการเกิดอันตรกิริยาภายในเมทริกซ์ของฟิล์มทำให้จำกัดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลพอลิเมอร์ จึงเกิด

โครงสร้างที่แน่นขึ้น ปริมาตรอิสระลดลง และทำให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่นลดลง อย่างไรก็ตามในงานวิจัยดังกล่าวพบว่าเมื่อปริมาณเซลลูโลส นาโนคริสตัลเพิ่มขึ้นสูงกว่า 5.0% ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มกลับมีค่าลดลง โดยผู้วิจัยอธิบายว่าอาจเนื่องมาจากเซลลูโลสนาโนคริสตัลเกิดการรวมตัวกันเอง สมบัติเชิงกลของฟิล์มจึงด้อยลง

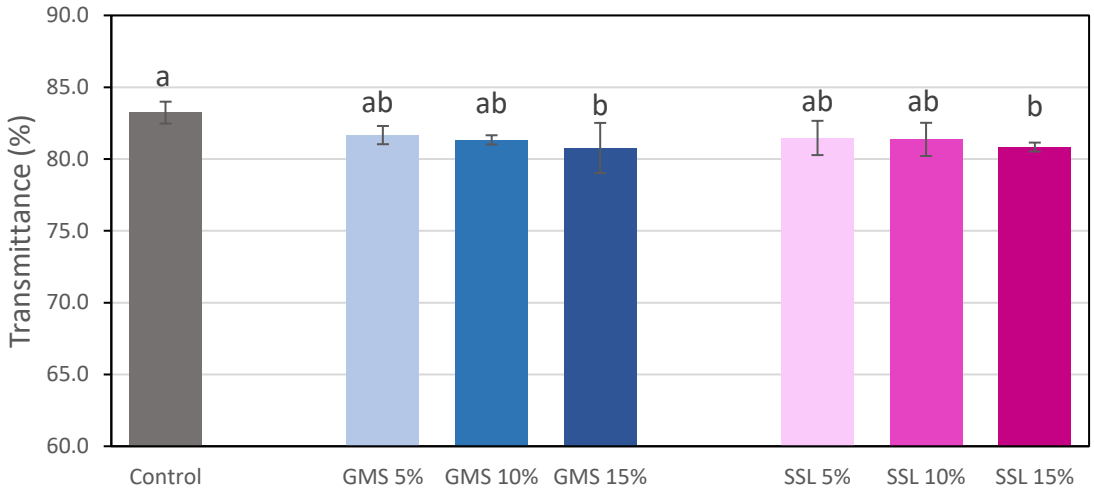
นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่เสริมความแข็งแรงของฟิล์มด้วยเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ โดย González et al. 2019 พัฒนาฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ที่ผลิตจากเปลือกเมล็ดถั่วเหลือง โดยแปรปริมาณของเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์เป็น 10, 20 และ 40% พบว่าการเสริมเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์ทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงมากขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากการเกิดอันตรกิริยาที่แข็งแรงระหว่างเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์กับโปรตีน ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลงเมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนไฟเบอร์เพิ่มขึ้น

**4.2.3 ความโปร่งใส**

ความโปร่งใสของฟิล์มมีผลโดยตรงต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ ความโปร่งใสของตัวอย่างฟิล์มซึ่งแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านแสดงดังรูปที่ 4.3 พบว่าการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีผลค่อนข้างน้อยต่อความโปร่งใสของฟิล์ม โดยฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรในปริมาณ 5 และ 10% มีค่าร้อยละของแสงส่องผ่านไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) ในขณะที่ฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรในปริมาณ 15% มีค่าร้อยละของแสงส่องผ่านต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ($p\leq0.05$) เมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น ร้อยละของแสงส่องผ่านมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่เตรียมขึ้นในงานวิจัยนี้มีค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 61.7-605 นาโนเมตร (หัวข้อ 4.1) ซึ่งตามทฤษฎีแล้วอนุภาคที่จะไม่มีผลต่อความขุ่นของสารแขวนลอยได้แก่อนุภาคที่มีขนาดไม่เกิน 1/10 ของความยาวคลื่นของแสงตกกระทบ (incident light) (Anonymous, 2020) ซึ่งความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์ความโปร่งใสของฟิล์มในการทดลองนี้คือ 500 นาโนเมตร ดังนั้นการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวจึงยังคงมีผลต่อความโปร่งใสของฟิล์ม นอกจากนี้เมื่อปริมาณของเซลลูโลส นาโนคริสตัลดัดแปรสูงขึ้นอาจเกิดการรวมตัวกัน (Ma et al., 2016) ซึ่งอนุภาคที่มีขนาดใหญ่จะทำให้เกิดการกระเจิงแสง (light scattering) ไปในทิศทางด้านหน้า (forward direction) มากกว่าทิศทางอื่น ต่างจากอนุภาคขนาด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เล็กที่ทำให้เกิดการกระเจิงแสงในทุกทิศทางเท่าๆ กัน (omnidirection) อนุภาคขนาดใหญ่จึงทำให้เกิดความขุ่นของสารแขวนลอย (Anonymous, 2020)




รูปที่ 4. 3 ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Qazanfarzadeh, & Kadivar (2016) ซึ่งรายงานว่าความโปร่งใสของฟิล์มเวย์โปรตีนที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีค่าลดลงเมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผู้วิจัยอธิบายว่าความโปร่งใสที่ลดลงเนื่องมาจากการกระเจิงแสงของอนุภาคเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่กระจายอยู่ในเมทริกซ์ของฟิล์ม

Pereda et al. (2011) ศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลต่อความโปร่งใสของฟิล์มโซเดียมเคซีเนต โดยแปรปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเป็น 1, 2 และ 3% โดยน้ำหนัก พบว่าความโปร่งใสของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเพิ่มขึ้น โดยผู้วิจัยให้เหตุผลว่าความขุ่นของฟิล์มที่เพิ่มขึ้น เกิดจากการกระเจิงแสงของอนุภาคเซลลูโลสนาโนคริสตัล ในทำนองเดียวกัน Sukyai et al. (2018) รายงานว่าฟิล์มเวย์โปรตีนเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีร้อยละของแสงส่องผ่านลดลงเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเพิ่มขึ้น

**4.2.4 ค่าสี**

ค่าสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวแสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าตัวอย่างควบคุมมีความสว่าง (*L**) สูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 84.76 และฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีค่า *L** ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรและชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ดัดแปรไม่มีผลต่อค่า *L** ของฟิล์ม ในขณะที่ค่าสีเขียว (*-a**) มีแนวโน้มลดลง และค่าสีเหลือง (*+b**) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มขึ้น

สำหรับมุมสีและความเข้มสี พบว่ามุมสีของฟิล์มทุกตัวอย่างรวมทั้งตัวอย่างควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยฟิล์มทุกตัวอย่างมีมุมสีประมาณ 100 องศา ซึ่งใกล้เคียงกับมุม 90 องศาซึ่งเป็นค่ามุมสีของสีเหลือง (Mclellan et al., 1994) การเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรทำให้มุมสีเข้าใกล้ 90 องศามากขึ้น สำหรับความเข้มสีพบว่าเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มขึ้น ความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 4. 3 ค่าสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม

| ตัวอย่างฟิล์ม | ค่าสีในระบบ CIELAB | | | มุมสี (องศา)[ns] | ความเข้มสี |
|---|---|---|---|---|---|
| | *L** | *a** | *b** | | |
| Control | 84.76 ± 0.03[a] | -3.22 ± 0.05[c] | 11.15 ± 0.15[e] | 106.05 ± 0.03 | 11.61 ± 0.16[e] |
| GMS 5% | 83.31 ± 0.19[b] | -2.98 ± 0.18[bc] | 11.75 ± 0.21[cd] | 104.20 ± 0.60 | 12.12 ± 0.25[cd] |
| GMS 10% | 83.71 ± 0.69[b] | -2.88 ± 0.31[bc] | 12.04 ± 0.16[bc] | 103.39 ± 1.25 | 12.38 ± 0.23[bc] |
| GMS 15% | 83.70 ± 0.36[b] | -2.56 ± 0.32[ab] | 12.67 ± 0.12[a] | 101.40 ± 1.48 | 12.93 ± 0.07[a] |
| SSL 5% | 83.90 ± 0.37[b] | -2.72 ± 0.03[ab] | 11.50 ± 0.38[de] | 103.26 ± 0.49 | 11.82 ± 0.37[de] |
| SSL 10% | 83.69 ± 0.34[b] | -2.61 ± 0.32[ab] | 12.35 ± 0.26[ab] | 101.87 ±1.29 | 12.62 ± 0.30[ab] |
| SSL 15% | 83.77 ± 0.75[b] | -2.39 ± 0.06[a] | 12.53 ± 0.32[a] | 100.76 ±0.30 | 12.76 ± 0.32[ab] |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

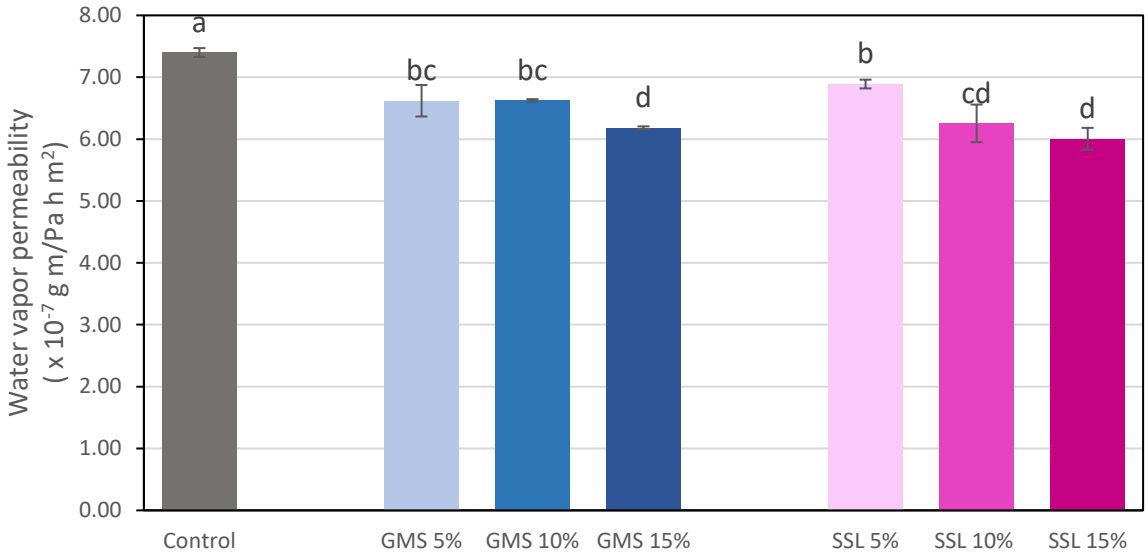
[a, b, c,...] ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

[ns] ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

**4.2.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ**

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวแสดงดังรูปที่ 4.4 พบว่าฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำมีค่าลดลงเมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มขึ้น สมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำที่ดีขึ้นของฟิล์มนี้อาจเนื่องมาจากการกระจายตัวที่ดีของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรในเมทริกซ์ของฟิล์ม ประกอบกับความเป็นผลึกที่สูงของเซลลูโลสนาโนคริสตัล ทำให้เกิดช่องทางคดเคี้ยว (tortuous path) ภายในเมทริกซ์ของฟิล์ม ส่งผลให้ไอน้ำเคลื่อนที่ผ่านได้ในอัตราที่ช้าลง ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Fortunati et al. (2012) ซึ่งศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว Beycostat™ A B09 ต่อสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของฟิล์มคอมพอสิตพอลิแลกติกแอซิด โดยในงานวิจัยดังกล่าวแปรปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็น 2 ระดับ ได้แก่ 1 และ 5% โดยน้ำหนัก พบว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีการกระจายตัวที่ดีในฟิล์ม โดยฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวปริมาณ 1 และ 5% มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง 34 และ 15% เมื่อ

เทียบกับฟิล์มพอลิแลกติกแอซิดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ผู้วิจัยอธิบายว่าการเสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีผลเพิ่มความคดเคี้ยวของช่องทางที่ไอน้ำสามารถเคลื่อนที่ผ่าน ส่งผลให้ฟิล์มสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น




รูปที่ 4. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Han et al. (2018) ศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง โดยแปรปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเป็น 2, 4, 6 และ 8% พบว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลในปริมาณ 6% มีค่าลดลง 27.2% เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ผู้วิจัยอธิบายว่าที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากการกระจายตัวของเซลลูโลสนาโนคริสตัลซึ่งมีความเป็นผลึกสูงในเมทริกซ์ของฟิล์มทำให้เกิดช่องทางคดเคี้ยวซึ่งกีดขวางการแพร่ของไอน้ำ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยดังกล่าวพบว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำกลับมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเท่ากับ 8% โดยผู้วิจัยอธิบายว่าการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลใน

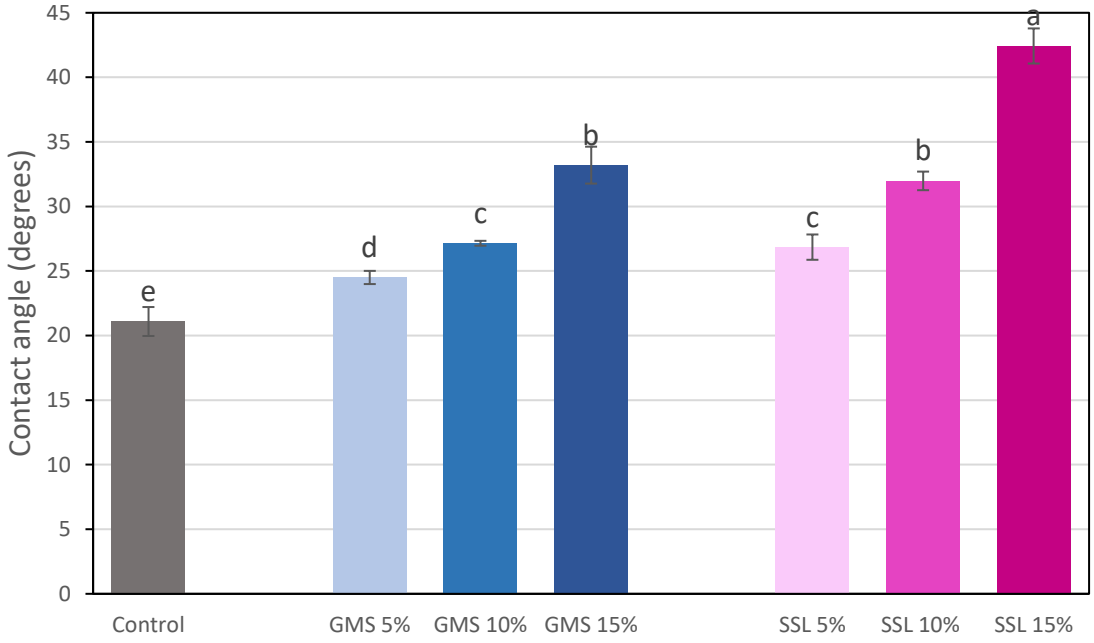
ปริมาณสูงอาจทำให้เกิดโครงสร้างที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกันของฟิล์ม ซึ่งเป็นเหตุมาจากการรวมตัวกันของเซลลูโลสนาโนคริสตัล

**4.2.6 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม**

มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเป็นวิธีการหนึ่งในการวัดความสามารถในการเปียก (wettability) ของผิว โดยศึกษาลักษณะการแผ่ขยายของหยดของเหลวที่อยู่บนผิวฟิล์ม ซึ่งจะบ่งบอกถึงสมบัติความชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำของผิวฟิล์ม ถ้าหากผิวฟิล์มมีสมบัติชอบน้ำ การแผ่ขยายของหยดน้ำบนผิวฟิล์มจะเกิดขึ้นมากเนื่องจากแรงตึงผิวที่ต่ำ ทำให้ค่ามุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าต่ำ ในทางกลับกับหากผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำ การแผ่ขยายของหยดน้ำบนผิวฟิล์มจะเกิดขึ้นได้น้อยหรือแทบไม่มีเลยเนื่องจากแรงตึงผิวที่สูงจึงสามารถคงรูปเป็นหยดน้ำไว้ได้ ทำให้ค่ามุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าสูง (Dwivedi, 2017) โดยที่ถ้าค่ามุมสัมผัสเท่ากับ 0 องศา แสดงว่าผิวนั้นเปียกโดยสมบูรณ์ (complete wetting) ถ้าค่ามุมสัมผัสอยู่ระหว่าง 0 ถึง 90 องศา แสดงว่าผิวนั้นมีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic surface) ถ้ามุมสัมผัสมีค่ามากกว่า 90 องศา แสดงว่าผิวนั้นมีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic surface) และมุมสัมผัสที่มีค่ามากกว่า 150 องศา เป็นลักษณะของผิวที่ไม่ชอบน้ำยิ่งยวด (superhydrophobic surface)

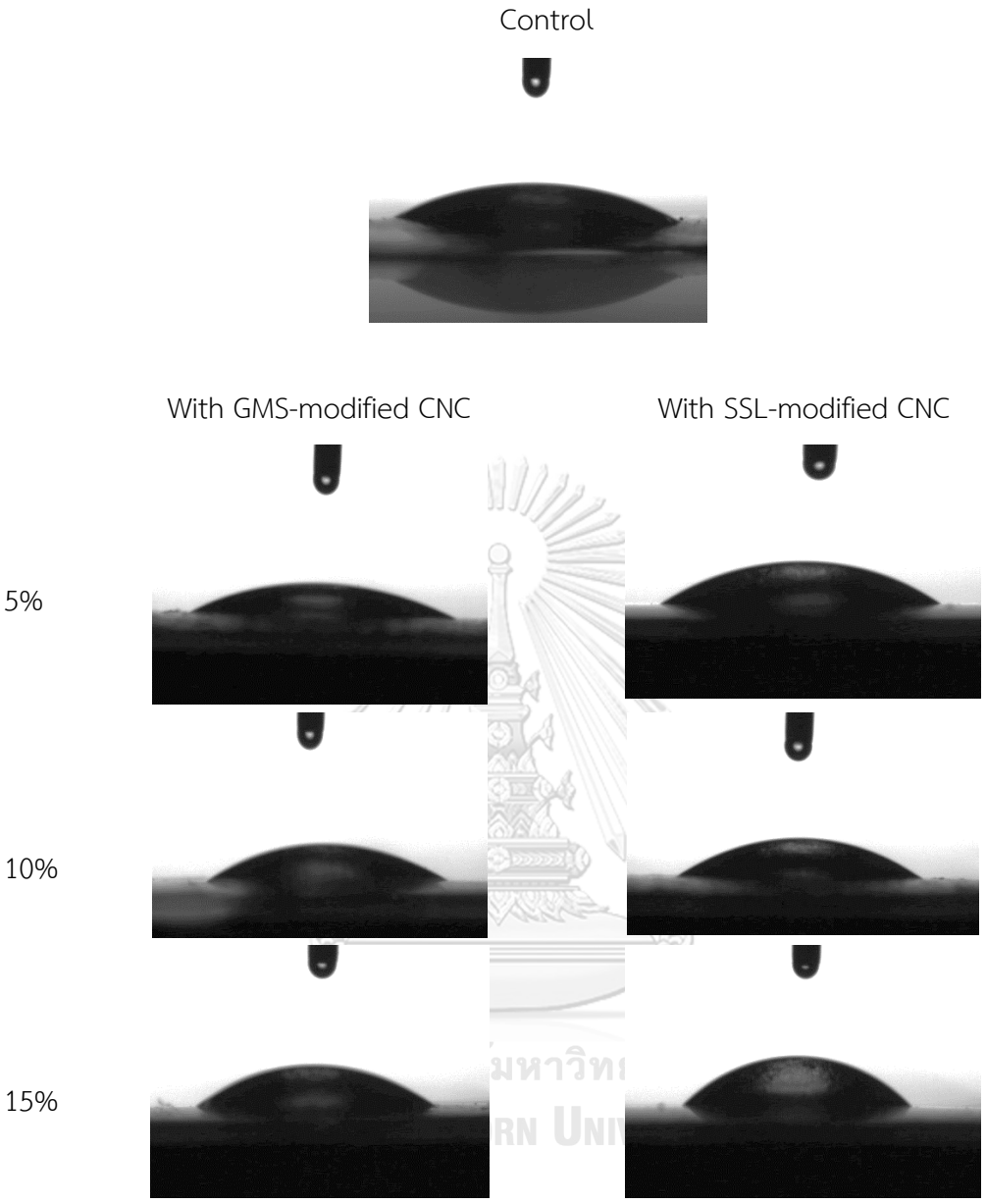
ค่ามุมสัมผัสและภาพถ่ายมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.5 และ 4.6 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่ามุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยตัวอย่างควบคุมมีมุมสัมผัสเท่ากับ 21.09 ± 1.12 องศา แสดงถึงผิวที่มีสมบัติชอบน้ำ ซึ่งเกิดจากหมู่เคมีที่ชอบน้ำของทั้งโปรตีนถั่วเหลืองและกลีเซอรอลที่ใช้เป็นพลาสติไซเซอร์ เมื่อปริมาณของเซลลูโลส นาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มสูงขึ้น มุมสัมผัสมีค่าสูงขึ้นด้วย โดยฟิล์มที่เติมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย GMS และ SSL ในปริมาณ 15% มีมุมสัมผัสเท่ากับ 33.2 ± 1.43 และ 42.3 ± 1.36 องศา ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มมากขึ้น ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรมีโครงสร้างส่วนใหญ่เป็นผลึก ซึ่งแม้ว่าเซลลูโลสจะประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซีจำนวนมาก แต่หมู่ ไฮดรอกซีส่วนใหญ่ในโครงสร้างแบบผลึกเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันด้วยพันธะไฮโดรเจน จึงมีหมู่ไฮดรอกซีอิสระที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้เหลืออยู่น้อย นอกจากนี้เซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรยังอาจเกิดอันตรกิริยากับหมู่ไฮดรอกซีและคาร์บอกซีที่มีสมบัติชอบน้ำของโปรตีนถั่วเหลือง จึงทำให้ปริมาณของหมู่ที่มีสมบัติชอบน้ำลดลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY




รูปที่ 4. 5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University




รูปที่ 4. 6 ภาพถ่ายมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS-modified CNC) และที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL-modified CNC) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร

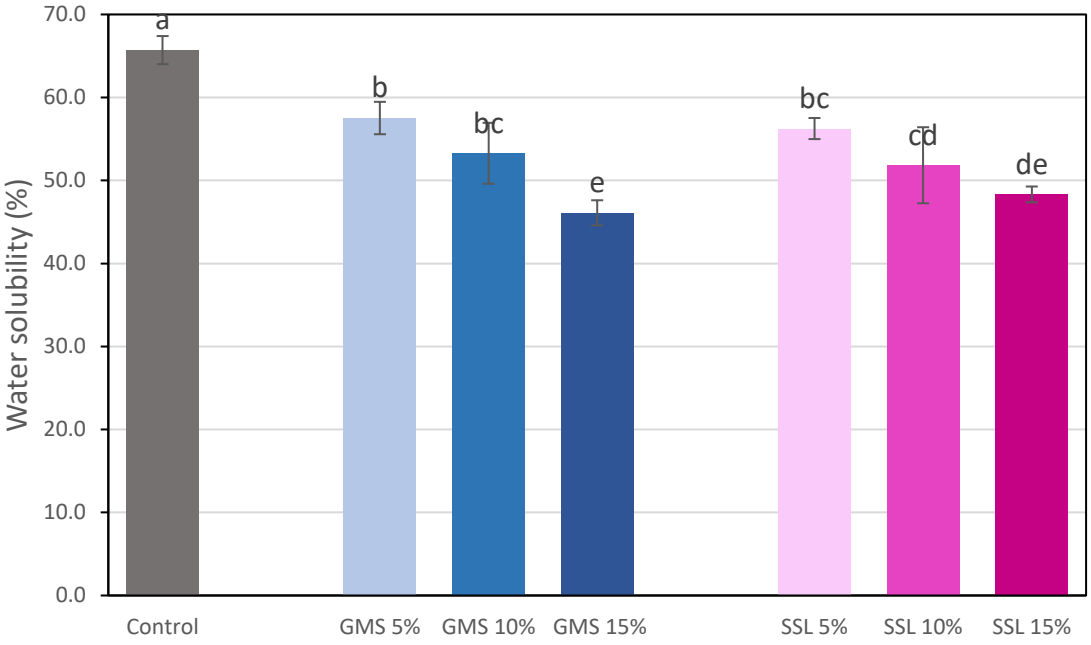
เมื่อเปรียบเทียบระหว่างฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย GMS และ SSL พบว่าฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL มีค่ามุมสัมผัสสูงกว่าฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย GMS ในปริมาณที่เท่ากัน ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL มีศักย์ซีต้าที่สูงกว่า จึงมีการกระจายตัวได้ดีกว่า ส่งผลให้ผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำมากกว่า

Abdollahi et al. (2013) ศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลในฟิล์มแอลจิเนต โดยเสริมในปริมาณ 1, 3, 5 และ 10% พบว่ามุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มแอลจิเนตที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีค่าเท่ากับ 40.7± 2.4 องศา เมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเพิ่มสูงขึ้นมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มยิ่งมีค่ามากขึ้น โดยฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลปริมาณ 10% มีค่ามุมสัมผัสสูงถึง 80.8 ± 7.28 องศา ผู้วิจัยอธิบายว่าสาเหตุที่ฟิล์มแอลจิเนตเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีผิวที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำมากขึ้นเป็นผลมาจากความเป็นผลึกที่สูงของเซลลูโลสนาโนคริสตัล ในทำนองเดียวกัน Cao et al. (2008) รายงานว่าเมื่อเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ผลิตจากป่าน (flax) ลงในฟิล์มสตาร์ช มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าสูงขึ้น

**4.2.7 ความสามารถในการละลายน้ำ**

รูปที่ 4.7 แสดงความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์ม พบว่าการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีผลทำให้ฟิล์มคอมพอสิตมีความสามารถในการละลายน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 65.70 ± 1.70% เมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มสูงขึ้นความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มลดต่ำลง โดยฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย GMS และ SSL ในปริมาณ 15% มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 46.10 ± 1.51 และ 48.32 ± 0.95% ตามลำดับ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นอย่างมากในโครงสร้างแบบผลึกของเซลลูโลสนาโนคริสตัลทำให้เกิดโครงสร้างที่เป็นระเบียบและหนาแน่นซึ่งน้ำผ่านเข้าไปได้ยาก นอกจากนี้การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนและเซลลูโลสนาโนคริสตัลทำให้ปริมาณหมู่เคมีที่ชอบน้ำมีปริมาณลดลง จึงทำให้ฟิล์มละลายน้ำได้น้อยลง อย่างไรก็ตามพบว่าชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY




รูปที่ 4. 7 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลส นาโนคริสตัลดัดแปร ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rafieian et al. (2014) ที่ศึกษาการเติมคาร์บอกซิเลเตดเซลลูโลสนาโนคริสตัล (carboxylated cellulose nanocrystal) ในฟิล์มกลูเตน พบว่าการเติมคาร์บอกซิเลเตดเซลลูโลสนาโนคริสตัลในปริมาณที่มากขึ้น ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มกลูเตนลดต่ำลง ซึ่งผู้วิจัยอธิบายว่าเกิดจากความเป็นผลึกที่สูงของเซลลูโลสนาโนคริสตัลและการเกิดพันธะไฮโดรเจนและแรงไดโพล-ไดโพลระหว่างโปรตีนและหมู่ไฮดรอกซีของเซลลูโลสนาโนคริสตัล ส่งผลให้มีการยึดเกาะกันในเมทริกซ์ของฟิล์มมากขึ้น นอกจากนี้ Abdollahi et al. (2013) รายงานในทำนองเดียวกันว่าการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลในฟิล์มแอลจิเนตส่งผลให้ความสามารถในการละลายน้ำลดต่ำลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยตัวอย่างควบคุมมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 99.55% ในขณะที่ฟิล์มแอลจิเนตที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลในปริมาณ 10% มีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 58.97% ผู้วิจัยอธิบายว่าความสามารถในการละลายน้ำที่ลดลงของฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโคริสตัลมีสาเหตุหลักมาจากการเกิดพันธะไฮโดรเจน

ที่แข็งแรงระหว่างหมู่ไฮดรอกซีของเซลลูโลสนาโนคริสตัลกับหมู่ไฮดรอกซีและคาร์บอกซีของแอลจิเนต จึงเพิ่มความแข็งแรงให้แก่เมทริกซ์ของไบโอพอลิเมอร์ ในขณะที่ลดความสามารถในการเกิดอันตรกิริยากับน้ำ

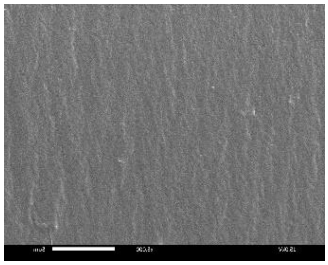
**4.2.8 โครงสร้างระดับจุลภาค**

จากการศึกษาโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.8 พบว่าตัวอย่างควบคุมมีโครงสร้างภาคตัดขวางที่เรียบ แน่น และค่อนข้างเป็นเนื้อเดียวกัน ในขณะที่ตัวอย่างฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีโครงสร้างภาคตัดขวางที่มีความเป็นเนื้อเดียวกันลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร 15% ซึ่งจะเห็นว่าเมทริกซ์ของฟิล์มมีเมทริกซ์ที่มีช่องทางคดเคี้ยวมากขึ้น

ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Ma et al. (2016) ซึ่งศึกษาลักษณะของฟิล์มทารากัม (tara gum) ที่เสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัล พบว่าโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มมีลักษณะที่ไม่เรียบเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้นเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลเพิ่มขึ้น

Abdollahi et al. (2013) ศึกษาโครงสร้างพื้นผิวของฟิล์มแอลจิเนตที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด สำหรับฟิล์มแอลจิเนตที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลในปริมาณ 1% พบว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในเมทริกซ์ของพอลิเมอร์ อย่างไรก็ตามที่ระดับการเสริม 5% พบว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลมีการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอและพบการรวมตัวกันของเซลลูโลสนาโนคริสตัลบางส่วน ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกันกับงานวิจัยของ Chang et al. (2010) ที่พบการกระจายตัวของเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ไม่สม่ำเสมอและมีการรวมตัวที่ชัดเจนเมื่อเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลในปริมาณที่สูงในฟิล์มสตาร์ช

Control



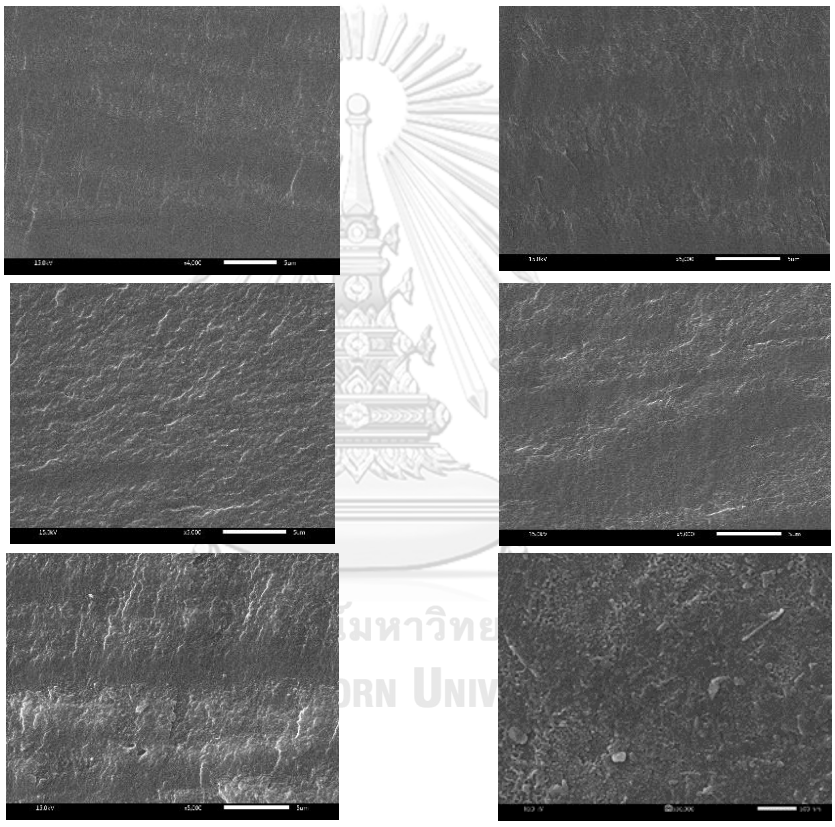
With GMS-modified CNC

With SSL-modified CNC

5%

10%

15%



รูปที่ 4. 8 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS-modified CNC) และที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL-modified CNC) โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร ถ่ายที่กำลังขยาย 5000 เท่า

**4.3 ผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยยูวีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เสริมด้วยนาโนเซลลูโลสดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว**

สำหรับการศึกษาในขั้นตอนนี้ได้คัดเลือกตัวอย่างฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวจากหัวข้อ 4.2 ที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุดมา 1 ตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม ศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C โดยแปรปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 6 ระดับ ได้แก่ 0.06, 0.19, 0.32, 0.45, 0.65 และ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ซึ่งทำได้โดยฉายรังสี UV-C ที่มีความเข้ม 18 ไมโครวัตต์/ตารางเซนติเมตร เป็นระยะเวลา 1, 3, 5, 7, 10 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% ที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี ผลการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างฟิล์มมีดังนี้

**4.3.1 ความหนา**

ความหนาของตัวอย่างฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีแสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่าปริมาณรังสีดูดกลืนไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ($p>0.05$) โดยฟิล์มทุกตัวอย่างมีความหนาอยู่ในช่วง 0.143-0.156 มิลลิเมตร Mahmoud, & Savello (1992), Cuq et al. (1996) และ Galus et al. (2012) กล่าวว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ได้แก่ ปริมาณของแข็ง เนื่องจากฟิล์มที่ผลิตในการทดลองนี้มีปริมาณของแข็งที่เท่ากัน ตัวอย่างฟิล์มที่ได้จึงมีความหนาไม่แตกต่างกัน ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับ Rezaee et al. (2020) ที่ศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มคอมพอสิตเจลาติน-ไคโตซานด้วยรังสียูวีเป็นเวลา 0, 5 และ 10 นาที พบว่าการฉายรังสีไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ($p>0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 4. 4 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียม สเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณรังสีดูดกลืน (จูล/ตารางเซนติเมตร) | ความหนา (มิลลิเมตร) [ns] |
|---|---|---|
| Control | - | 0.144 ± 0.003 |
| UV_0.06 | 0.06 | 0.154 ± 0.014 |
| UV_0.19 | 0.19 | 0.156 ± 0.002 |
| UV_0.32 | 0.32 | 0.143 ± 0.003 |
| UV_0.45 | 0.45 | 0.155 ± 0.000 |
| UV_0.65 | 0.65 | 0.156 ± 0.007 |
| UV_1.56 | 1.56 | 0.148 ± 0.007 |

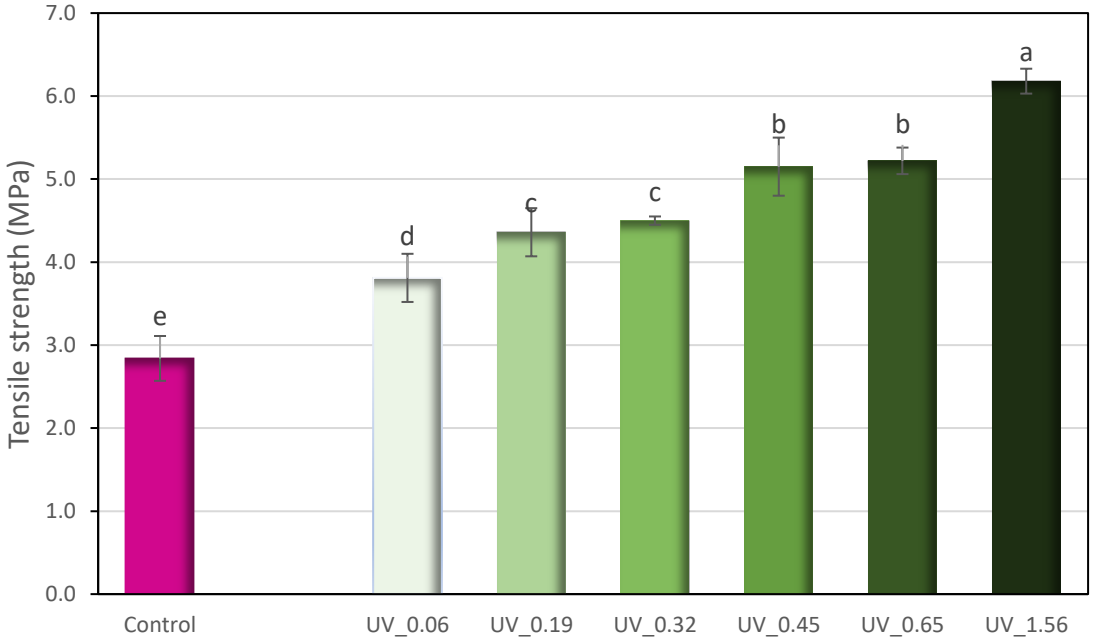
ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[ns] ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

**4.3.2 สมบัติเชิงกล**

รูปที่ 4.9 แสดงความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% และบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนระดับต่าง ๆ พบว่าการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสียูวีมีผลต่อความต้านทานแรงดึงขาด โดยฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีทุกตัวอย่างมีความต้านทานแรงดึงขาดสูงกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี ($p\leq0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มสูงขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น โดยฟิล์มที่บ่มที่ปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุดโดยมีค่าเท่ากับ 6.18 ± 0.15 เมกะพาสคาล ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุมถึง 2.2 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากรังสียูวีสามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่ข้างของกรดอะมิโนชนิดแอโรมาติก ซึ่งกรดอะมิโนตัวหลักได้แก่ ไทโรซีน ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไทโรซีนได้เป็นอนุมูลอิสระ (tyrosine radical, Tyr•) เมื่ออนุมูลอิสระรวมตัวกันจะส่งผลให้เกิดการเชื่อมข้ามไดไทโรซีนขึ้น (Corriea et al., 2012) นอกจาก ไดไทโรซีนแล้ว ยังอาจเกิดเป็นไอโซไดไทโรซีนหรือไตรไทโรซีน แต่โดยทั่วไปแล้วผลิตภัณฑ์เหล่านี้เกิดขึ้นในปริมาณที่ต่ำกว่าไดไทโรซีน (Corriea et al., 2012) พันธะเชื่อมข้ามนี้ส่งผลให้ฟิล์มมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น (Gennadios et al., 1998; Rhim et al., 1999; Masutani et al., 2014)

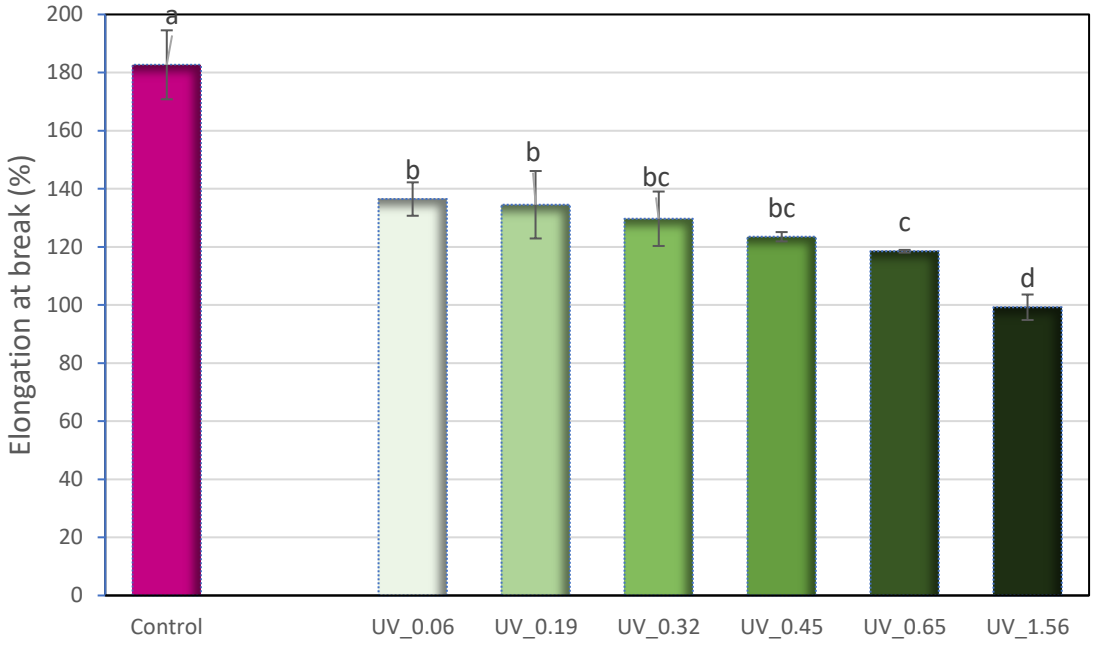
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY




รูปที่ 4. 9 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4.10 แสดงการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% และบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนระดับต่าง ๆ พบว่าฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีทุกตัวอย่างมีการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มสูงขึ้น การยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มมีแนวโน้มลดลง ตัวอย่างฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืน 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร มีการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 99.21 ± 4.39 % ซึ่งต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมถึง 1.8 เท่า การที่ฟิล์มมีการยืดตัวถึงจุดขาดลดลงอาจเนื่องมาจากเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนที่เหนี่ยวนำด้วยรังสียูวี ทำให้เมทริกซ์ของฟิล์มมีความแน่นมากขึ้น ปริมาตรอิสระลดลง ฟิล์มจึงมีความยืดหยุ่นลดลง




รูปที่ 4. 10 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

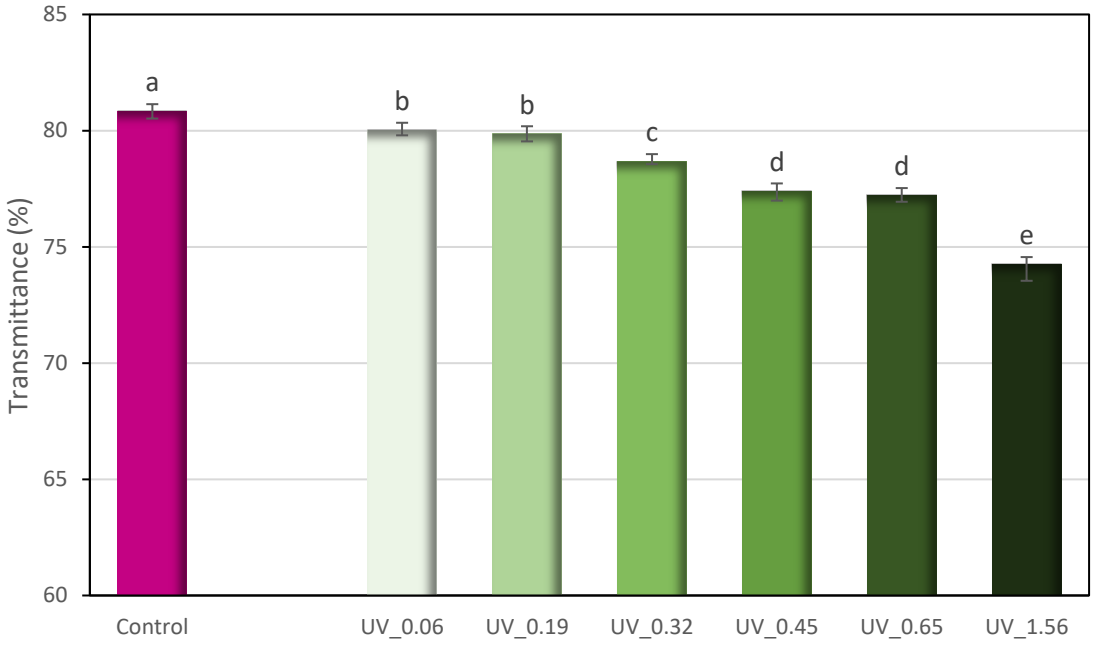
ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gennadios et al. (1998) ที่ศึกษาผลของการบ่มฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองด้วยรังสียูวี โดยแปรปริมาณรังสีดูดกลืนเป็น 5 ระดับ ได้แก่ 13.0, 25.9, 38.9, 51.8, 77.8 และ 103.7 จูล/ตารางเมตร พบว่าเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง ตัวอย่างเช่นฟิล์มที่บ่มโดยใช้ปริมาณรังสีดูดกลืน 103.7 จูล/ตารางเมตร มีความต้านทานแรงดึงขาดเท่ากับ 61 เมกะพาสคาล ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่ฉายรังสีถึง 16.5 เท่า และมีการยืดตัวถึงจุดขาดเท่ากับ 85.8% ซึ่งต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม 1.4 เท่า Ustunol, & Mert (2004) และ Schmid et al. (2017) รายงานในทำนองเดียวกันว่าการบ่มด้วยรังสียูวีทำให้ฟิล์มเวย์โปรตีนมีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นและการยืดตัวถึงจุดขาดลดลง

### 4.3.3 ความโปร่งใส

รูปที่ 4.11 แสดงความโปร่งใสในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% และบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนระดับต่าง ๆ พบว่าการบ่มด้วยรังสียูวีมีผลทำให้ร้อยละของแสงส่องผ่านลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับตัวอย่างความคุม ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มสูงขึ้น ความโปร่งใสของฟิล์มมีค่าลดต่ำลง โดยตัวอย่างที่ได้รับการบ่มด้วยยูวีด้วยปริมาณรังสีดูดกลืน 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร มีร้อยละของแสงส่องผ่านต่ำที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ $74.25 \pm 0.71$

ความขุ่น (turbidity or opacity) ของระบบโปรตีนสามารถเกิดได้จากการรวมตัวกันของโปรตีนเป็นโครงสร้างที่มีมวลโมเลกุลสูงซึ่งมีขนาดใหญ่พอที่จะทำให้เกิดการกระเจิงของแสง นอกจากนี้การรวมตัวกันของโปรตีนอาจทำให้เกิดเป็นวัฏภาคที่มีโปรตีนสูง (protein-rich phase) และ วัฏภาคที่มีโปรตีนต่ำ (protein-poor phase) ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเฉพาะที่ (local change) ของดัชนีหักเหแสง (refractive index) และทำให้เกิดการกระเจิงแสงมากขึ้น (Benedek, 1997) จากการสำรวจเอกสารยังไม่พบรายงานของผลของรังสียูวีต่อความโปร่งใสหรือความขุ่นของฟิล์มโปรตีนบริโภคได้และฟิล์มโปรตีนย่อยสลายได้ทางชีวภาพ แต่มีรายงานว่ารังสียูวีสามารถทำให้เกิดการรวมตัวกันของโปรตีนในเลนส์ตาซึ่งเป็นผลให้เลนส์เกิดความขุ่นอันเป็นสาเหตุของโรคต้อกระจก (Benedek, 1997; Boscia et al., 2000) ในงานวิจัยนี้จึงมีความเป็นไปได้ว่ารังสียูวีเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของโปรตีนในฟิล์ม เป็นผลให้ฟิล์มมีความโปร่งใสลดลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY




รูปที่ 4. 11 ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**4.3.4 ค่าสี**

ค่าสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% และบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนระดับต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่ารังสียูวีมีผลอย่างมากต่อค่าสีของฟิล์ม เมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มขึ้น พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีความสว่าง (L*) ลดลง ค่าสีเขียว (-a*) เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ค่าสีเหลือง (+b*) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับมุมสีของตัวอย่างฟิล์มทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 94.41-100.76 องศา ซึ่งเป็นมุมสีของสีเหลือง อย่างไรก็ตามความเข้มสีของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเมื่อสังเกตดูด้วยตาเปล่าพบว่าตัวอย่างฟิล์มมีสีเหลืองที่เข้มขึ้นเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มขึ้นแสดงดังรูปในภาคผนวก ค.2

ตารางที่ 4. 5 ค่าสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร

| ตัวอย่างฟิล์ม | ค่าสีในระบบ CIELAB | | | มุมสี (องศา) | ความเข้มสี |
|---|---|---|---|---|---|
| | *L** | *a** | *b** | | |
| Control | 83.77 ± 0.75$^{a}$ | -2.39 ± 0.06$^{a}$ | 12.53 ± 0.32$^{f}$ | 100.76 ± 0.30$^{a}$ | 12.76 ±0.32$^{f}$ |
| UV_0.06 | 83.25 ± 0.20$^{ab}$ | -2.53 ± 0.04$^{ab}$ | 13.28 ± 0.10$^{f}$ | 100.73 ± 0.16$^{a}$ | 13.52 ±0.11$^{f}$ |
| UV_0.19 | 83.04 ± 0.05$^{bc}$ | -2.62 ± 0.07$^{bc}$ | 14.45 ± 0.39$^{e}$ | 100.24 ±0.28$^{a}$ | 14.69 ±0.38$^{e}$ |
| UV_0.32 | 82.52 ± 0.18$^{c}$ | -2.73 ± 0.05$^{cd}$ | 15.38 ± 0.97$^{d}$ | 100.07 ±0.84$^{a}$ | 15.62 ±0.95$^{d}$ |
| UV_0.45 | 81.69 ± 0.19$^{d}$ | -2.83 ± 0.09$^{d}$ | 18.85 ± 0.26$^{c}$ | 98.49 ± 0.37$^{b}$ | 19.07 ±0.24$^{c}$ |
| UV_0.65 | 81.65 ± 0.11$^{d}$ | -2.64 ± 0.15$^{bc}$ | 21.95 ± 0.25$^{b}$ | 96.83 ± 0.47$^{c}$ | 22.11 ±0.23$^{b}$ |
| UV_1.56 | 78.91 ± 0.15$^{e}$ | -2.49 ± 0.08$^{ab}$ | 31.98 ± 0.61$^{a}$ | 94.41 ± 0.23$^{d}$ | 32.08 ±0.60$^{a}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

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

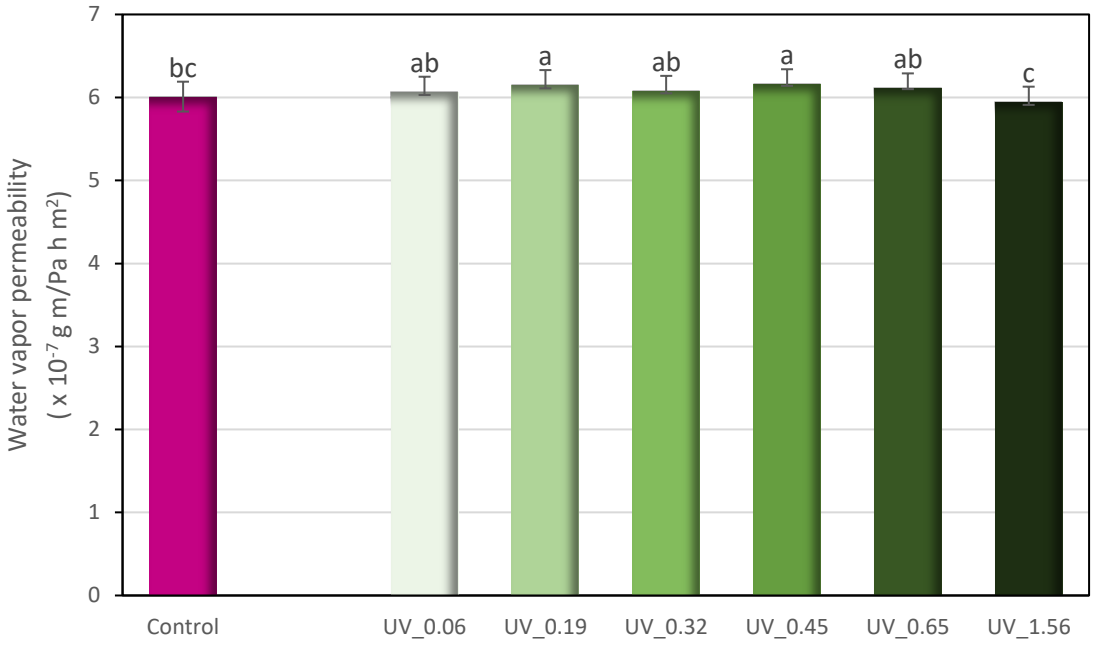
ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Schmid et al. (2015) ที่ศึกษาผลของการบ่มฟิล์มเวย์โปรตีนสกัดด้วยรังสียูวี โดยแปรปริมาณรังสีดูดกลืนของ UV-C เป็น 2.3, 10.2, 19.0 และ 31.4 จูล/ตารางเซนติเมตร ซึ่งผู้วิจัยพบว่า *+b** มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น ในขณะที่ *L** และ *-a** ไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยอื่นที่รายงานผลที่ต่างออกไป โดย Rhim, & Gennadios (1999) พบว่าฟิล์มเซอีนจากข้าวโพดมีค่า *+b** ลดลงเมื่อบ่มด้วยรังสียูวี ซึ่งผู้วิจัยเสนอว่ารังสียูวีมีผลทำลายสารสี (pigment) ที่ให้สีเหลืองแก่เซอีน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

### 4.3.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% และบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนระดับต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 4.12 พบว่าการบ่มด้วยรังสียูวีมีผลค่อนข้างน้อยต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ โดยตัวอย่างฟิล์มมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำในช่วง $5.95 \times 10^{-7}$ ถึง $6.15 \times 10^{-7}$ กรัมเมตร/พาสคาล ชั่วโมง ตารางเมตร ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับ Schmid et al. (2017) ที่ศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มเวย์โปรตีนด้วยรังสียูวี โดยแปรปริมาณรังสีดูดกลืนของ UV-C เป็น 1.2, 2.8, 11.6, 19.9 และ 42 จูล/ตารางเซนติเมตร และพบว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในทำนองเดียวกัน Ustunol, & Mert (2004) ศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มเวย์โปรตีนด้วยรังสียูวี พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยรังสียูวีไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม นอกจากนี้ Díaz et al. (2017) ซึ่งศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มเวย์โปรตีนด้วยรังสียูวี ก็พบในทำนองเดียวกันว่าการบ่มด้วยรังสียูวีไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของแผ่นฟิล์ม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

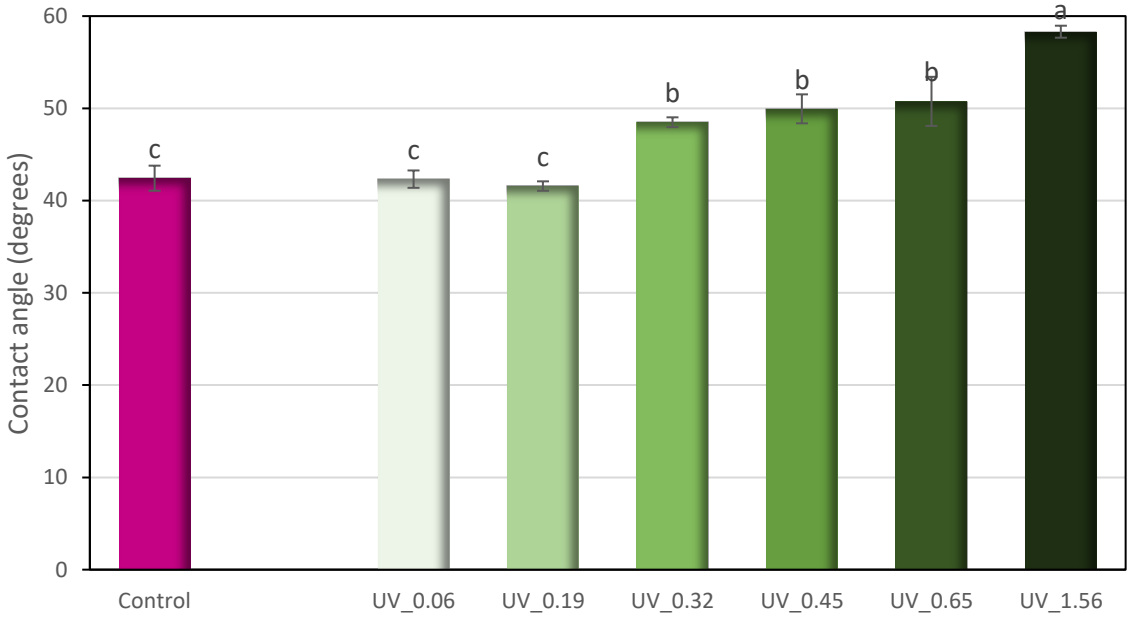



รูปที่ 4. 12 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

### 4.3.6 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

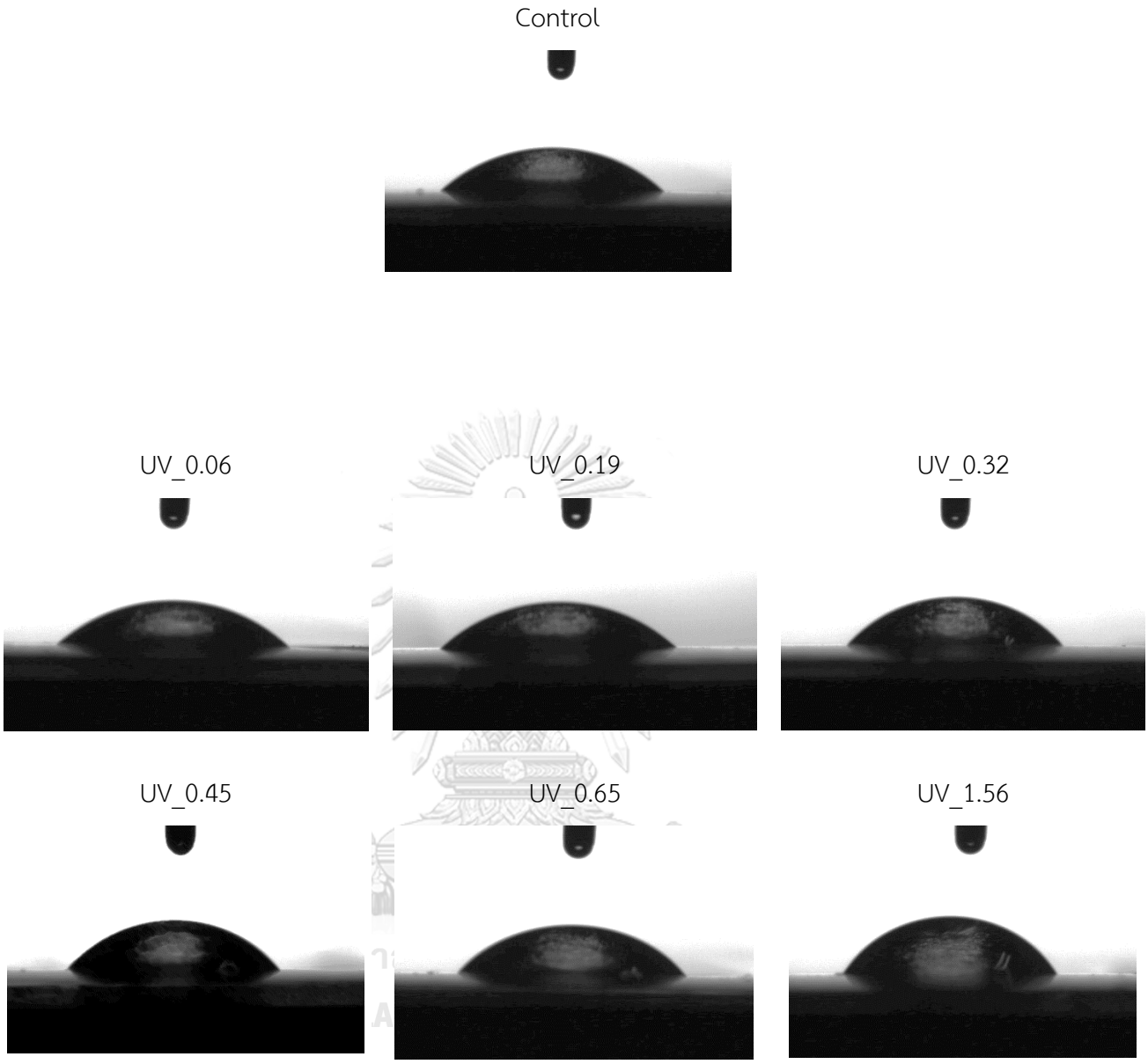
ค่ามุมสัมผัสและภาพถ่ายมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% และบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนระดับต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 4.13 และ 4.14 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีในปริมาณรังสีดูดกลืน 0.06 และ 0.19 จูล/ตารางเซนติเมตร มีค่ามุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อบ่มฟิล์มด้วยรังสียูวีในปริมาณรังสีดูดกลืนตั้งแต่ 0.32 จูล/ตารางเซนติเมตร ขึ้นไป พบว่าฟิล์มที่ได้มีค่ามุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงถึงสมบัติความไม่ชอบน้ำที่เพิ่มขึ้นของผิวฟิล์ม โดยฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีในปริมาณ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร มีค่ามุมสัมผัสสูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 58.31 ± 0.65 องศา การที่ผิวฟิล์มมีสมบัติความไม่ชอบน้ำเพิ่มมากขึ้นอาจ

เนื่องมาจากรังสียูวีเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนซึ่งลดจำนวนหมู่เคมีที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้




รูปที่ 4. 13 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

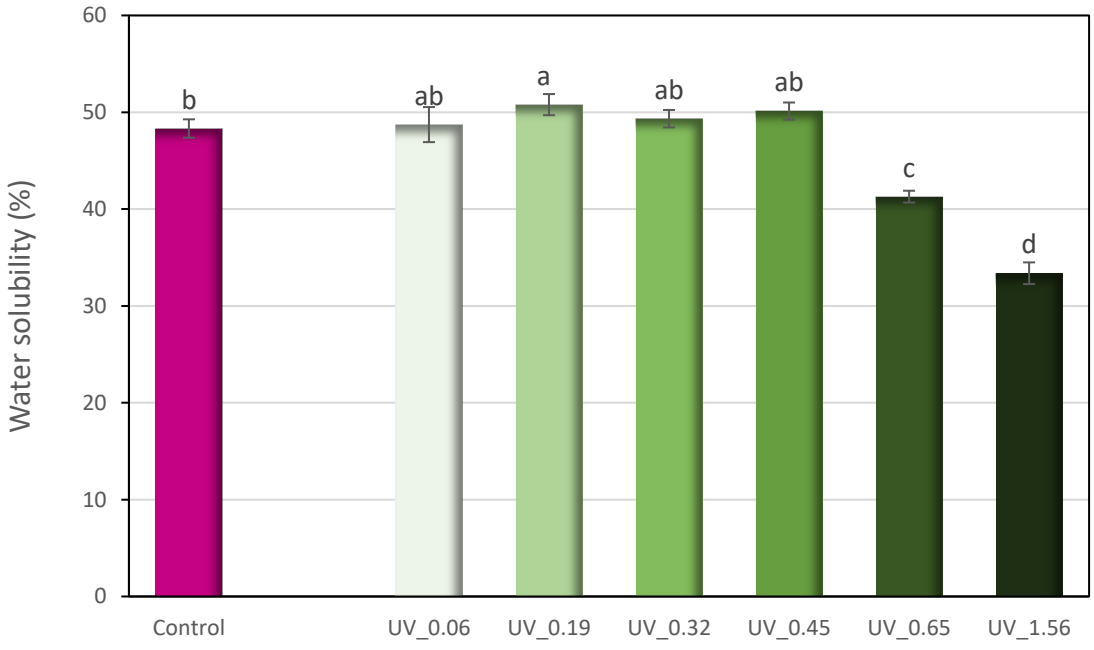
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University




รูปที่ 4. 14 ภาพถ่ายมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี

### 4.3.7 ความสามารถในการละลายน้ำ

รูปที่ 4.15 แสดงความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% และบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนระดับต่าง ๆ พบว่าการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสียูวีในปริมาณรังสีดูดกลืน 0.06-0.45 จูล/ตารางเซนติเมตร มีผลค่อนข้างน้อยต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม อย่างไรก็ตามการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสียูวีในปริมาณรังสีดูดกลืนสูงขึ้น ได้แก่ 0.65 และ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ทำให้ฟิล์มที่ได้มีความสามารถในการละลายน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 41.29 ± 0.61 และ 33.38 ± 1.12% ตามลำดับ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากรังสียูวีทำให้เกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนเกิดเป็นโครงสร้างที่แน่นขึ้น ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มจึงลดลง

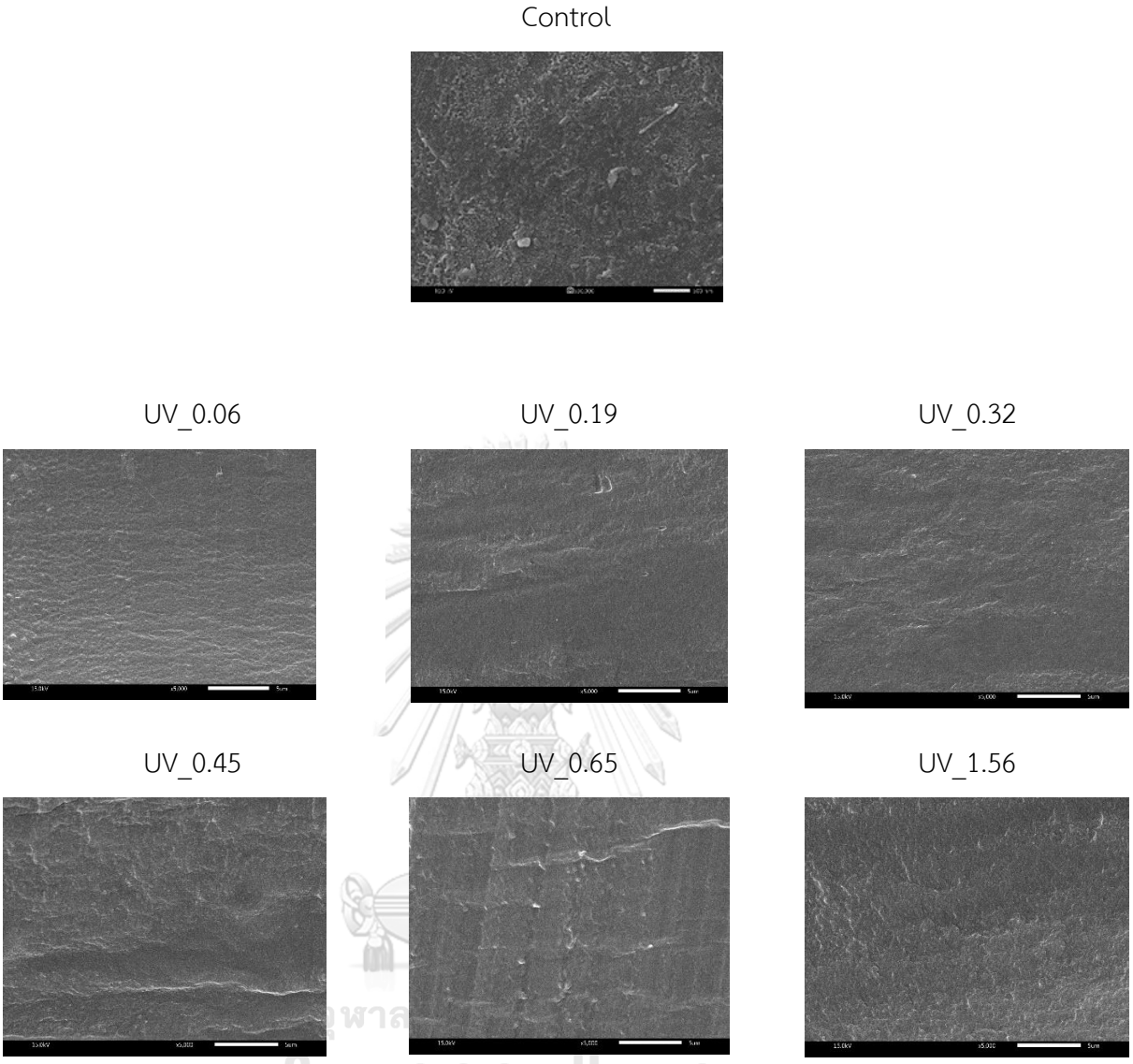



รูปที่ 4. 15 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

### 4.3.8 โครงสร้างระดับจุลภาค

ลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มที่ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงดังรูปที่ 4.16 พบว่าฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีทุกตัวอย่างมีลักษณะโครงสร้างภาคตัดขวางที่เรียบกว่าตัวอย่างควบคุม แต่เมื่อบ่มด้วยรังสียูวีในปริมาณรังสีดูดกลืนที่สูงขึ้น พบว่าฟิล์มที่ได้มีโครงสร้างภาคตัดขวางที่ไม่สม่ำเสมอมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการรวมตัวกันของโปรตีนเกิดเป็นโครงสร้างที่มีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนี้อาจเกิดการรวมตัวกันของโปรตีนในลักษณะที่เกิดเป็นวัฏภาคที่มีความเข้มข้นของโปรตีนต่างกัน กล่าวคือวัฏภาคที่มีโปรตีนสูงและวัฏภาคที่มีโปรตีนต่ำ โครงสร้างของฟิล์มจึงไม่สม่ำเสมอมากขึ้น ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับ Rezaee et al. (2020) ซึ่งศึกษาการบ่มแผ่นฟิล์มคอมพอสิตเจลาติน-ไคโตซานด้วยรังสียูวี เป็นระยะเวลา 0, 5 และ 10 นาที พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสีและตัวอย่างที่บ่มด้วยรังสีในระยะเวลาสั้นๆ มีลักษณะของโครงสร้างภาคตัดขวางที่สม่ำเสมอ ในขณะที่ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสีเป็นระยะเวลานานมีโครงสร้างที่ไม่สม่ำเสมอและอาจเกิดรอยแตกในโครงสร้าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

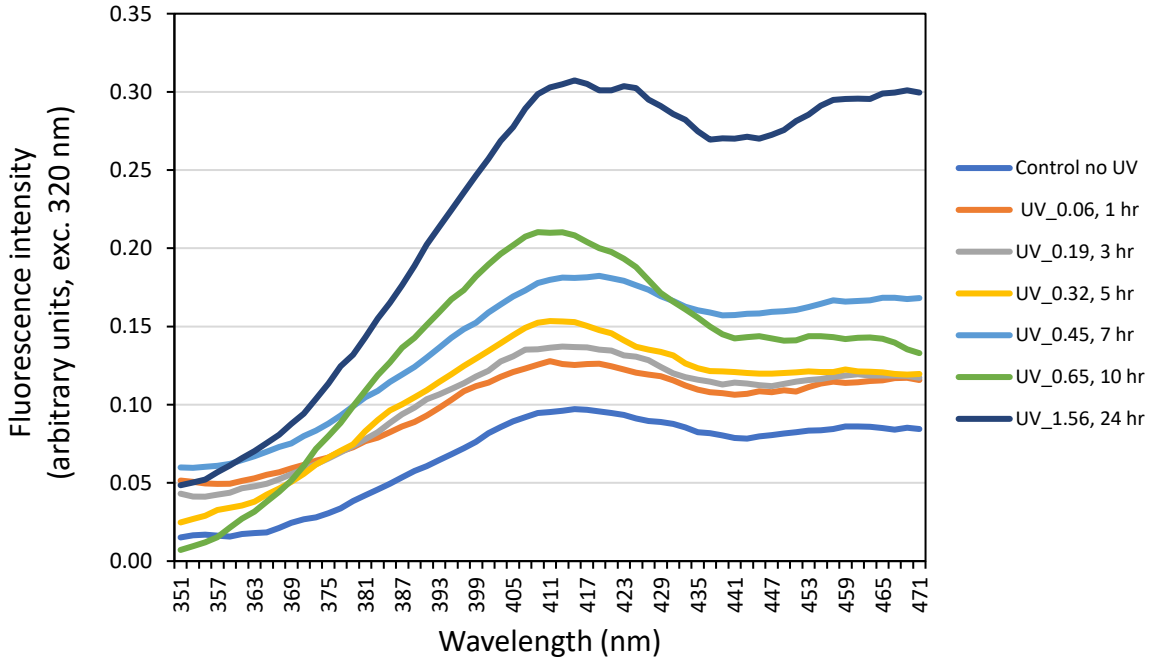



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4. 16 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของโครงสร้างภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ถ่ายที่กำลังขยาย 5000 เท่า

### 4.3.9 การเชื่อมข้ามไดไทโรซีน

ตามที่มีรายงานว่ารังสี UV-C สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดพันธะเชื่อมข้ามไดไทโรซีนขึ้นในโปรตีนได้ (de Souza et al., 2012) ในงานวิจัยนี้จึงติดตามการเพิ่มขึ้นของไดไทโรซีนโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปี โดยฟลูออเรสเซนส์อีมิชชันสเปกตรัมของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.17




รูปที่ 4. 17 Fluorescence emission spectrum ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสี*ยูวี*

ในงานวิจัยนี้พบพีคของความเข้มฟลูออเรสเซนส์ (fluorescence intensity) ในช่วงความยาวคลื่น 350-470 นาโนเมตร โดยมีความเข้มสูงสุด (peak intensity) ที่ความยาวคลื่นประมาณ 411 นาโนเมตร ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของไดไทโรซีน โดยความเข้มฟลูออเรสเซนส์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนที่ใช้บ่มฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น ชี้ให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของไดไทโรซีนที่เหนี่ยวนำโดยรังสียูวี ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Al-Hilaly et al. (2013, 2016) ที่รายงาน

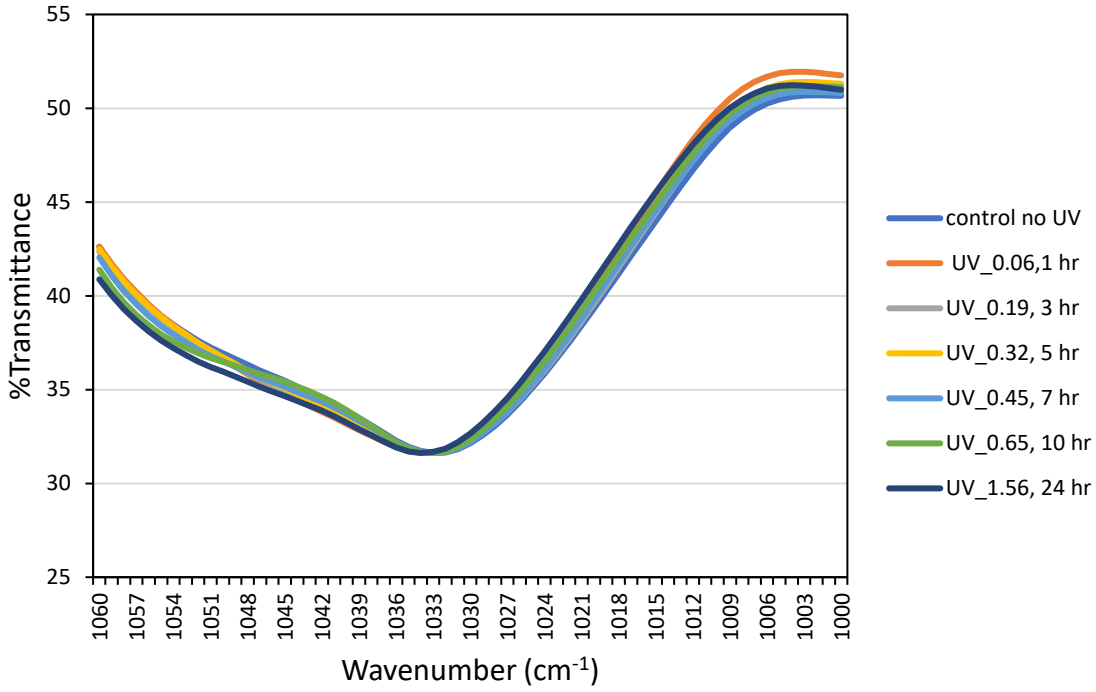
ว่าไดไทโรซีนที่ติดตามโดยฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปีมีพีคฟลูออเรสเซนส์ในช่วงความยาวคลื่น 340-500 นาโนเมตร โดยมีความเข้มสูงสุดที่ความยาวคลื่นในช่วง 400-420 นาโนเมตร นอกจากนี้ Correia et al. (2012) ติดตามการเกิดไดไทโรซีนในอินซูลินที่สัมผัสกับรังสียูวีและรายงานว่าพบพีคของไดไทโรซีนในช่วงความยาวคลื่น 350-550 นาโนเมตร และมีความเข้มสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 405 นาโนเมตร โดยความเข้มฟลูออเรสเซนส์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออินซูลินสัมผัสรังสียูวีเป็นระยะเวลานานขึ้น

**4.3.10 การเชื่อมข้ามไอโซไดไทโรซีน**

นอกจากไดไทโรซีนแล้ว รังสียูวียังอาจเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมข้ามไอโซไดไทโรซีนได้ (Correia et al., 2012) ในงานวิจัยนี้จึงติดตามการเกิดไอโซไดไทโรซีนโดยเทคนิค FTIR โดย FTIR สเปกตรัมของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.18

Correia et al. (2012) รายงานว่าการลดลงของร้อยละของแสงส่องผ่านหรือการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงในช่วงเลขคลื่นประมาณ 1040 เซนติเมตร$^{-1}$ บ่งบอกถึงพันธะอีเธอร์และชี้ให้เห็นว่ามีการเกิดขึ้นของพันธะไอโซไดไทโรซีน อย่างไรก็ตามจากรูปที่ 4.18 พบว่าในช่วงเลขคลื่นประมาณ 1040 เซนติเมตร$^{-1}$ ฟิล์มทุกตัวอย่างมีค่าร้อยละของแสงส่องผ่านที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นถึงการเกิดขึ้นของพันธะไอโซไดไทโรซีนที่ไม่ต่างกัน ทั้งนี้ Correia et al. (2012) รายงานว่าไดไทโรซีนเป็นพันธะเชื่อมข้ามหลักในโปรตีนที่เหนี่ยวนำด้วยรังสียูวี โดยไอโซไดไทโรซีนอาจเกิดขึ้นได้แต่จะเกิดขึ้นในปริมาณที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับไดไทโรซีน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

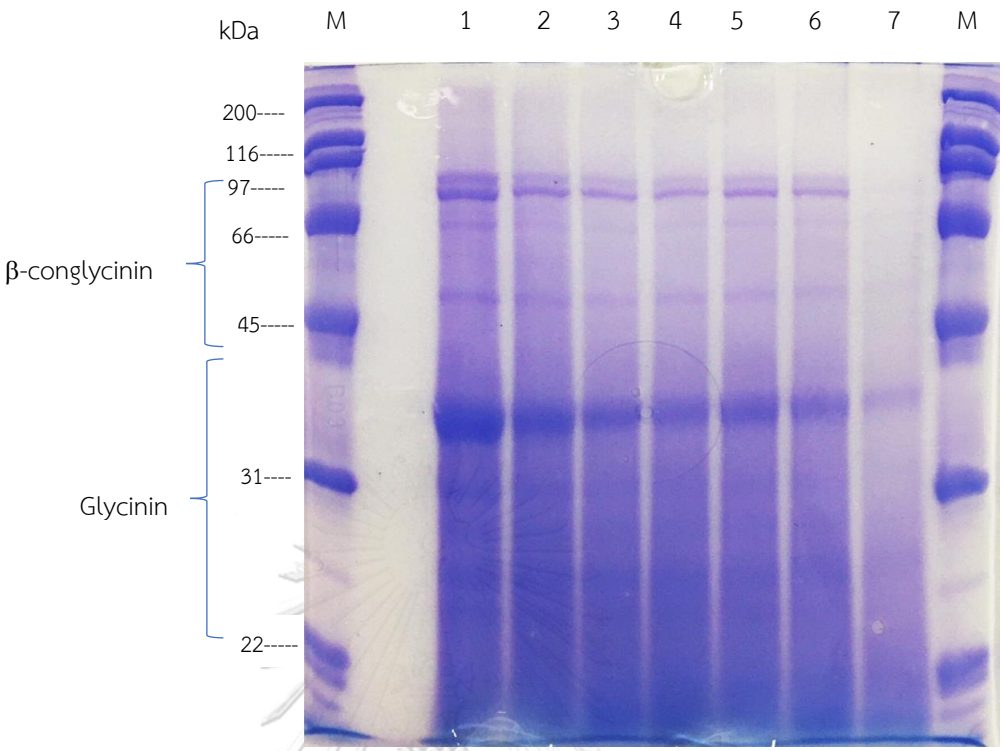



รูปที่ 4. 18 FTIR spectrum ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

### 4.3.11 รูปแบบของแถบโปรตีน

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษารูปแบบของแถบโปรตีนด้วย SDS-PAGE เพื่อติดตามการเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% และบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนระดับต่าง ๆ (รูปที่ 4.19) โดยในตัวอย่างควบคุมซึ่งได้แก่ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และไม่บ่มด้วยรังสียูวี ปรากฏแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงของเบตา-คอนไกลซินินและไกลซินินของถั่วเหลือง เมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มสูงขึ้นพบว่าแถบโปรตีนดังกล่าวมีความเข้มลดลง การเปลี่ยนแปลงนี้อาจเนื่องมาจากเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนถั่วเหลืองไปเป็นโครงสร้างที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้นโดยการเหนี่ยวนำของรังสียูวี ส่งผลให้แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความเข้มลดลง (Rawel et al., 2002)




รูปที่ 4. 19 รูปแบบแถบโปรตีนที่ศึกษาด้วย SDS-PAGE ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลส นาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% (ช่องที่ 1) ตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่บ่มด้วยรังสียูวี (ช่องที่ 2) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.06 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 3) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.19 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 4) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.32 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 5) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.45 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 6) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 0.65 จูล/ตารางเซนติเมตร (ช่องที่ 7) ฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร (M) protein molecular weight marker

**4.4 สรุปเปรียบเทียบสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และบ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร กับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่ผ่านการดัดแปร**

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และบ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร กับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่ผ่านการดัดแปร พบว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และบ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร มีสมบัติทางด้านต่าง ๆ ที่ดีขึ้นเมื่อเทียบกับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่ผ่านการดัดแปร โดยมีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น 265.7% ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดลดลงถึง 40.7% สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง 19.6% มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเพิ่มขึ้น 176.5% และความสามารถในการละลายน้ำลดลง 49.2% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเสริมฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวและการบ่มด้วยรังสียูวี สามารถปรับปรุงสมบัติทั้งด้านเชิงกลและการป้องกันความชื้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4. 6 สมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และบ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร กับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่ผ่านการดัดแปร

| สมบัติ | ตัวอย่างฟิล์ม | | การเปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|
| | ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด | ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% และบ่มรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนเท่ากับ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร | |
| ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล) | 1.69 | 6.18 | เพิ่มขึ้น 265.7% |
| การยืดตัวถึงจุดขาด (%) | 167.44 | 99.21 | ลดลง 40.7% |
| สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ($\times 10^{-7}$ กรัม เมตร/พาสคาลชั่วโมง ตารางเมตร) | 7.40 | 5.95 | ลดลง 19.6% |
| มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม (องศา) | 21.09 | 58.31 | เพิ่มขึ้น 176.5% |
| ความสามารถในการละลายน้ำ (%) | 65.70 | 33.38 | ลดลง 49.2% |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 5

## สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลด้วยสารลดแรงตึงผิว และนำเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวที่มีเสถียรภาพสูงมาใช้เพื่อผลิตฟิล์มคอมพอสิตฐานโปรตีนถั่วเหลือง นอกจากนี้ยังศึกษาผลของการบ่มด้วยรังสียูวีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่เสริมเซลลูโลส นาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว

เซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ใช้ในงานวิจัยนี้เตรียมขึ้นในห้องปฏิบัติการจากไมโครคริสตัลลีนเซลลูโลสทางการค้าโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟูริก เซลลูโลสนาโนคริสตัลที่เตรียมได้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 61.7 นาโนเมตร และมีศักย์ซีต้าเท่ากับ -31.0 มิลลิโวลต์

เมื่อนำเซลลูโลสนาโนคริสตัลมาดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว โดยแปรสารลดแรงตึงผิวเป็น 2 ชนิด ได้แก่ GMS และ SSL และแปรความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 1, 5 และ 10% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม พบว่าเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยอยู่ในช่วง 67.4-605.0 นาโนเมตร ส่วนศักย์ซีต้ามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรที่มีศักย์ซีต้าสูงสุด ได้แก่ เซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ดัดแปรด้วย GMS และ SSL เข้มข้น 10% ซึ่งมีศักย์ซีต้าเท่ากับ -69.9 และ -84.5 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ ซึ่งจัดได้ว่าเป็นอนุภาคคอลลอยด์ที่มีเสถียรภาพสูงมาก จึงคัดเลือกเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวทั้งสองตัวอย่างมาใช้ในการเตรียมฟิล์มคอมพอสิตต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในการศึกษาผลของการเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ได้แปรปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 5, 10 และ 15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม กำหนดให้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเป็นตัวอย่างควบคุม พบว่าฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดสูงกว่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม เมื่อปริมาณของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มขึ้น ความต้านทานแรงดึงขาดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีแนวโน้มลดลง อย่างไรก็ตามพบว่าชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ดัดแปรเซลลูโลสนาโนคริสตัลไม่มีผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์ม โดยตัวอย่างฟิล์มที่มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด ได้แก่ ตัวอย่างฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL โดยเสริมในปริมาณ 15% ที่มีความต้านทานแรงดึงขาดเท่ากับ 2.84 เมกะพาสคาล ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุม

ถึง 68.0% ความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์มที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรนี้เป็นผลเนื่องมาจากความแข็งแรงของเซลลูโลสนาโนคริสตัลเองซึ่งมีความเป็นผลึกสูงและความสามารถในการกระจายตัวที่ดีของอนุภาคในเมทริกซ์ของฟิล์ม

สำหรับสมบัติเชิงแสง พบว่าเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น ความโปร่งใสของฟิล์มคอมพอสิตมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ในขณะที่การเสริมด้วยเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรไม่มีผลต่อค่าสีของฟิล์มมากนัก โดยฟิล์มทุกตัวอย่างมีมุมสีประมาณ 100 องศา ซึ่งใกล้เคียงกับมุมสีของสีเหลือง ส่วนความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรเพิ่มขึ้น

การเติมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิวทำให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำลดลง และผิวฟิล์มมีสมบัติความไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากความเป็นผลึกที่สูงและการกระจายตัวที่ดีของเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร

เนื่องจากตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL โดยเสริมในปริมาณ 15% มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด จึงคัดเลือกมาเพื่อศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยรังสี UV-C ต่อไป โดยในขั้นตอนนี้แปรปริมาณรังสีดูดกลืนในช่วง 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร และตัวอย่างควบคุมได้แก่ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% ที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี

สำหรับสมบัติเชิงกล พบว่าการบ่มด้วยยูวีทำให้ความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นและการยืดตัวถึงจุดขาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีปริมาณ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร มีความต้านทานแรงดึงขาดสูงสุด (6.18 เมกะพาสคาล) และการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำสุด (99.21%) ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดการเชื่อมข้ามของโปรตีนที่เหนี่ยวนำด้วยรังสี ซึ่งยืนยันได้จากการเพิ่มขึ้นของไดไทโรซีนที่ติดตามโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปีและการเปลี่ยนแปลงของรูปแบบของแถบโปรตีนที่ติดตามโดย SDS-PAGE

สำหรับสมบัติเชิงแสง พบว่าการบ่มด้วยรังสียูวีมีผลอย่างมากต่อความโปร่งใสและค่าสีของฟิล์ม โดยฟิล์มมีความโปร่งใสลดลงเมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีมีความสว่าง ($L^*$) ลดลง และค่าสีเหลือง ($+b^*$) เพิ่มขึ้น ฟิล์มทุกตัวอย่างยังคงมีมุมสีประมาณ 100 องศา ซึ่งใกล้เคียงกับมุมสีของสีเหลือง แต่มีความเข้มสีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณรังสีดูดกลืนเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเมื่อสังเกตดูด้วยตาเปล่าจะเห็นว่าตัวอย่างฟิล์มที่บ่มด้วยรังสียูวีมีสีเหลืองเข้มขึ้น

ในงานวิจัยนี้พบว่าการบ่มด้วยรังสียูวีไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มคอม-พอสิต แต่ทำให้ผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การบ่มฟิล์มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืนสูง (0.65 และ 1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร) ยังทำให้ฟิล์มมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

# บรรณานุกรม


Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., & Miraki, R. (2013). Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. International *Journal of Biological Macromolecules*, 54, 166-173.

Abdul Khalil, H. P. S., Bhat, A. H., & Ireana Yusra, A. F. (2012). Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 963-979.

Abdul Khalil, H. P. S., Davoudpour, Y., Islam, M. N., Mustapha, A., Sudesh, K., Dungani, R., & Jawaid, M. (2014). Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: a review. *Carbohydrate Polymers*, 99, 649-665.

Al-Hilaly, Y. K., Biasetti, L., Blakeman, B. J., Pollack, S. J., Zibaee, S., Abdul-Sada, A., . . . Serpell, L. C. (2016). The involvement of dityrosine crosslinking in alpha-synuclein assembly and deposition in Lewy Bodies in Parkinson's disease. *Scientific Reports*, 6, 39171.

Al-Hilaly, Y. K., Williams, T. L., Stewart-Parker, M., Ford, L., Skaria, E., , Cole, M., Bucher, W. G., , Morris, K. L., . . . Serpell, L. C. (2013). A central role for dityrosine crosslinking of Amyloid-β in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications*, 1, 83.

Andreuccetti, C., Carvalho, R. A., Galicia-García, T., Martínez-Bustos, F., & Grosso, C. R. F. (2011). Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 129-136.

Anonymous. (2020). turbidity. Retrieved from: https://www.hach.com/asset-get.download-en.jsa?id=7639984265.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Arvanitoyannis, I., & Biliaderis, C. G. (1998). Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. *Food chemistry*, 62(3), 333-342.

ASTM. (1999). *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA: The American Society for Testing and Materials.

ASTM (2009). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D882-10). West Conshohocken, PA: ASTM International.

ASTM. (2015). *Annual Book of ASTM Standards.* Philadelphia, PA: The American Society for Testing and Materials.

Audic, J. L., & Chaufer, B. (2005). Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate. *European Polymer Journal*, 41, 1934-1942.

Avena-bustillos, R. J., & Krochta, J. M. (1993). Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, crosslinking and lipid content. *Journal of Food Science*, 58, 904-907.

Ayranci, E., & Cetin, E. (1995). The effect of protein isolate of *Pistacia terebinthus* L. on moisture transfer properties of cellulose-based edible films. *Food Science and Technology*, 28, 241-244.

Azeredo, H. M. C., & Waldron, K. W. (2016). Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 109-122.

Badley, R. A., Atkinson, D., Hauser, H., Oldani, D., Green, J. P., & Stubb, J. M. (1975). The structure, physical and chemical properties of the soy bean protein glycinin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 412, 214-228.

Balaguer, M. P., Gomez-Estaca, J., Gavara, R., & Hernandez-Munoz, P. (2011). Functional properties of bioplastics made from wheat gliadins modified with cinnamaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6689-6695.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Balasubramaniam, V. M., Chinnan, M. S., Mallikarjunan, P., & Phillips, R. D. (1997). The effect of edible film on oil uptake and moisture retention of a deep-fat fried poultry product. *Journal of Food Processing Engineering*, 20, 17-29.

Belbekhouche, S., Bras, J., Siqueira, G., Chappey, C., Lebrun, L., Khelifi, B., & Dufresne, A. (2011). Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films. *Carbohydrate Polymer*, 83, 1740-1748.

Benbettaieb, N., Karbowiak, T., Brachais, C. H., & Debeaufort, F. (2016). Impact of electron beam irradiation on fish gelatin film properties. *Food Chemistry*, 195, 11-18.

Benedek, G. B. (1997). Cataract as a protein condensation disease: The proctor lecture. *Investigative Opthalmology & Visual Science*, 38, 1911-1921.

Berk, Z. (1992). Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. *FAO Agricultural Services Bulletin*, 97.

Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Rover, N., & Rubini, K. (2002). Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. *Biomaterials*, 23, 4827-4832.

Bondeson, D., & Oksman, K. (2007). Dispersion and characteristics of surfactant modified cellulose whiskers nanocomposites. *Composite Interfaces,* 14, 617-630.

Boscia, F., Grattagliano, I., Vendemiale, G., Micelli-Ferrari, T., & Altomare, E. (2000). Protein oxidation and lens opacity in humans. *Investigative Opthalmology & Visual Science.* 41, 2461-2465.

Bravin, B., Peressini, D., & Sensidoni, A. (2004). Influence of emulsifier type and content on functional properties of polysaccharicle lipid-basid edible films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6448-6455.

Cao, N., Fu, Y., & He, J. (2007). Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. *Food Hydrocolloids*, 21, 1153-1162.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Cao, X., Chen, Y., Chang, P. R., Stumborg, M., & Huneault, M. A. (2008). Green composites reinforced with hemp nanocrystals in plasticized starch. *Journal of Applied Polymer Science*, 109, 3804-3810.

Carnes, M. E., Gonyea, C. R., Mooney, R. G., Njihia, J. W., Cobumm J. M., & Pins, G. D. (2020). Horseradish peroxidase-catalyzed crosslinking of fibrin microthread scaffolds. *Tissue Engineering: Part C,* 26, 317-331.

Carvalho, R. A., & Grosso, C. R. F. (2004). Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydrocolloids*, 18, 717-726.

Cazon, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., & Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids,* 68, 136-148.

Chakraborty, A., Sain, M., & Kortschot, M. (2006). Reinforcing potential of wood pulp derived microfibres in a PVA matrix. *Holzforschung*, 60, 53-58.

Chang J. W., Wang, C. G., Huang, C. Y, Tsai T. D., Guo T. F., & Wen T. C. (2012). Egg white in organic electronics. Retrieved from: https://spie.org/news/4149-egg-white-in-organic-electronics?SSO=1

Chang, R. P., Jian, R., Zheng, P., Yu, J., & Ma, X. (2010). Preparation and properties of glycerol plasticized-starch (GPS)/cellulose nanoparticle (CN) composites. *Carbohydrate Polymers*, 79, 301-305.

Chen, R. N., Ho, H. O., & Sheu, M. T. (2005). Characterization of collagen matrices crosslinked using microbial transglutaminase. *Biomaterials*, 26, 4229-4235.

Chiralt, A., Gonzalez-Martinez, C., Vargas, M., & Atares, L. (2018). Edible films and coatings from proteins. In R. Y. Yada (ed.), *Proteins in Food Processing*, 2nd ed., pp. 477-500. Duxford, UK: Woodhead Publishing.

Chmielewski A. G. (2007). Industrial applications of electron beam flue gas treatment: From laboratory to the practice. *Radiation Physics and Chemistry*, 76, 1480-1484.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Cho, S. Y., & Rhee, C. (2004). Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. *LWT,* 37, 833-839.

Correia, M., Neves-Petersen, M. T., Jeppesen, P. B., Gregersen, S., & Petersen, S. B. (2012). UV-light exposure of insulin: Pharmaceutical implications upon covalent insulin dityrosine dimerization and disulphide bond photolysis. *PLOS ONE*, 7, 1-19.

Cranston, E. D., & Gray, D. G. (2006). Morphological and optical characterization of polyelectrolyte multilayers incorporating nanocrystalline cellulose. *Biomacromolecules*, 7, 2522-2530.

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

de Carvalho, R. A., & Grosso, C. R. F. (2004). Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydrocolloids,* 18, 717-726.

de Graaf, L. A. (2000). Denaturation of proteins from a non-food perspective. *Journal of Biotechnology*, 79, 299-306.

de Souza, A. G., de Lima, G. F., Colombo, R., & Rosa, D. S. (2020). A new approach for the use of anionic surfactants: Nanocellulose modification and development of biodegradable nanocomposites. *Cellulose*, 27, 5707-5728.

Dong, X. M., & Gray, D. G. (1997). Effect of counterions on ordered phase formation in suspensions of charged rodlike cellulose crystallites. *Langmuir,* 13, 240-2409.

Dwivedi, C., Pandey. I., Pandey. H., Ramteke, P. W., Pandey, A. C., Mishra, S. B., & Patil, S. (2017). Electrospun nanofibrous scaffold as a potential carrier of antimicrobial therapeutics for diabetic wound healing and tissue regeneration. In A. M. Grumezescu (ed.), *Nano- and Microscale Drug Delivery Systems,* pp. 147-164. Amsterdam, Netherlands: Elsevier.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Fortunati, E., Peltzer, M., Armentano, I., Torre, L., Jimenez, A., & Kenny, J. M. (2012). Effects of modified cellulose nanocrystals on the barrier and migration properties of PLA nano-biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 90, 948-956.

Galus, S., Mathieu, H., Lenart, A., & 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 and Emerging Technologies,* 16, 148-154.

Garavand, F., Rouhi, M., Razavi, S. H., Cacciotti, I., & Mohammadi, R. (2017). Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. *International Journal of Biological Macromolecules,* 104, 687-707.

Gennadios, A., Rhim, J. W., Handa, A., Weller, C. L., & Hanna, M. A. (1998). Ultraviolet radiation affects physical and molecular properties of soy protein films, *Journal of Food Science*, 63, 225-228.

Gerrard, J. A., Brown, P. K., & Fayle, S. E. (2002). Maillard crosslinking of food proteins: The reaction of glutaraldehyde, formaldehyde and glyceraldehyde with ribonuclease. *Food Chemistry*, 79, 343-349.

González, A., Gastelú, G., Barrera, G. N., Ribotta, P. D., & Álvarez Igarzabala, C. I. (2019). Preparation and characterization of soy protein films reinforced with cellulose nanofibers obtained from soybean by-products. *Food Hydrocolloids*, 89, 758-764.

González-Pérez, G., & Arellano, J. B. (2009). Vegetable protein isolates, In G. Phillips and P. Williams (eds.), *Handbook of Hydrocolloids*, 2nd ed., pp. 383-419. Cambridge, UK: Woodhead Publishing.

Gowder, S., & Devaraj, H. (2010). A review of the nephrotoxicity of the food flavor cinnamaldehyde. *Current Bioactive Compounds*, 6, 106-117.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Habibi, Y. (2013). Chemical modification of nanocellulose. In A. Dufresne, S. Thomas, & L. A. Pothan (eds.), *Biopolymer Nanocomposites: Processing, Properties, and Applications*, pp. 367-389. Hoboken, NJ: Wiley.

Han, Y., Yu, M., & Wang, L. (2018). Soy protein isolate nanocomposites reinforced with nanocellulose isolated from licorice residue: Water sensitivity and mechanical strength. *Industrial Crops and Products*, 117, 252-259.

Handa, A., Gennadios, A., Hanna, M. A., Weller, C. L., & Kuroda, N. (1999). Physical and molecular properties of egg white-lipid films. *Journal of Food Science,* 64, 860-864.

Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. A., & Akhtar. N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1095-1107.

Hernández-Izquierdo, V.M., & Krochta, J.M. (2008). Thermoplastic processing of proteins for film formation – A review. *Journal of Food Science*, 73, R30-9.

Huq, T., Salmieri, S., Khan, A., Khan, R. A., Le Tien, C., Riedl, B., Fraschini, C., Bouchard, J., Uribe-Calderon, J., Kamal, M. R., & Lacroix, M. (2012). Nanocrystalline cellulose (NCC) reinforced alginate based biodegradable composite film. *Carbohydrate polymers,* 90, 1757-1763.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Insaward, A., Duangmal. K., & Mahawanich, T. (2015). Mechanical strength, optical properties and solubility of soy protein film as affected by phenolic acid addition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 9421-9426.

Iwamoto, S., Kai, W., Isogai, A., & Iwata, T. (2009). Elastic modulus of single cellulose microfibrils from tunicate measured by atomic force microscopy. *Biomacromolecules*, 10, 2571-2576.

Jonoobi, M., Oladi, R., Davoudpour, Y., Oksman, K., Dufresne, A., Hamzeh, Y., & Davoodi, R. (2015). Different preparation methods and properties of

nanostructured cellulose from various natural resources and residues: A review. *Cellulose,* 22, 935-969.

Kester, J. J., & Fennema, O. R. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology*, 40, 47-59.

Kinsella, J. E. (1979). Functional properties of soy proteins. *Oil Chemists*, 56, 243-258.

Krochta, J. M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings: Definitions, current status, and opportunities. In: A. Gennadios (ed.), *Protein-Based Films and Coatings*, pp. 1-41. Boca Raton, FL: CRC Press.

Kumar, A., & Dixit, C. K. (2017). Methods for characterization of nanoparticles. In S. Nimesh, R. Chandra, & N. Gupta (eds.), *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*, pp. 43-58. Duxford, UK: Elsevier.

Kumar, P., Sandeep, K. P., Alavi, S., Truong, V. D., & Gorga, R. E. (2010). Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion. *Journal of Food Engineering*, 100, 480-489.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.

Lee, M., Lee, S., & Song, K. B. (2005). Effect of γ-irradiation on the physicochemical properties of soy protein isolate films. *Radiation Physics and Chemistry*, 72, 35-40.

Ma, Q., Hu, D., & Wang, L. (2016). Preparation and physical properties of tara gum film reinforced with cellulose nanocrystals. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 606-612.

Ma, S., Hu, Y., & Wang, R. (2016). Amphiphilic block copolymer aided design of hybrid assemblies of nanoparticles: Nanowire, nanoring, and nanocluster. *Macromolecules*, 49, 3535-3541.

Mahmoud, R., & Savello, P. (1992). Mechanical properties of and water vapor transferability though whey protein film. *Journal of Dairy Science*. 75, 942-946.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Maiti, S., Jayaramudu, J., Das, K., Reddy, S. M., Sadiku, R., Ray, S. S., & Liu, D. (2013). Preparation and characterization of nano-cellulose with new shape from different precursor. *Carbohydrate Polymers*, 98, 562-567.

Masutani, E. M., Kinoshita, C. K., Tanaka, T. T., Ellison, A. K. D., & Yoza, B. A. (2014). Increasing thermal stability of gelatin by UV-induced cross-linking with glucose. *International Journal of Biomaterials.* https://doi.org/10.1155/2014/979636

Mclellan', M. R., Lind, L. R., & Kime, R. W. (1994). Hue angle determinations and statistical analysis for multiquadrant hunter L,a,b data. *Journal of Food Quality,* 18, 235-240.

Miller, K. S., & Krochta, J. M. (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review *Trends in Food Science & Technology*, 8, 228-237.

Missoum, K., Belgacem, M. N., & Bras, J. (2013). Nanofibrillated cellulose surface modification: A review. *Materials,* 6, 1745-1766.

Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., & Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40, 3941-3994.

Motoki, M., & Seguro, K. (1998). Transglutaminase and its use for food processing. *Trends in Food Science and Technology,* 9, 204-210.

Nelson, K. L., & Fennema, O. R. (1991). Methylcellulose films to prevent lipid migration in confectionery products. *Journal of Food Science,* 56, 504-509.

Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2015). Preparation and characterization of sodium carboxymethyl cellulose/cotton linter cellulose nanofibril composite films. *Carbohydrate Polymer*s, 127, 101-109.

Park, J. W., Testin, R. F., Park, H. J., Vergano, P. J., & Weller, C. L. (1994). Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation, and water vapor permeability of laminated edible films. *Journal of Food Science,* 59, 916-919.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Parris, N., Dickey, L. C., Kurantz, M. J., Moten, R. O., & Craig, J. C. (1997). Water vapor permeability and solubility of zein/starch hydrophilic films prepared from dry milled corn extract. *Journal of Food Process Engineering*, 32, 199-207.

Peng, I. C., Quass, D. W., Dayton, W. R., & Allen, C. E. (1984). The physicochemical and functional properties of soybean 11S globulin – A review. *Cereal Chemistry*, 61, 480-490.

Perada, M., Amica, G., Racz, I., & Marcovich, N. E. (2011). Preparation and characterization of sodium caseinate films reinforced with cellulose derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 86, 1014-1021.

Perez-Gago, M. B., & Krochta, J. M. (1999). Water vapor permeability of whey protein emulsion films as affected by pH. *Journal of Food Science*, 64, 695-698.

Perez-Gago, M. B., & Krochta, J. M. (2001). Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. Food Engineering and Physical Properties, 66, 705-710.

Perez-Gago, M. B., Rojas, C., & Del Rio, M. A. (2002). Effect of lipid type and amount of edible hydroxypropyl methylcellulose-lipid composite coatings used to protect postharvest quality of mandarins cv. Fortune. *Journal of Food Science and Technology*, 67, 2903-2910.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Peterson, G. L. (1983). Determination of total protein. *Methods in Enzymology*, 91, 95-119.

Porta, R., Mariello, L., Dipierro, P., Sorrentino, A., & Giosafatto, C. V. (2011). Transglutaminase crosslinked pectin- and chitosan based edible films. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 223-238.

Prathapan, R., Thapa, R., Garnier, G., & Tabor, R. F. (2016). Modulating the zeta potential of cellulose nanocrystals using salts and surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 509, 11-18.

Qazanfarzadeh, Z., & Kadivar, M. (2016). Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 1134-1140.

Rafieian, F., & Simonsen, J. (2014). Fabrication and characterization of carboxylated cellulose nanocrystals reinforced glutenin nanocomposite. *Cellulose,* 21, 4167-4180.

Rawel, H. M., Czajka, D., Rohn, S., & Kroll, J. (2002). Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. *International Journal of Biological Macromolecules,* 30, 137-150.

Reddy, J. P., & Rhim, J. W. (2014). Characterization of bionanocomposite films prepared with agar and paper-mulberry pulp nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*, 110, 480-488.

Rezaee, M., Askari, G., EmamDjomeh, Z., & Salami, M. (2020). UV-irradiated gelatin-chitosan bio-based composite film, physiochemical features and release properties for packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 990-996.

Rhim, J. W., Gennadios, A., Fu, D., Weller, C. L., & Hanna, M. A. (1999). Properties of ultraviolet irradiated protein films. *LWT*, 32, 129-133.

Rousta, K., & Bolton, K. (2019). Sorting household waste at the source. *Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches*, 105-114.

Sabato, S. F., Ouattara, B., Yu, H., D'Aprano, G., Le Tien, C., Mateescu, M. A., & Lacroix, M. (2001). Mechanical and barrier properties of cross-linked soy and whey protein based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1397-1403.

Schmid, M., Held, J., Hammann, F., Schlemmer, D., & Noller, K. (2015). Effect of UV-radiation on the packaging-related properties of whey protein isolate based films and coatings. *Packaging Technology and Science*, 28, 883-899.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Schmid, M., Prinz, T. K., Müller, K., & Haas, A. (2017). UV radiation induced cross-linking of whey protein isolate-based films. *International Journal of Polymer Science*. 1-6.

Shellhammer, T. H., & Krochta, J. M. (1997). Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. *Journal of Food Science*, 62, 390-394.

Shi, J., Shi, S. Q., Barnes, H. M., & Pittman, J. C. U. (2011). A chemical process for preparing cellulosic fibers hierarchically from kenaf bast fibers. *Bioresource Technology*, 6, 879-890.

Shih, F. F. (1994). Interaction of soy isolate with polysaccharide and its effect on film properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71, 1281-1285.

Singh, A., Narvi, S. S., Dutta, P. K., & Pandey, N. D. (2006). External stimuli response on a novel chitosan hydrogel crosslinked with formaldehyde. *Bulletin of Materials Science*, 29, 223-238.

Siro, I., & Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. *Cellulose*, 17, 459-494.

Sofla, M. R. K., Brown, R. J., Tsuzuki, T., & Rainey, T. J. (2016). A comparison of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibres extracted from bagasse using acid and ball milling methods. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 7, 1-9.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Stuchell, Y. M., & Krochta, J. M., (1994). Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. *Journal of Food Science*, 59, 1332-1337.

Sukyai, P., Anongjanya, P., Bunyahwuthakul, N., Kongsin, K., Harnkarnsujarit, N., Sukatta, U., & Chollakup, R. (2018). Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films. *Food Research International,* 107, 528-535.

Tai, J., Chen, K., Yang, F., & Yang, R. (2014). Heat-sealing properties of soy protein isolate/polyvinyl alcohol film made compatible by glycerol. *Journal of Applied Polymer Science*, 131, 40308-40314.

Tang, C.-H., Jiang, Y., Wen, Q.-B., & Yang, X.-Q. (2005). Effect of transglutaminase treatment on the properties of cast films of soy protein isolates. Journal of Biotechnology, 120(3), 296-307.

Tardy, B. L., Yokota, S., Ago, M., Xiang, W., Kondo, T., Bordes, R., & Rojas, O. J. (2017). Nanocellulose-surfactant interactions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 29, 57-67.

Thanh, V. H., & Shibasaki, K. (1977), Beta-conglycinin from soybean proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 490, 370-384.

United States Environmental Protection Agency. (2014). Reducing wasted food & packaging: A guide for food services and restaurants. Retrieved from: https://www.epa.gov/sites/production/files/201508/documents/reducing_wasted_food_pkg_tool.pdf

Ustunol, Z., & Mert, B. (2004). Water solubility, mechanical, barrier, and thermal properties of cross-linked whey protein isolate based films. *Journal of Food Science*, 69, 129-133.

Vieira, M. G. A., Da Silva, M. A., Dos Santos, L. O., & Beppu, M. M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, 47, 254-263.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Wang, Z., Yao, Z., Zhou, J., He, M., Jiang, Q., Li, S., Ma, Y., Liu, M. & Luo, S. (2019). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from pueraria root residue. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 1081-1089.

Wihodo, M., & Moraru, C. I. (2013). Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. *Journal of Food Engineering,* 114, 292-302.

Wijeratne, W. B. (1993). Functional properties of soy proteins in food systems. In: K. Tanteeratarm (ed.), Soybean Processing for Food Uses, pp. 29-42. Urbana, IL: International Soybean Program.

Wu, Y., Wang, S., Zhou, D., Xing, C., Zhang, Y., & Cai, Z. (2010). Evaluation of elastic modulus and hardness of crop stalks cell walls by nano-indentation. *Bioresource Technology*, 101, 2867-2871.

Yi, J. B., Kim, Y. T., Bae, H. J., Whiteside, W. S., & Park, H. J. (2006). Influence of transglutaminase-induced cross-linking on properties of fish gelatin films. *Journal of Food Science*, 71, 376-383

Yue, H. B., Cui, Y. D., Shuttleworth, P. S., & Clark, J. H. (2012). Preparation and characterization of bioplastics made from cottonseed protein. *Green Chemistry*, 14, 2009-2016.

Zhang, J., Mungara, P., & Jane, J. (2001). Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. *Polymer*, 42, 2569-2578.

Zhang, X., Do, M. D., Casey, P., Sulistio, A., Qiao, G. G., & Lundin, L. (2010). Chemical cross-linking gelatin with natural phenolic compounds as studied by high-resolution NMR spectroscopy. *Biomacromolecules*, 11, 1125-1132.

รังสินีย์ โสธรวิทย์. (2559). *ฟิล์มและสารเคลือบพอลิเมอร์ชีวภาพสำหรับระบบอาหาร* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

# ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# ภาคผนวก ก
# ข้อมูลเฉพาะของผลิตภัณฑ์

ตารางที่ ก. 1 โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (บริษัท กรุงเทพเคมี จำกัด, กรุงเทพฯ)

Product name: soy protein isolate

Specifications:

| Properties | Standard value |
|---|---|
| Protein | Min. 90.0% |
| Moisture content | Max. 6.0% |
| Sodium | Max. 1.2% |
| pH | 6.9-7.3 |
| Standard plate count | Max 10,000 CFU/g |
| Salmonella | Negative |
| Yeast-mold | Max. 100 CFU/g |
| *E. coli* | <3 CFU/g |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ก. 2 กลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) (Danisco, Copenhagen, Denmark)

Product name : Glycerol monostearate (GMS)

Specifications:

| Properties | Standard value |
|---|---|
| Appearance | Ivory white beads |
| Monoester content (%) | Min. 95 |
| Acid value (mg KOH/g) | Max. 3.0 |
| Iodine value (mg KOH/g) | Max. 2.0 |
| Melting point (°C) | 63-68 |
| Free glycerine (%) | Max. 1.0 |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ก. 3 โซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL) (บริษัท โอลิโอฟายน์ ออกานิก (ประเทศไทย) จำกัด, นนทบุรี)

Product name: Sodium stearoyl lactylate (SSL)

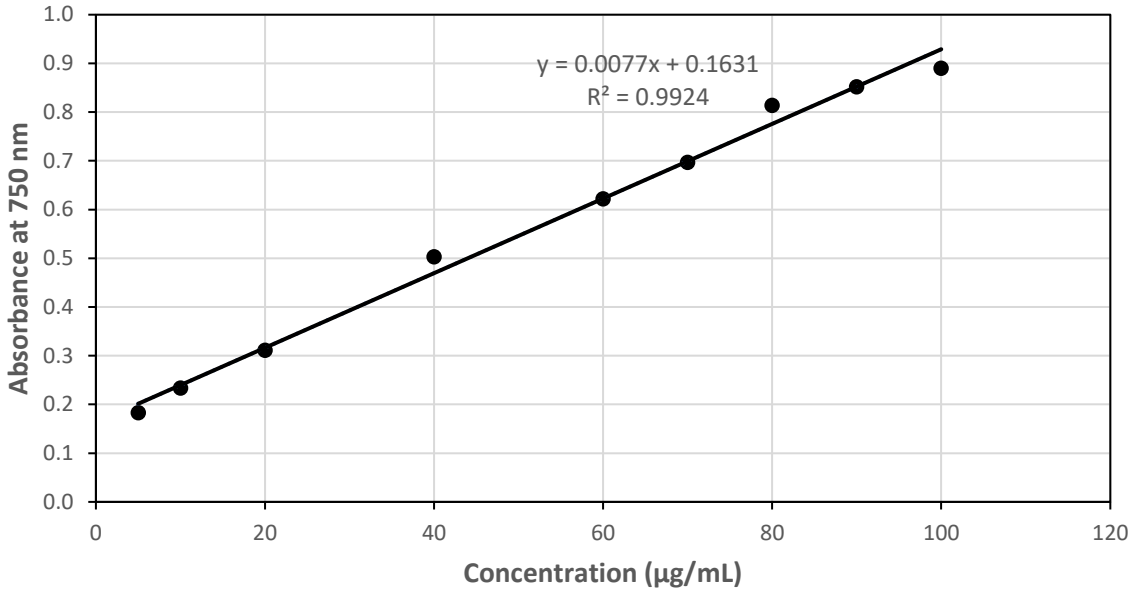
Specifications:

| Properties | Standard value | Actual value |
|---|---|---|
| Appearance | Creamish/white powder | White powder |
| Acid value | 75-100 | 85.77 |
| Ester value | 115-150 | 123.75 |
| Melting point | 45-55°C | 46.7°C |
| Moisture | Max. 2.0% | 1.1818% |
| pH of 10% | 5-7 | 5.73 |
| Particle size | Through 20 Mesh | 99.22% |
| | Through 35 Mesh | 88.82% |
| | Through 50 Mesh | 39.94% |
| | Through 70 Mesh | 14.55% |
| | Through 140 Mesh | 0.45% |
| | Through 230 Mesh | 0.15% |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# ภาคผนวก ข

## กราฟเทียบมาตรฐาน

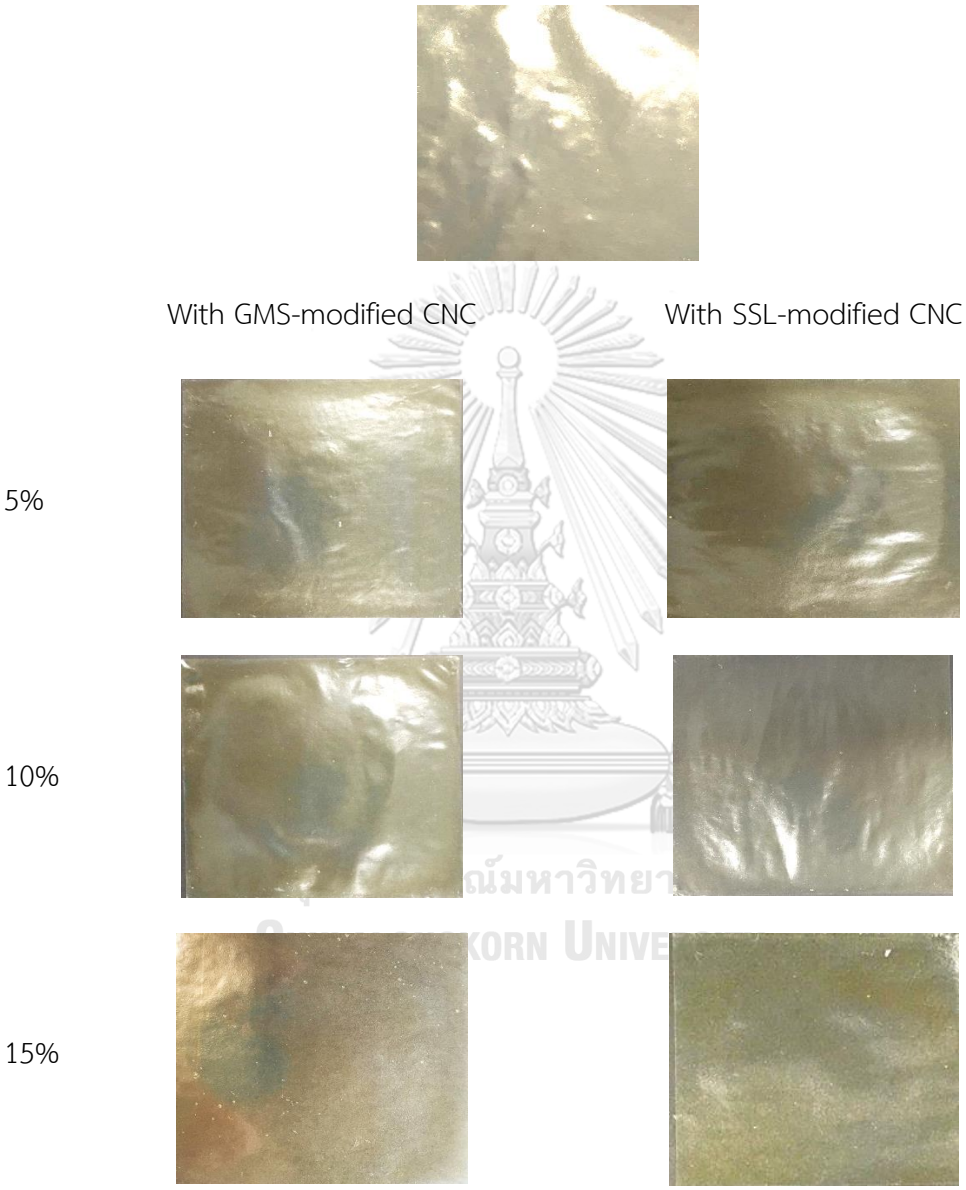



รูปที่ ข. 1 กราฟเทียบมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี modified Lowry

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# ภาคผนวก ค

## รูปตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด




รูปที่ ค. 1 ภาพถ่ายตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว GMS และ SSL โดยเสริมในปริมาณ 5-15% โดยน้ำหนักของสารละลายฟิล์ม

Control

UV_0.06

UV_0.19

UV_0.32

UV_0.45

UV_0.65

UV_1.56

จุฬาลงก HULALON TY

รูปที่ ค. 2 ภาพถ่ายตัวอย่างฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ปริมาณ 15% ที่บ่มด้วยรังสียูวีที่ปริมาณรังสีดูดกลืน 0.06-1.56 จูล/ตารางเซนติเมตร

# ภาคผนวก ง
# ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ง. 1 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว (%โดยน้ำหนักของสารละลาย) | ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล) |
|---|---|---|
| Control | - | $1.69 \pm 0.10^{d}$ |
| With GMS-modified | 5 | $2.16 \pm 0.26^{c}$ |
| CNC | 10 | $2.39 \pm 0.17^{bc}$ |
| | 15 | $2.56 \pm 0.18^{ab}$ |
| With SSL-modified | 5 | $2.22 \pm 0.10^{bc}$ |
| CNC | 10 | $2.39 \pm 0.13^{bc}$ |
| | 15 | $2.84 \pm 0.27^{a}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c,\cdots}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ง. 2 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว (%โดยน้ำหนักของสารละลาย) | การยืดตัวถึงจุดขาด (%) |
|---|---|---|
| Control | - | 167.44 ± 5.25[c] |
| With GMS-modified | 5 | 242.86 ± 12.64[a] |
| CNC | 10 | 228.90 ± 13.07[ab] |
| | 15 | 186.00 ± 0.92[c] |
| With SSL-modified | 5 | 233.36 ± 16.12[ab] |
| CNC | 10 | 215.36 ± 4.34[b] |
| | 15 | 182.67 ± 11.87[c] |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ง. 3 ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว (%โดยน้ำหนักของสารละลาย) | ร้อยละของแสงส่องผ่าน |
|---|---|---|
| Control | - | $83.23 \pm 0.76^{a}$ |
| With GMS-modified | 5 | $81.67 \pm 0.64^{ab}$ |
| CNC | 10 | $81.33 \pm 0.32^{ab}$ |
| | 15 | $80.77 \pm 1.75^{b}$ |
| With SSL-modified | 5 | $81.47 \pm 1.19^{ab}$ |
| CNC | 10 | $81.37 \pm 1.15^{ab}$ |
| | 15 | $80.83 \pm 0.31^{b}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ง. 4 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว (%โดยน้ำหนักของสารละลาย) | สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ($\times 10^{-7}$ กรัม เมตร/พาสคาล ชั่วโมง ตารางเมตร) |
|---|---|---|
| Control | - | $7.40 \pm 0.07^{a}$ |
| With GMS-modified CNC | 5 | $6.62 \pm 0.25^{bc}$ |
| | 10 | $6.63 \pm 0.02^{bc}$ |
| | 15 | $6.19 \pm 0.02^{dz}$ |
| With SSL-modified CNC | 5 | $6.89 \pm 0.07^{b}$ |
| | 10 | $6.26 \pm 0.30^{cd}$ |
| | 15 | $6.01 \pm 0.18^{d}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ง. 5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว (%โดยน้ำหนักของสารละลาย) | มุมสัมผัส (องศา) |
|---|---|---|
| Control | - | 21.09 ± 1.12[e] |
| With GMS-modified CNC | 5 | 24.50 ± 0.51[d] |
| | 10 | 27.15 ± 0.19[c] |
| | 15 | 33.20 ± 1.43[b] |
| With SSL-modified CNC | 5 | 26.85 ± 0.98[c] |
| | 10 | 31.98 ± 0.72[b] |
| | 15 | 42.43 ± 1.36[a] |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ง. 6 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยกลีเซอรอลโมโนสเทียเรต (GMS) และโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลต (SSL)

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยสารลดแรงตึงผิว (%โดยน้ำหนักของสารละลาย) | ความสามารถในการละลายน้ำ (%) |
|---|---|---|
| Control | - | 65.70 ± 1.70[a] |
| With GMS-modified | 5 | 57.52 ± 1.95[b] |
| CNC | 10 | 53.28 ± 3.67[bc] |
| | 15 | 46.10 ± 1.51[e] |
| With SSL-modified | 5 | 56.25 ± 1.27[bc] |
| CNC | 10 | 51.83 ± 4.58[cd] |
| | 15 | 48.32 ± 0.95[de] |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ง. 7 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณรังสีดูดกลืน (จูล/ตารางเซนติเมตร) | ความต้านทานแรงดึงขาด (เมกะพาสคาล) |
|---|---|---|
| Control | - | 2.84 ± 0.27[e] |
| UV_0.06 | 0.06 | 3.81 ± 0.29[d] |
| UV_0.19 | 0.19 | 4.36 ± 0.29[c] |
| UV_0.32 | 0.32 | 4.50 ± 0.05[c] |
| UV_0.45 | 0.45 | 5.15 ± 0.35[b] |
| UV_0.65 | 0.65 | 5.22 ± 0.16[b] |
| UV_1.56 | 1.56 | 6.18 ± 0.15[a] |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% ที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ง. 8 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณรังสีดูดกลืน (จูล/ตารางเซนติเมตร) | การยืดตัวถึงจุดขาด (%) |
|---|---|---|
| Control | - | $182.67 \pm 11.87^{d}$ |
| UV_0.06 | 0.06 | $136.46 \pm 5.75^{b}$ |
| UV_0.19 | 0.19 | $134.50 \pm 11.61^{b}$ |
| UV_0.32 | 0.32 | $129.68 \pm 9.37^{bc}$ |
| UV_0.45 | 0.45 | $123.49 \pm 1.60^{bc}$ |
| UV_0.65 | 0.65 | $118.49 \pm 0.46^{c}$ |
| UV_1.56 | 1.56 | $99.21 \pm 4.39^{a}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% ที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ง. 9 ความโปร่งใสแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณรังสีดูดกลืน (จูล/ตารางเซนติเมตร) | ร้อยละของแสงส่องผ่าน |
|---|---|---|
| Control | - | $80.83 \pm 0.31^{a}$ |
| UV_0.06 | 0.06 | $80.03 \pm 0.23^{b}$ |
| UV_0.19 | 0.19 | $79.88 \pm 0.34^{b}$ |
| UV_0.32 | 0.32 | $78.68 \pm 0.12^{c}$ |
| UV_0.45 | 0.45 | $77.42 \pm 0.43^{d}$ |
| UV_0.65 | 0.65 | $77.22 \pm 0.28^{d}$ |
| UV_1.56 | 1.56 | $74.25 \pm 0.71^{e}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c,\ldots}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% ที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ง. 10 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณรังสีดูดกลืน (จูล/ตารางเซนติเมตร) | สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ($\times 10^{-7}$ กรัม เมตร/พาสคาล ชั่วโมง ตารางเมตร) |
|---|---|---|
| Control | - | $6.01 \pm 0.18^{bc}$ |
| UV_0.06 | 0.06 | $6.07 \pm 0.04^{ab}$ |
| UV_0.19 | 0.19 | $6.15 \pm 0.04^{a}$ |
| UV_0.32 | 0.32 | $6.08 \pm 0.03^{ab}$ |
| UV_0.45 | 0.45 | $6.16 \pm 0.02^{a}$ |
| UV_0.65 | 0.65 | $6.11 \pm 0.01^{ab}$ |
| UV_1.56 | 1.56 | $5.95 \pm 0.04^{c}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% ที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ง. 11 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณรังสีดูดกลืน (จูล/ตารางเซนติเมตร) | มุมสัมผัส (องศา) |
|---|---|---|
| Control | - | $42.43 \pm 1.36^{c}$ |
| UV_0.06 | 0.06 | $42.33 \pm 0.94^{c}$ |
| UV_0.19 | 0.19 | $41.58 \pm 0.51^{c}$ |
| UV_0.32 | 0.32 | $48.50 \pm 0.53^{b}$ |
| UV_0.45 | 0.45 | $49.95 \pm 1.57^{b}$ |
| UV_0.65 | 0.65 | $50.76 \pm 2.66^{b}$ |
| UV_1.56 | 1.56 | $58.31 \pm 0.65^{a}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% ที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ง. 12 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วยโซเดียมสเทียโรอิลแลกทิเลตในปริมาณ 15% ที่ไม่บ่มและบ่มด้วยรังสี UV-C ที่ปริมาณรังสีดูดกลืนต่างๆ

| ตัวอย่างฟิล์ม | ปริมาณรังสีดูดกลืน (จูล/ตารางเซนติเมตร) | ความสามารถในการละลายน้ำ (%) |
|---|---|---|
| Control | - | $48.32 \pm 0.95^{b}$ |
| UV_0.06 | 0.06 | $48.73 \pm 1.81^{ab}$ |
| UV_0.19 | 0.19 | $50.79 \pm 1.09^{a}$ |
| UV_0.32 | 0.32 | $49.34 \pm 0.90^{ab}$ |
| UV_0.45 | 0.45 | $50.12 \pm 0.89^{ab}$ |
| UV_0.65 | 0.65 | $41.29 \pm 0.61^{c}$ |
| UV_1.56 | 1.56 | $33.38 \pm 1.12^{d}$ |

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{a, b, c,\ldots}$ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวอย่างควบคุมคือ ฟิล์มเสริมเซลลูโลสนาโนคริสตัลดัดแปรด้วย SSL ในปริมาณ 15% ที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยรังสียูวี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

# ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| **ชื่อ-สกุล** | เมธาพร วงศ์อุ่น |
| **วัน เดือน ปี เกิด** | 27 เมษายน 2536 |
| **สถานที่เกิด** | โรงพยาบาลพญาไท 1 จังหวัดกรุงเทพมหานคร |
| **วุฒิการศึกษา** | ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล |
| **ที่อยู่ปัจจุบัน** | บ้านเลขที่ 7 ซอยเทอดไท 77 แยก 7 แขวงบางหว้า เขตภาษีเจริญ กรุงเทพมหานคร 10160 |
| **ผลงานตีพิมพ์** | Wongoun, M. and Mahawanich, T. 2020. Effects of surfactant-modified cellulose nanocrystals on properties of soy protein-based composite film. Proceedings of the 22nd Food Innovation Asia Conference 2020 (FIAC2020): Innovation for Future Food and Nutrition Security, Bangkok, June 18-19. |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University