



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรัชญาคุณฐิบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง คุณลักษณะและสมบัติการเกิดฟิล์มของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว และผลของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวต่อสมบัติของฟิล์มผสมจากโปรตีนเวย์

Characterization and Film-Forming Properties of Okra Polysaccharides and Their Effects on Properties of Whey Protein Blend Films

นามผู้วิจัย นางสาวอรัญญา พรหมกุล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ปาริฉัตร หงสประภาส, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุญย์ สัจจานันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ _____ เดือน _____ พ.ศ. _____

สิงสิงห์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

คุณลักษณะและสมบัติการเกิดฟิล์มของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว และผลของ
พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวต่อสมบัติของฟิล์มผสมจากโปรตีนเวย์

Characterization and Film-Forming Properties of Okra Polysaccharides and
Their Effects on Properties of Whey Protein Blend Films

โดย

นางสาวอริญญา พรหมกุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

พ.ศ. 2554

อรัญญา พรหมกุล 2554: คุณลักษณะและสมบัติการเกิดฟิล์มของพอลิแซ็กคาไรด์จาก
กระเจี๊ยบเขียว และผลของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวต่อสมบัติของฟิล์มผสมจาก
โปรตีนเวย์ ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การ
อาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชนะบุญย์ ลัจจอนันตกุล, Ph.D. 173 หน้า

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว (OKP) ด้วยวิธีตามลำดับโดยใช้บัฟเฟอร์แอซิ-
เทต pH 5.2 0.05 M และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 M ได้พอลิแซ็กคาไรด์สองชนิด คือ ชนิดที่
ละลายในบัฟเฟอร์ร้อน (hot buffer soluble solid fraction; HBSS) และชนิดที่ละลายในเบส
(alkaline soluble solid fraction; ASS) ที่มีผลได้เทียบกับน้ำหนักผักสดเท่ากับ 0.96% และ 0.45%
ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของกลีเซอรอลในการขึ้นรูปฟิล์ม HBSS และ ASS มีผลทำให้แรงต้านทาน
การดึงขาด และมอดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มลดลง ($p < 0.05$) ขณะที่การยืดตัว และการซึมผ่านของ
ไอน้ำและก๊าซออกซิเจนของฟิล์มเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) เมื่อ pH เพิ่มขึ้นจาก 3 เป็น 5 และ 7 ทำให้
ค่าแรงต้านทานการดึงขาดและมอดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก HBSS และ ASS สูงขึ้น ($p < 0.05$)
ขณะที่ค่าการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนลดลง ($p < 0.05$) การเติมแคลเซียมไออนมีผลทำให้
แรงต้านทานการดึงขาดและมอดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์ม HBSS และ ASS เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) ขณะที่
การยืดตัว และการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนลดลง ($p < 0.05$)

การเพิ่มขึ้นของ HBSS หรือ ASS มีผลทำให้แรงต้านทานการดึงขาดและมอดูลัสยืดหยุ่น
ของฟิล์มผสมโปรตีนเวย์ (WPI) ลดลง ($p < 0.05$) ขณะที่การยืดตัวและการซึมผ่านของไอน้ำของ
ฟิล์มผสมมีค่าเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) การใช้ OKP แทนกลีเซอรอลบางส่วนในฟิล์มโปรตีนเวย์ มีผลทำ
ให้ฟิล์มผสม WPI-HBSS และ WPI-ASS มีการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนต่ำกว่าฟิล์มที่
ใช้เพียงกลีเซอรอล ที่ระดับการต้านทานการดึงขาดที่ใกล้เคียงกัน จากภาพถ่ายด้วยกล้อง
อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเมื่อเติม OKP ในฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีผลทำให้ผิวของฟิล์มผสม
มีความขรุขระ และเนื้อฟิล์มไม่เป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น สอดคล้องกับผลของค่าความทึบแสงที่
เพิ่มขึ้น ค่าความเงาที่ลดลง และค่าการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น จากการหาค่า T_g
ด้วย DMA พบว่าฟิล์มผสม WPI-HBSS ปรากฏค่า T_g 2 ค่าโดยที่ค่า T_{g1} อยู่ในช่วง -13.3 ถึง
11.6 °ซ ค่า T_{g2} อยู่ในช่วง 65.2 ถึง 67.8 °ซ

Arunya Prommakool 2011: Characterization and Film-Forming Properties of Okra Polysaccharides and Their Effects on Properties of Whey Protein Blend Films. Doctor of Philosophy (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Tanaboon Sajjaanuntakul, Ph.D. 173 pages.

A hot buffer soluble solid (HBSS) and an alkaline soluble solid fraction (ASS) of okra polysaccharides (OKP) were obtained by sequential extraction. The yield of HBSS and ASS were 0.96% and 0.45% of okra pod fresh weight, respectively. Increasing glycerol to produce HBSS and ASS film decreased tensile strength (TS) and elastic modulus (EM) ($p < 0.05$) while increased %elongation (%E), water vapor permeability (WVP) and oxygen permeability (OP) ($p < 0.05$). Increasing pH from 3, 5 to 7 increased TS and EM, while decreased WVP and OP of HBSS and ASS films. Incorporation of calcium ion into HBSS and ASS films increased TS and EM of films but decreased %E, WVP and OP ($p < 0.05$).

Increasing HBSS or ASS content in whey protein isolate (WPI) film reduced TS and EM but increased %E and WVP of the blend films ($p < 0.05$). OP values for WPI-HBSS blend films were lower than OP for WPI or HBSS film ($p < 0.05$). WPI-HBSS and WPI-ASS blend films had lower WVP and OP than WPI films at similar tensile properties. Scanning electron micrographs of blend films demonstrated that the incorporation of OKP into whey protein film resulted in more rougher surface and higher heterogeneity matrix as compared to the one without OKP. These results corresponded with increasing opacity, decreasing gloss, increasing WVP and OP values of blend films. DMA thermogram of WPI-HBSS blend films exhibited two T_g values, T_{g1} at -13.3 to 11.6 °C and T_{g2} at 65.2 to 67.8 °C.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนะบุญย์ สัจจานันตกุล อาจารย์ที่
ปริญญานิพนธ์หลักเป็นอย่างสูง ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำทั้งในส่วนของ การเรียนและ
งานวิจัยรวมถึงให้คำปรึกษา และสละเวลาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ ขอ
กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปาริฉัตร หงสประภาส อาจารย์ที่ปริญญานิพนธ์ร่วม ที่
ให้คำปรึกษาและแนวทางแก้ไขทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ

Professor Dr. John M. Krochta, Department of Food Science and Technology, University of
California Davis ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ตลอดจนดูแลและให้การสนับสนุนเครื่องมือและทุนวิจัย
ขณะข้าพเจ้าทำวิจัยที่ Department of Food Science and Technology, University of California
Davis

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่อบรม สั่งสอนมาจนถึงบัดนี้ ขอขอบพระคุณสำนักงาน
คณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) ที่ให้ทุนอุดหนุนการศึกษาและการทำวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่
ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร เจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร เจ้าหน้าที่
ห้องสมุดคณะอุตสาหกรรมเกษตร และเจ้าหน้าที่หอสมุดกลาง ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และ
คำปรึกษาต่างๆ เกี่ยวกับเครื่องมือ และข้อมูลที่ใช้ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นิสิตปริญญาโทและเอก สาขาวิทยาศาสตร์การอาหารที่
ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจเสมอมาและท้ายที่สุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบ
ขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติผู้ใหญ่ทุกท่าน ที่ให้การอบรมสั่งสอนเสมอมา รวมถึงคุณ
เกรียงไกร พัทธากร ที่ให้การสนับสนุน ให้คำปรึกษา และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดระยะเวลาการศึกษา
และการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงถึงวันนี้ คุณค่าของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่
อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

อริญญา พรหมกุล

พฤษภาคม 2554

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(11)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	24
อุปกรณ์	24
วิธีการ	29
ผลและวิจารณ์	48
สรุปและข้อเสนอแนะ	124
สรุป	124
ข้อเสนอแนะ	126
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	128
ภาคผนวก	147
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ	148
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางสถิติ	155
ภาคผนวก ค DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์ม	169
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	173

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณผลได้ (yield) ของ AIS และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ในรูปผงแห้ง (OKP) เทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา	51
2 องค์ประกอบทางเคมีของ OKP	52
3 สมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถ ในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ของฟิล์ม OKP ที่ใช้กลีเซอรอลเป็น พลาสติกไซเซอร์เปรียบเทียบกับฟิล์มไบโอพอลิเมอร์ชนิดต่าง ๆ และฟิล์ม สังเคราะห์	64
4 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่าน ของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ที่ประกอบด้วยกลีเซอรอลอย่าง เดียว หรือประกอบด้วย OKP ร่วมกับกลีเซอรอล โดยใช้อัตราส่วนของ WPI+OKP fraction ต่อกลีเซอรอล เท่ากับ 3 ต่อ 1	90
5 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการซึมผ่าน ของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ และฟิล์มจาก OKP เทียบกับ ฟิล์มสังเคราะห์จากวัสดุปิโตรเลียม	96
6 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการซึมผ่าน ของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP เทียบกับฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์ อื่น ๆ	97
7 ค่าสีของฟิล์มผสม WPI-OKP (HBSS และ ASS)	98
8 เปรียบเทียบสมบัติด้านสี ความทึบแสง และความเงาของฟิล์มผสม WPI-HBSS และ ฟิล์มผสม WPI-ASS	105
9 Glass transition temperatures (T_g) และการเปลี่ยนแปลงของความจุความร้อน จำเพาะ (ΔC_p) ระหว่าง glass transition จาก DSC เทอร์โมแกรมของ ฟิล์ม	114
10 Glass transition temperatures (T_g) และ ค่า Tan δ สูงสุด ณ จุดเกิด glass transition จาก DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์ม	123

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ก1 สูตรการเตรียมสารละลายฟิล์ม	153
ก2 อัตราส่วนของส่วนผสมในการเตรียมสารละลายฟิล์ม	153
ข1 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอล ต่อแรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP	156
ข2 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอล ต่อมอดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP	156
ข3 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอล ต่อการยืดตัวของฟิล์มจาก OKP	157
ข4 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอล ต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP	157
ข5 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอล ต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP	158
ข6 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อแรง ต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP	158
ข7 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อมอดูลัส ยืดหยุ่นในฟิล์มจาก OKP	159
ข8 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อการยืดตัว ของฟิล์มจาก OKP	159
ข9 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อ ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP	160
ข10 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อ ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP	160
ข11 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP	161
ข12 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ มอดูลัสยืดหยุ่นในฟิล์มจาก OKP	161

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข13 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออนต่อการยึดตัวของฟิล์มจาก OKP	162
ข14 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออนต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP	162
ข15 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออนต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP	163
ข16 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อแรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มผสม WPI-OKP	163
ข17 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อมอดูลัสยืดหยุ่นในฟิล์มผสม WPI-OKP	164
ข18 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อการยึดตัวของฟิล์มผสม WPI-OKP	164
ข19 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มผสม WPI-OKP	165
ข20 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์มผสม WPI-OKP	165
ข21 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อกำลังของฟิล์มผสม WPI-OKP	166
ข22 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อกำลังการทึบแสงของฟิล์มผสม WPI-OKP	167
ข23 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อกำลังการเจาที่มุม 20 องศา ของฟิล์มผสม WPI-OKP	167
ข24 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อกำลังการเจาที่มุม 60 องศา ของฟิล์มผสม WPI-OKP	168

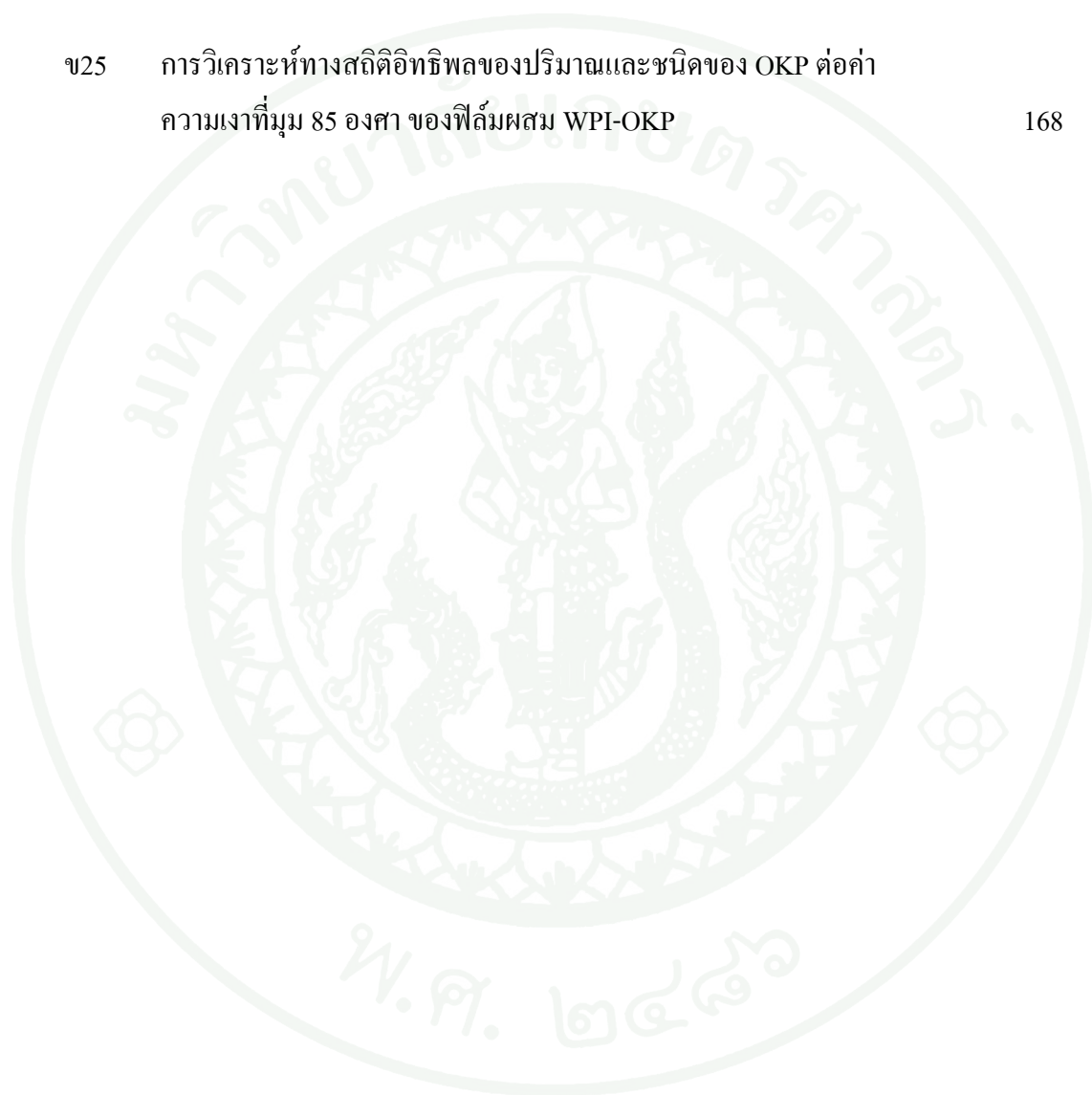
สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่

หน้า

- ข25 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อค่า
 ความเงาที่มุม 85 องศา ของฟิล์มผสม WPI-OKP

168



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แบบจำลองโครงสร้างของผนังเซลล์พืช	6
2	โครงสร้างของ HG RG I และ RG II ในเพกติน	6
3	แผนภาพการเตรียมผนังเซลล์ของกระเจี๊ยบเขียว	31
4	แผนภาพการสกัด OKP ด้วยวิธีตามลำดับ (Sequential extraction)	32
5	แผนภาพการเตรียมฟิล์ม OKP	35
6	แผนภาพการเตรียมฟิล์มโปรตีนเวย์	40
7	แผนภาพการเตรียมฟิล์มผสม WPI-OKP	43
8	กระเจี๊ยบเขียวที่ใช้ในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์	48
9	ฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS	54
10	แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ	57
11	มอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ	58
12	การยืดตัวของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ	58
13	ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ	61
14	ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ	62
15	แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ	66
16	มอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ	66
17	การยืดตัวของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ	67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ	70
19	ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ	72
20	แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ	74
21	มอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ	74
22	การยึดตัวของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ	75
23	ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ	77
24	ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ	80
25	แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	82
26	มอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	82
27	การยึดตัวของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	83
28	แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มผสม WPI-OKP และฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ปริมาณ HBSS+Gly , ASS+Gly และ Gly เท่ากัน	85
29	มอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มผสม WPI-OKP และฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ปริมาณ HBSS+Gly , ASS+Gly และ Gly เท่ากัน	86

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
30	การยึดตัวของฟิล์มผสม WPI-OKP และฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ปริมาณ HBSS+Gly , ASS+Gly และ Gly เท่ากัน	86
31	ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	87
32	ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	91
33	ความทึบแสง (opacity) ของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	99
34	ความเงา (gloss) ที่มุม 20 องศาของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	102
35	ความเงา (gloss) ที่มุม 60 องศาของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	102
36	ความเงา (gloss) ที่มุม 85 องศาของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ	103
37	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มจากโปรตีนเวย์	107
38	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มจาก HBSS	107
39	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์ม ASS	108
40	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: HBSS (3:1)	109
41	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: HBSS (1:1)	110
42	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: HBSS (1:3)	110

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
43	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: ASS (3:1)	111
44	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: ASS (1:1)	111
45	ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: ASS (1:3)	112
46	Differential scanning calorimetry (DSC) เทอร์โมแกรมของฟิล์มจาก โปรตีนเวย์ ฟิล์มจาก OKP และฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 1	113
47	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มจากโปรตีนเวย์	116
48	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มจากจาก OKP ชนิด HBSS	117
49	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มจากจาก OKP ชนิด ASS	117
50	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: HBSS (3:1)	119
51	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: HBSS (1:1)	119
52	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: HBSS (1:3)	120
53	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: ASS (3:1)	120
54	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: ASS (1:1)	121
55	DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: ASS (1:3)	121
ภาพผนวกที่		
ก1	กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	149
ก2	กราฟมาตรฐานของกรดกลูโคโนริกสำหรับการวิเคราะห์น้ำตาล ยูโรไนต์ทั้งหมด	150
ก3	กราฟมาตรฐานของเมทานอล	152

สารบัญภาพ (ต่อ)

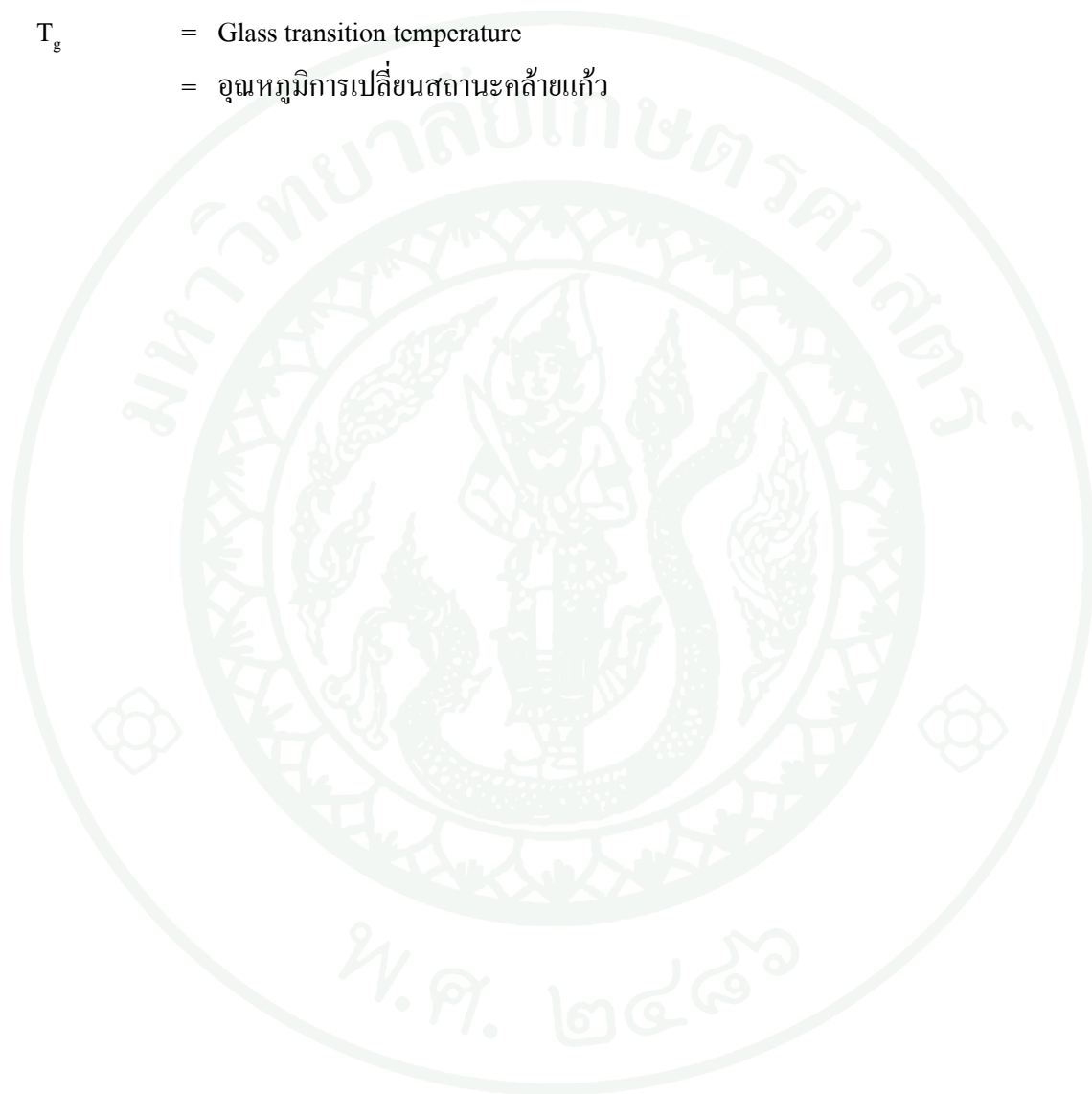
ภาพผนวกที่		หน้า
ค1	DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มจากโปรตีนเวย์	170
ค2	DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มจาก HBSS	170
ค3	DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มจาก ASS	171
ค4	DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI-HBSS	171
ค5	DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI-ASS	172

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AIS	= Alcohol Insoluble Solids ของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์
OKP	= Okra polysaccharide พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว
HBSS	= Hot buffer soluble solid fraction พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวชนิดที่ละลายในบัฟเฟอร์ร้อน
ASS	= Alkaline soluble solid fraction พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวชนิดที่ละลายในเบส
WPI	= Whey protein isolate โปรตีนเวย์
WPI-OKP	= Whey protein isolate and okra polysaccharide blend edible film ฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว
WPI-HBSS	= Whey protein isolate and hot buffer soluble solid blend edible film ฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวชนิดที่ละลายในบัฟเฟอร์ร้อน
WPI-ASS	= Whey protein isolate and alkaline soluble solid blend edible film ฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวชนิดที่ละลายในเบส
Gly	= Glycerol กลีเซอรอล
TS	= Tensile strength แรงต้านทานการดึงขาด
EM	= Elastic modulus มอดุลัสยืดหยุ่น
%E	= %Elongation การยืดตัว
WVP	= Water vapor permeability ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

- OP = Oxygen permeability
= ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน
- T_g = Glass transition temperature
= อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว



คุณลักษณะและสมบัติการเกิดฟิล์มของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวและผลของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวต่อสมบัติของฟิล์มผสมจากโปรตีนเวย์

Characterization and Film-Forming Properties of Okra Polysaccharides and Their Effects on Properties of Whey Protein Blend Films

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียว (Okra) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench โดยมีต้นกำเนิดมาจากประเทศแอฟริกา มีการปลูกในหลาย ๆ ประเทศ ได้แก่ ประเทศไทย ประเทศแถบตะวันออกกลาง ประเทศแอฟริกา และทางตอนใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา (Ndjouenkeu *et al.*, 1996) กระเจี๊ยบเขียวเป็นผักที่มีเมือกของพอลิแซ็กคาไรด์จึงนิยมนำฝักกระเจี๊ยบเขียวมาเป็นส่วนประกอบอาหารประเภทซूप สตูว์ เพื่อเพิ่มความข้นหนืด (Woolfe *et al.*, 1977; BeMiller *et al.*, 1993) ฝักกระเจี๊ยบเขียวมีสรรพคุณทางยาและใช้รักษาโรคหลายชนิด ได้แก่ มีสรรพคุณขับปัสสาวะ รักษาโรคในช่องปาก โรคกระเพาะอาหาร และบรรเทาอาการระคายเคืองของเนื้อเยื่อที่อักเสบ (Ndjouenkeu *et al.*, 1996) อีกทั้งมีรายงานว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวสามารถช่วยควบคุมปริมาณกลูโคสในเลือด และลดระดับของคอเลสเตอรอลในหนู (Lengsfeld *et al.*, 2004)

ผนังเซลล์ของฝักกระเจี๊ยบเขียวประกอบด้วยองค์ประกอบที่ซับซ้อนของโมเลกุลขนาดใหญ่มาก ๆ ชนิด การสกัดด้วยวิธีตามลำดับ (sequential extraction) โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำ กีเลตติ้งเอเจนต์ และเบส ตามลำดับ สามารถสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดต่าง ๆ ที่ภายในผนังเซลล์ออกมาได้ เช่น เพกติน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส (Hilz *et al.*, 2004) Sengkhampan *et al.* (2009a, 2009b) สกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยวิธีตามลำดับโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวชนิดต่าง ๆ ได้แก่ พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ละลายในบัฟเฟอร์ร้อน (hot buffer soluble solid fraction, HBSS) พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ละลายในกีเลตติ้งเอเจนต์ (chelating agent soluble solid fraction, CHSS) และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่ละลายในเบสเจือจาง (diluted alkaline soluble solid fraction, DASS) ซึ่งแต่ละชนิดประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างและองค์ประกอบที่แตกต่างกัน

ปัจจุบันผู้บริโภคตระหนักถึงสุขภาพ คุณค่าทางโภชนาการ ความปลอดภัยและปัญหาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมมากขึ้น จึงหันมาให้ความสนใจกับฟิล์มบริโกลได้ ซึ่งนอกจากประโยชน์ต่อร่างกายแล้วยังสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ จึงมีการใช้ฟิล์มบริโกลได้จากไบโอพอลิเมอร์เพื่อปรับปรุงคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร โดยทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันอาหารออกจากความชื้น ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ ไขมัน กลิ่นและสารระเหยได้ต่าง ๆ ที่มีอยู่ในบรรยากาศ (Krochta, 2002; Sothornvit and Krochta, 2005) โปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์มักจะใช้เพื่อเตรียมฟิล์มบริโกลได้เนื่องจากมีสมบัติเกิดฟิล์มได้ดี (Han and Gennadios, 2005) ฟิล์มจากโปรตีนมีความเปราะและค่อนข้างแตกง่าย เนื่องจากพอลิเมอร์มีแรงยึดเกาะที่แข็งแรง (Lim *et al.*, 2002) ดังนั้นต้องใช้พลาสติกไซเซอร์เพื่อช่วยให้มีสมบัติการดึงที่เหมาะสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งความยืดหยุ่นเพื่อหลีกเลี่ยงการแตกของฟิล์ม ในขณะที่พอลิแซ็กคาไรด์มีความเหมาะสมในการผลิตเป็นฟิล์มได้โดยไม่ต้องใช้พลาสติกไซเซอร์ ทั้งฟิล์มจากโปรตีนและฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติป้องกันออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และไขมันได้ดี แต่ป้องกันไอน้ำหรือความชื้นได้ไม่ดี เนื่องจากลักษณะเด่นเป็นพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำ (hydrophilic nature) (Krochta *et al.*, 1994; Gennadios, 2002; Sothornvit and Krochta, 2005) การเติมพอลิแซ็กคาไรด์เข้าไปในฟิล์มจากโปรตีนสามารถปรับปรุงสมบัติการเป็นตัวป้องกัน (barrier properties) และสมบัติการดึงของฟิล์มจากโปรตีนได้ (Lacroix and Cooksey, 2005) โดยเชื่อว่าพอลิแซ็กคาไรด์สามารถเกิดสารเชิงซ้อนทางไฟฟ้าสถิตย์ (electrostatic complexes) หรือเกิดการเชื่อมข้ามกับ โปรตีน (Letendre *et al.*, 2002; Coughlan *et al.*, 2004)

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวสามารถให้สารละลายที่มีความหนืด เกิดเจลได้ และให้โฟมที่คงตัว (Woolfe *et al.*, 1977) Sengkhamparn *et al.* (2010) ระบุว่า HBSS ให้ความหนืดสูงกว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวชนิดอื่น ๆ เนื่องจากมีส่วนของน้ำตาลแรมโนสที่มีการแทนที่ด้วยหมู่แอซีทิล (acetylated rhamnosyl residues) ที่ส่งผลทำให้เกิดการรวมตัวของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic association) ปัจจุบันยังไม่เคยมีงานวิจัยที่ตรวจสอบสมบัติการเกิดฟิล์มของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว ดังนั้นการผลิตฟิล์มบริโกลได้จากพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวนอกจากจะใช้ป้องกันอาหารแล้ว ยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพด้วย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบคุณลักษณะและสมบัติการเกิดฟิล์มของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวโดยการสกัดด้วยวิธีตามลำดับ โดยวิเคราะห์ผลของชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่สกัดด้วยวิธีตามลำดับ ที่มีต่อสมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของ

ไอน้ำและความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์จาก
กระเจี๊ยบเขียวในภาวะที่มีกลีเซอรอล ความเป็นกรด-เบส ปริมาณแคลเซียมแตกต่างกัน ตลอดจนผล
ของชนิดของชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวที่สกัดด้วยวิธีตามลำดับที่มีต่อสมบัติต่าง ๆ
ของฟิล์มผสมจากโปรตีนเวย์



วัตถุประสงค์

1. ศึกษาคุณลักษณะ (ปริมาณผลได้ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลยูโรโนค ปริมาณเมทานอล และอื่น ๆ) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่สกัดด้วยวิธีตามลำดับ

2. ศึกษาผลของปริมาณกลีเซอรอล ความเป็นกรด-เบส และปริมาณแคลเซียมไอออนต่อสมบัติการคั่ง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซ ออกซิเจนของฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่สกัดด้วยวิธีตามลำดับ

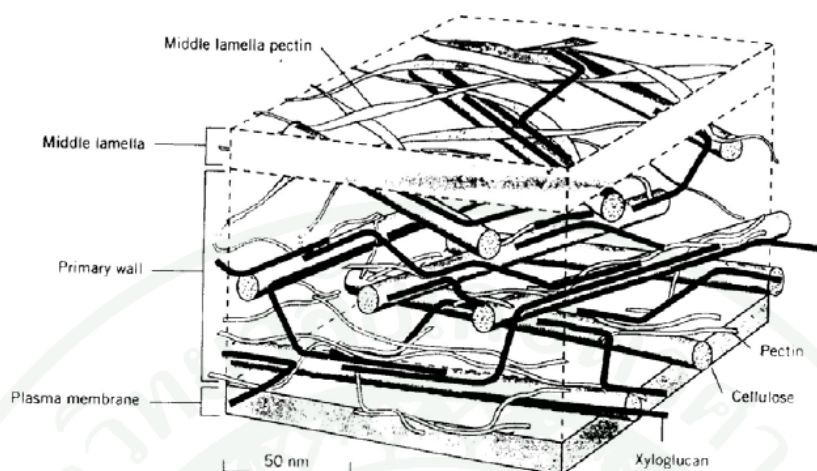
3. ศึกษาผลของชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวที่สกัดด้วยวิธีตามลำดับต่อสมบัติการคั่ง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซ ออกซิเจน สมบัติการมองเห็น โครงสร้างขนาดเล็ก และอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature) ของฟิล์มผสมจากโปรตีนเวย์และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว

การตรวจเอกสาร

1. พอลิแซ็กคาไรด์จากพืช (Plant polysaccharides)

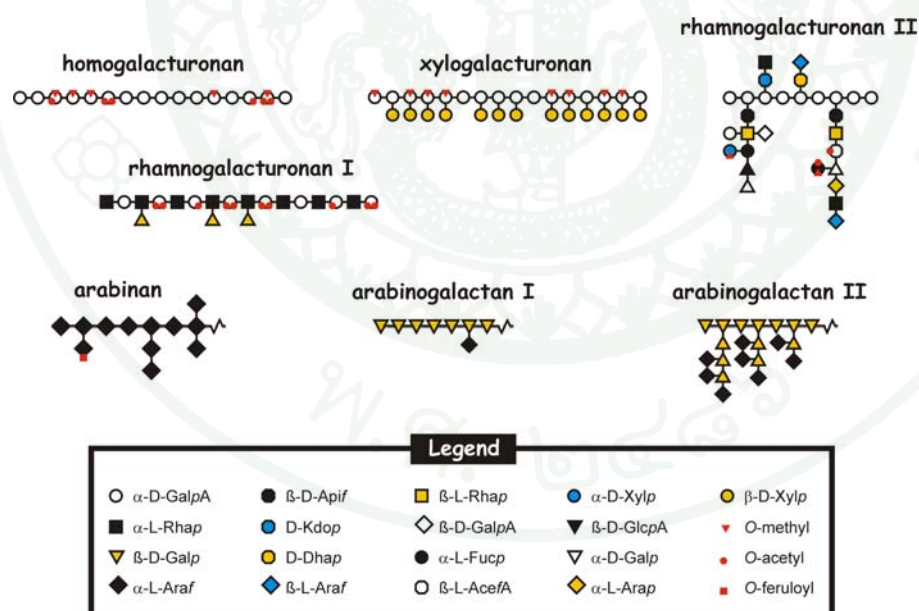
ผนังเซลล์ของพืชเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อนที่ประกอบด้วยโมเลกุลขนาดใหญ่หลาย ๆ ชนิดที่เชื่อมข้ามอยู่ด้วยกัน โดยพบพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพกตินที่บริเวณผนังเซลล์ชั้นต้นที่สะสมเมื่อเซลล์เจริญเติบโต ดังภาพที่ 1 โดยพบโปรตีน สารประกอบฟีนอลิก แร่ธาตุ และเอนไซม์ในปริมาณเล็กน้อย สารประกอบเพกติกที่อยู่ที่ยึดผนังเซลล์มีผลอย่างมากต่อเนื้อสัมผัสของพืช (Carpita and Gibeaut, 1993)

เพกตินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยโครงสร้างหลัก ๆ สามชนิด คือ homogalacturonan (HG, smooth regions), rhamnogalacturonan I (RG I, hairy regions) และ rhamnogalacturonan II (RG II) (Voragen *et al.*, 1995) ดังภาพที่ 2 HG มีโครงสร้างเป็นโซ่เส้นตรงยาวของ α -(1,4)-linked-D-galacturonosyl residue ซึ่งสามารถถูกแทนที่ได้ด้วยหมู่เมทิล หรือ แอซีทิลที่ตำแหน่งที่ 2 หรือ 3 ขณะที่ RG I ประกอบด้วยโครงสร้างหลักของ α -(1,2)-linked-L-rhamnosyl และ α -(1,4)-linked-D-galacturonosyl residue โดยมีอัตราส่วนของน้ำตาลแรมโนส และ กรดกาแล็กทูโรนิก เท่ากับ 1 ต่อ 1 และมีโซ่ข้างเป็นน้ำตาลชนิดเป็นกลาง เช่น arabinan เกาะอยู่ซึ่งเรียกว่า arabinogalactans (Schols and Voragen, 2002) ส่วน RG II เป็นเพกตินโครงสร้างพิเศษซึ่งพบมากในพืชต่าง ๆ โดยพบว่าเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนต์อยู่กับ HG และประกอบด้วยน้ำตาลหลาย ๆ ชนิดที่แตกต่างกัน โครงสร้างหลักคือ α -(1,4)-linked-D-galacturonosyl residue (O'Neill *et al.*, 2001, 2004)



ภาพที่ 1 แบบจำลองโครงสร้างของผนังเซลล์พืช

ที่มา: Hopkins and Hüner (2004)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ Homogalacturonan (HG), Rhamnogalacturonan I (RG I) และ Rhamnogalacturonan I (RG II) ในเพกติน

ที่มา: Sengkhamparn (2009)

2. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากพืช (Plant polysaccharides extraction)

การสกัดผนังพืชด้วยวิธีสกัดตามลำดับ (sequential extraction) โดยใช้สารสกัดต่างชนิดกัน ทำให้ได้ชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์ต่างชนิดกัน อาทิเช่น เพกติน เฮมิเซลลูโลส และ เซลลูโลส (Hilz *et al.* 2005) โดยปกติการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเซลล์พืชด้วยน้ำทำให้ได้เพกตินที่มี ปริมาณ น้ำตาลที่เป็นกลาง (neutral sugar) สูง ขณะที่การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเซลล์พืชด้วย chelating agents ได้แก่ ammonium oxalate, sodium hexametaphosphate, ethylene diamine tetraacetate (EDTA), cyclohexane diamine tetraacetate (CDTA) ทำให้ได้เพกตินที่มีค่าลำดับขั้นการเกิดเมทธิเลชั่น (degree of methylation; DM) สูง (Voragen *et al.*, 1995) การสกัดต่อมาใช้สารละลายเบสเจือจาง (0.05 M sodium hydroxide) ประกอบด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (sodium borohydride) เพื่อป้องกันการออกซิไดซ์ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ส่วนที่เป็นส่วนปลายของน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งการสกัดดังกล่าวต้องทำที่อุณหภูมิต่ำเพื่อป้องกันการเกิด β -elimination degradation (Voragen *et al.*, 1995)

Sengkhampan *et al.* (2009a, 2009b) สกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยวิธีตามลำดับ พบว่าการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยบัฟเฟอร์ร้อน ทำให้ได้ hot buffer soluble solid fraction (HBSS) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว เป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุเดียวกัน (homogenously-charged polymer) มีโครงสร้างหลักคือ แรมโนกาแล็กทูโรแนนชนิดที่ 1 ที่เป็นกิ่งก้าน (branched rhamnogalacturonan type I, RG I) และมีโซ่ข้างสั้น ๆ ของน้ำตาลกาแล็กแทน ซึ่ง RG I ที่พบนี้เป็นชนิดที่ไม่ได้พบทั่วไปในผนังเซลล์พืช เนื่องจากโดยปกติแล้ว หมู่แอซิติลจะเกาะอยู่ที่กรดกาแล็กทูโรนิก (O-acetylated galacturonic acids) ขณะที่ RG I ของ HBSS หมู่แอซิติลเกาะอยู่ที่ตำแหน่ง O-3 ของน้ำตาลแรมโนสใน RG I (O-3 of rhamnosyl moiety in RG I) จากนั้นทำการสกัดส่วนที่เหลือด้วยคีเลตติ้งเอเจนต์ ได้ (chelating agent soluble solid fraction, CHSS) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว ประกอบด้วยเพกตินที่มีโครงสร้างแบบ RG I น้อย และมีโซ่ข้างเป็นน้ำตาลกาแล็กโทสสายยาวกว่า HBSS มีน้ำตาลยูโรไนด์ปริมาณสูง ส่วนหมู่แอซิติลเกาะอยู่กับกรดกาแล็กทูโรนิกต่างกับ HBSS นอกจากนี้ ยังพบว่า CHSS มีโครงสร้างที่เป็น HG มากกว่า HBSS และเมื่อสกัดส่วนที่เหลือด้วยเบสเจือจางได้ส่วนที่เรียกว่า (diluted alkaline soluble solid fraction, DASS) ประกอบด้วยเพกตินเชิงซ้อน คือ arabinogalactan type I (AG I) and type II (AG II) มีโซ่ข้างเป็นน้ำตาลที่เป็นกลาง เมื่อสกัดต่อด้วยเบสเข้มข้นได้ (concentrated alkaline soluble solid fraction, CASS) ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ที่รวมอยู่กับเฮมิเซลลูโลส ขณะที่กากที่เหลือประกอบด้วย ลิกนินและเซลลูโลส

3. พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

3.1 กระเจี๊ยบเขียว (Okra plant)

กระเจี๊ยบเขียว (Okra) ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Abelmoshus esculentus* (L.) Moench อยู่ในวงศ์ Malvaceae มีต้นกำเนิดในประเทศแอฟริกา ปัจจุบันสามารถเพาะปลูกในหลายประเทศ เช่น ประเทศไทย ประเทศแถบตะวันออกกลาง ประเทศแอฟริกา และทางตอนใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา กระเจี๊ยบเขียวมีชื่อสามัญว่า Okra การเรียกชื่อขึ้นกับแต่ละภูมิภาค ในสหรัฐอเมริกาเรียกว่า *gumbo* ประเทศอินเดียเรียกว่า *bbindi* ขณะที่ประเทศแถบอาหรับเรียกว่า *bamia* และเจริญเติบโตได้ดีในภูมิอากาศร้อนชื้น (BeMiller *et al.*, 1993) ส่วนที่บริโภคได้คือฝัก เก็บเกี่ยวในขณะที่ยังอ่อนและไม่แก่ ฝักแรกเก็บเกี่ยวได้หลังจากปลูก 2 เดือน ฝักมักใช้รับประทานสด บรรจุกระป๋อง แช่แข็ง ทำแห้ง เมื่อกของกระเจี๊ยบเขียวได้จากการนำฝักกระเจี๊ยบเขียวแห้งไปบดเป็นผงแล้วนำไปสกัดด้วยของเหลว เช่น น้ำ ได้ส่วนของพอลิแซ็กคาไรด์เป็นเมือกเหนียว ใช้เป็นส่วนประกอบอาหารประเภทซूप สตูว์ เพื่อเพิ่มความข้นหนืด (Ndjouenkeu *et al.*, 1996; Ramsden, 2004; Center for New Crops and Plant Products, 2007)

3.2 โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมี

มีหลาย ๆ งานวิจัยที่โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว พบว่ามีความแตกต่างกันขึ้นกับขั้นตอนและวิธีการในการสกัด รวมทั้งสายพันธุ์ ความแก่อ่อนของฝักกระเจี๊ยบเขียวดังนี้

Tomada *et al.* (1980) รายงานว่าองค์ประกอบที่สำคัญของ OKP ที่สกัดด้วยน้ำเย็นและแยกด้วย 10 % สารละลายคลอโรฟอร์มได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างหลักเป็นเส้นตรงของ α -(1,2)-linked rhamnosyl และ α -(1,4)-linked galacturonosyl residues มีโซ่ข้างเป็น β -(1,4)-linked galactan ซึ่งถูกแทนที่ด้วย O-4 of half of the rhamnosyl residues มีปริมาณแอสีทิล 5.5% และโปรตีน 12% และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1.7×10^6 daltons

องค์ประกอบของเมือกกระเจี๊ยบเขียวประกอบด้วย arabinogalactan proteoglycan ที่มีกรดแอมิโน โดยที่มีอัตราส่วนของ arabinose และ galactose เท่ากับ 10:3 และมีปริมาณของ

rhamnose และ galacturonic acid จำนวนมาก พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์น้อย แต่เป็นตัวให้ความข้นหนืดที่ดี (Ramsden, 2004)

Baht and Tharathan (1986) สกัดฝักระเจี๊ยบเขียวที่ปราศจากเมล็ดด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 M ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 6-8 ชั่วโมง แยกออกด้วยโครโมโตกราฟีแบบ DEAE – cellulose ส่วนที่แยกได้ถูกชะด้วยแอมโมเนียมคาร์บอเนต 0.1 โมลาร์ และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการกรองด้วยเจล (gel filtration) พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10^6 ดาลตัน ซึ่งมีโครงสร้างหลักคือ (1 → 4)-linked D-galactopyranosyluronic acid residues interspersed with (1 → 2) – linked L-rhamnosyl residues และพบว่าแรมโนสมีน้ำตาล D-galactose เป็นโซ่ข้างเกาะที่ตำแหน่ง (1 → 4) และหรือ (1 → 6) หนึ่งหรือสองสาย

เมื่อมองกระเจี๊ยบเขียวก็คือ arabinogalactan proteoglycan ที่มีกรดแอมิโนและน้ำตาลอะราบินอสและกาเล็กโทสในอัตราส่วน 10:3 และมีน้ำตาลแรมโนสและกรดกาเล็กโทโรนิก (Ramsden, 2004) ขณะที่ Hirose *et al.* (2004) รายงานว่าการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวด้วยน้ำ โดยไม่ได้เอาเมล็ดออก ประกอบด้วยน้ำตาลแรมโนส กาเล็กโทส กลูโคส และกรดยูโรนิกในอัตราส่วน 1:2.46:0.33:2.0 และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10^7 ดาลตัน ขณะที่ Sengkhampan *et al.* (2009b) รายงานว่า HBSS ประกอบด้วยน้ำตาลแรมโนส กาเล็กโทส กลูโคส และกรดยูโรนิกในอัตราส่วน 1:3.8:0.18:2.11 โดยที่พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10^6 ดาลตัน

3.3 สมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว (Okra polysaccharide properties)

Ramsden (2004) รายงานว่ากัมของกระเจี๊ยบเขียวเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ไม่ดี แต่สามารถทำหน้าที่เป็นสารให้ความหนืดได้ ขณะที่วชิราภรณ์ (2549) พบว่าสารละลาย OKP มีความหนืดต่ำที่ pH ต่ำ (2.7-7.0) และความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ pH สูงขึ้น (8.0-10.8) ความหนืดของสารละลาย OKP ที่ความเข้มข้น 0.5% น้ำหนักต่อน้ำหนัก ลดลงสองเท่าเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องสารละลายไม่สามารถกลับมามีความหนืดเท่าเดิมได้ โดยที่ความหนืดลดลง และพบว่าความเข้มข้นของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (0-1,000 ไมโครโมลาร์) ไม่มีผลต่อความหนืดของสารละลาย OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว มีลักษณะหนืด ขุ่นเล็กน้อย เป็น pseudoplastic, และเป็นของเหลวกึ่งแข็ง (viscoelastic) กระจายตัวในน้ำได้ (BeMiller *et al.*, 1993) Baht and Tharathan (1987) พบว่า ความหนืดสูงสุดของ borohydride-soluble fraction พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว (BSP) อยู่ในช่วงความเป็นกรด-เบส 4-6 และพบว่าสารละลาย BSP แสดงพฤติกรรมแบบ pseudoplastic และมีความหนืดลดลงเมื่อเติมสารที่ละลายในน้ำ แต่ความหนืดจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเติมมอลโทเดกซ์ทรินอาจเนื่องมาจากอันตรกิริยาของพันธะไฮโดรเจน ขณะที่สมบัติทางวิทยาการะแสของสารละลาย BSP มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเมื่อมีเกลือที่มีประจุหนึ่ง (monovalent salts) เช่น NaCl และ KCl แต่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากเมื่อมีเกลือประจุสอง (divalent salts) เช่น CaCl_2 และ MgSO_4 นอกจากนี้สารละลาย BSP ยังมีสมบัติเป็นโฟมที่คงตัว และมีสมบัติเกิดเจลได้ โดยเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 60°C นาน 30 นาที และทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C นาน 24 ชั่วโมง ให้เจลที่มีความคงตัว และเมื่อผสม BSP กับ แซนแทนกัม (พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ) ให้เจลที่คงตัว แต่เมื่อผสมกับ โคล์สปีนกัมจะไม่เกิดเจล ซึ่งลักษณะการเกิดเจลดังกล่าวนี้เป็นผลเนื่องจากการเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) เนื่องจากเกิดอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์ของพอลิแซ็กคาไรด์สองชนิดในสถานะที่มีน้ำ

Woolfe *et al.*, (1977) พบว่าสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเพิ่มความเข้มข้น และเกิดเจลได้เมื่อใช้ความเข้มข้นสูง การเติมแคลเซียมไอออนทำให้ความหนืดลดลง เนื่องจากการเกิดอันตรกิริยาของไอออนที่ประจุบวกสองกับหมู่แอซิดของพอลิแซ็กคาไรด์ โดยที่ประจุบวกจะไปลดแรงผลักระหว่างประจุในโมเลกุลพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้เกิดการจับตัวกันระหว่างสายเกลียวแต่ละสายแน่นมากขึ้นส่งผลให้ความหนืดลดลง การให้ความร้อนกับสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่อุณหภูมิ 90°C ให้ความหนืดลดลง และเมื่อทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องความหนืดจะเพิ่มขึ้นแต่ไม่เท่ากับความหนืดเริ่มต้น นอกจากนี้สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวยังมีลักษณะคล้ายไข่ขาวที่ความเข้มข้นสูง โดยจะอยู่ในรูปของโฟมที่คงตัวทำให้สามารถนำไปใช้แทนไข่ขาวได้

พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวให้สารละลายที่มีความหนืด เกิดเจลได้ และเกิดโฟมที่คงตัว (Woolfe *et al.*, 1977) Sengkhampan *et al.* (2010) ระบุว่าการรวมกันของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic association) มาจากส่วนของน้ำตาลแรมโนสที่มีหมู่แอซิดใน HBSS ทำให้สารละลาย HBSS มีความหนืดสูงเมื่อเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวส่วนอื่น ๆ ที่สกัดได้

นอกจากนี้กัมจากกระเจี๊ยบเขียวยังสามารถใช้เป็นสารทดแทนไขมันในคุกกี้ ช็อกโกแลตและของหวานนมแช่แข็งรสช็อกโกแลต โดย Romanchik-Cerpovicz *et al.* (2002) พบว่าเมื่อใช้กัมจากกระเจี๊ยบเขียวแทนไขมันในสูตรทำให้คุกกี้สามารถเก็บความชื้นได้มากกว่าคุกกี้ที่เติมไขมัน และคุกกี้ที่ปราศจากไขมันนี้มีคะแนนการยอมรับต่ำกว่าคุกกี้ที่เติมไขมัน แต่ก้อยู่ในเกณฑ์ที่ผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับ และ Romanchik-Cerpovicz *et al.* (2006) พบว่าของหวานนมแช่แข็งรสช็อกโกแลตที่ใช้กัมจากกระเจี๊ยบเขียวทดแทนไขมันมัน มีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสและจุลหาลอมเหลว ไม่แตกต่างกัน และพบว่าเมื่อเติมกัมจากกระเจี๊ยบเขียวมีผลทำให้อัตราการหาลอมเหลวในผลิตภัณฑ์ช้าลง

4. ฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ (Edible films and coatings)

ฟิล์มบริโภคได้ (edible film) หมายถึง วัสดุแผ่นบางที่นำมาใช้กับอาหารโดยเคลือบผิวของอาหารโดยตรงหรือเตรียมแผ่นฟิล์มขึ้นมาก่อนแล้วจึงนำมาใช้กับอาหารโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อยืดอายุการเก็บและปรับปรุงคุณภาพของอาหาร โดยใช้เพื่อป้องกันอาหารจากความชื้น ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ ไขมัน กลิ่นรส สารละลาย จุลินทรีย์ หรือสารอื่น ๆ (Krochta, 2002; Sothornvit and Krochta, 2005) โดยทั่ว ๆ ไป คำว่า ฟิล์มหรือสารเคลือบไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่ในที่นี้การเคลือบเป็นการนำเอาสารมาเคลือบกับพื้นผิวของผลิตภัณฑ์โดยตรง แต่การใช้ฟิล์มจะต้องมีการผลิตแผ่นฟิล์มขึ้นก่อนแล้วจึงนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์ (มณฑาทิพย์, 2535)

เนื่องจากฟิล์มสังเคราะห์ที่ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารซึ่งไม่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ ยากแก่การนำกลับมาทำใหม่ และมาจากแหล่งของพลังงานที่ใช้แล้วหมดสิ้นไป (Fernandez *et al.*, 2007) ดังนั้นฟิล์มบริโภค จึงถูกนำมาใช้แทนพอลิเมอร์สังเคราะห์ทั้งหมดหรือใช้แทนบางส่วน ฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้นอกจากสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติแล้ว ยังเป็นมิตรกับผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการใช้ฟิล์มบริโภคได้จึงมีแนวโน้มสูงขึ้นในปัจจุบัน และถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอาหารหลากหลาย ยกตัวอย่างเช่น ใช้เป็นปลอกของไส้กรอก ใช้เคลือบช็อกโกแลต ถั่ว ผักและผลไม้ เป็นต้น (Gennadios, 2002) นอกจากนี้แล้วฟิล์มบริโภคได้ยังมีความท้าทายอย่างยิ่งต่อตลาดอาหาร เนื่องจาก คุณค่าทางโภชนาการ ความปลอดภัย และมีคุณภาพสูง (Tharanathan, 2003)

ฟิล์มบริโกล์ได้สามารถผลิตจากไบโอพอลิเมอร์ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ โปรตีน ไขมัน หรือ การผสมกันของไบโอพอลิเมอร์ โดยที่ฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนมีสมบัติเชิงกลและ สมบัติป้องกันออกซิเจนที่ดี ที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ต่ำถึงปานกลาง แต่มีข้อเสียคือป้องกัน ความชื้นที่ไม่ดี ขณะที่ฟิล์มจากไขมันมีสมบัติป้องกันความชื้นที่ดีมาก แต่ให้ฟิล์มที่แข็งเปราะ และ ต้องใช้ตัวทำละลาย หรืออุณหภูมิสูงในการขึ้นรูปฟิล์ม (Han and Gennadios, 2005)

4.1 ฟิล์มบริโกล์ได้จากพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide based edible films)

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นพอลิเมอร์สายยาวที่มีคุณสมบัติละลายและกระจายตัวได้ในน้ำ ให้ ความชื้นหนืด หรือมีผลทำให้เกิดความหนืด เป็นองค์ประกอบอาหารที่ทำให้เกิดความแข็ง ความ กรอบ ให้ความหนืด ความเหนียว เกิดเจล และให้ความรู้สึกในปาก มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรม อาหาร เนื่องจากมีการใช้อย่างแพร่หลาย ราคาถูก และไม่เป็นพิษ (Nisperos-Carriedo, 1994)

การพัฒนาฟิล์มบริโกล์ได้และสารเคลือบจากพอลิแซ็กคาไรด์ ถูกนำมาใช้ในการยืด อายุ และชะลอการสูญเสียความชื้นให้กับผักและผลไม้ เนื่องจากเป็นฟิล์มที่มีความสามารถเลือกให้ ออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านได้ ใช้ในการปรับสภาพบรรยากาศเพื่อลดการหายใจของ ผักและผลไม้ (Nisperos-Carriedo, 1994)

ฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น แอลจินेट เพกติน ไกลโคซาน คาร์ราจีแนน สตาร์ช อนุพันธ์ ของสตาร์ช และอนุพันธ์ของเซลลูโลส แต่เนื่องจากธรรมชาติของพอลิเมอร์เหล่านี้ชอบน้ำ (hydrophilic) จึงไม่เหมาะที่จะนำฟิล์มชนิดนี้มาใช้ป้องกันความชื้น แต่มีคุณสมบัติป้องกัน ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และไขมันได้ดี (Gennadios, 2002)

ฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์เกือบทั้งหมดมีสมบัติเชิงกลที่ดี จึงมักใช้ประโยชน์เพื่อ ปรับปรุงโครงสร้างด้านความแข็งแรงของฟิล์ม แต่มีข้อด้อยในด้านการป้องกันไอน้ำและสารที่มีขั้ว ที่ไม่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะที่ความชื้นสัมพัทธ์สูง แต่อย่างไรก็ตามที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำถึง ปานกลางฟิล์มชนิดนี้มีสมบัติป้องกันออกซิเจนและสารที่ไม่มีขั้วอื่น ๆ ได้ดี เช่น สารให้กลิ่น และ น้ำมันต่าง ๆ นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการละลายน้ำได้ ซึ่งเป็นข้อดีในการนำฟิล์มเหล่านี้มา ใช้ในสภาวะที่ต้องให้ความร้อนก่อนบริโภค เนื่องจากในระหว่างการให้ความร้อนฟิล์มมีการละลาย

ทำให้ไม่ส่งผลกระทบต่อสมบัติทางประสาทสัมผัสของอาหาร (Krochta *et al.*, 1994; Sothonvit and Krochta, 2005)

4.2 ฟิล์มโปรตีน (Protein based edible films)

ฟิล์มบริโกลได้จากโปรตีน เป็นฟิล์มที่มีความแข็งแรงและมีสมบัติป้องกันการแพร่ผ่านของก๊าซและไขมันได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ นอกจากนี้โปรตีนยังมีคุณค่าทางอาหารสูงด้วย แหล่งของฟิล์มโปรตีนจากสัตว์ ได้แก่ ไก่ แกะ ปลา คอเลราเจน โปรตีนไมโอ-ฟิบริลลาร์จากปลา โปรตีนจากไข่ขาว และโปรตีนเวย์ แหล่งของฟิล์มโปรตีนจากพืช ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนข้าวสาลี โปรตีนข้าวโพด โปรตีนถั่วลิสง และโปรตีนจากเมล็ดฝ้าย (Krochta, 2002) แต่อย่างไรก็ตามฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีข้อด้อยคือ ความเปราะ และหักง่าย เนื่องจากความหนาแน่นของพลังงานที่ทำให้ยึดติดกันของพอลิเมอร์มีความแข็งแรง (Lim *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังมีข้อด้อยอีกคือ ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ต่ำ เนื่องจากคุณลักษณะที่ชอบน้ำ (Lacroix and Cooksey, 2005)

โปรตีนเวย์เป็นโปรตีนนมที่เหลือจากการตกตะกอนเคซีนด้วยการปรับ pH หรือด้วยเอนไซม์เรนเนตในกระบวนการผลิตเนยแข็งหรือผลิตเคซีน โปรตีนเวย์มีโปรตีนนมประมาณ 20% และโปรตีน 5 ชนิดที่สำคัญ ได้แก่ แล็คตาอัลบูมิน (lactalbumins) แล็คโตโกลบูลิน (lactoglobulins) โบวีนซีรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin) อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulins) และ โปรติโอสเปปโตน (proteose-peptones) (Perez-gago and Krochta, 2002)

โปรตีนเวย์มีสมบัติทางโภชนาการและสมบัติเชิงหน้าที่ดี และยังสามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ ทำให้ได้ฟิล์มที่มีสมบัติป้องกันออกซิเจนที่ดี (Millier and Krochta, 1997) มีความเงา โปร่งแสงและไม่มีสี (Trezza and Krochta, 2000) โดยปกติฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีสมบัติป้องกันความชื้นต่ำเนื่องจากโดยธรรมชาติที่ชอบน้ำ (hydrophilic nature) แต่เมื่อรวมตัวกับแว็กซ์มีสมบัติป้องกันความชื้นปานกลาง (McHugh and Krochta, 1994; Perez-Gago and Krochta, 2001a) โปรตีนเวย์เมื่อให้ความร้อนเหนือกว่า 80 °C แรงต้านทานการดึงขาดและการยืดตัวดีกว่าฟิล์มโปรตีนเวย์ที่ไม่ได้ให้ความร้อน และไม่สามารถละลายน้ำได้ (Perez-Gago *et al.*, 2001b) การที่โปรตีนเวย์เสียสภาพด้วยความร้อนทำให้ beta-lactoglobulin คลายเกลียวเปิดหมู่ไม่ชอบน้ำและหมู่ซัลไฮดริล (-SH)

ออกมาด้านนอก ทำให้เกิดพันธะไคซัลไฟด์และอันตรกิริยาที่ไม่ชอบน้ำหลังจากการทำแห้งฟิล์ม (Manderson *et al.*, 1999; Perez-gago and Krochta, 2002)

4.3 ฟิล์มบริโกลได้ผสมระหว่างพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน (Polysaccharide and protein blend edible films)

โดยปกติฟิล์มบริโกลได้เกือบทั้งหมดค่อนข้างเปราะและหักง่าย เนื่องจากมีแรงระหว่างโมเลกุลอยู่มาก เช่น พันธะไฮโดรเจน แรงทางไฟฟ้าสถิต พันธะที่ไม่มีขั้ว และพันธะไคซัลไฟด์ เป็นต้น (Sothornvit and Krochta, 2005) ดังนั้นฟิล์มผสมเป็นการนำคุณลักษณะที่ดีของฟิล์มแต่ละชนิดมาใช้ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ หรือโปรตีน ให้ลักษณะการเกิดฟิล์ม สมบัติเชิงกล และให้โครงสร้างที่ดี ป้องกันก๊าซออกซิเจนได้ดี

ฟิล์มผสมเป็นการนำข้อดีของแต่ละฟิล์มมาใช้ โดยการที่สมบัติเชิงกลและสมบัติการป้องกันความชื้นและก๊าซของฟิล์มผสมจะเป็นอย่างไร ก็ขึ้นกับคุณลักษณะและความสามารถที่เข้ากันได้ขององค์ประกอบของพอลิเมอร์ ฟิล์มผสมอาจจะมีลักษณะทางธรรมชาติที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogenic nature) และเกิดเป็นสารผสมระหว่างพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน การเติมพอลิแซ็กคาไรด์เข้าไปในสูตรของการขึ้นรูปฟิล์มอาจสามารถปรับปรุงการป้องกันความชื้น ความทนทาน และสมบัติเชิงกลของฟิล์มจากโปรตีน (Lacroix and Cooksey, 2005) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิด เช่น เพกตินสามารถเกิดสารเชิงซ้อนทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic complex) หรือเกิดการเชื่อมข้ามกับโปรตีน (Letendre *et al.*, 2002; Coughlan *et al.*, 2004)

มีงานวิจัยหลาย ๆ งานที่ศึกษาสมบัติของฟิล์มผสมระหว่างพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนเวย์ ได้แก่ ไฮดรอกซิลเมทิลเซลลูโลสและโปรตีนเวย์ เมทิลเซลลูโลสและโปรตีนเวย์ เพกตินและโปรตีนเวย์ คาราจีแนนและโปรตีนเวย์ แป้งบุกและโปรตีนเวย์ แอลจีเนตและโปรตีนเวย์ พูลูลาน และโปรตีนเวย์ สตาร์ชและโปรตีนเวย์ หรือ ไคโตซานและโปรตีนเวย์ (Coughlan *et al.*, 2004; Ciesla, *et al.*, 2006; Di Pierro *et al.*, 2006; Gouna *et al.*, 2007; Turhan *et al.*, 2007; Brindle and Krochta, 2008)

5. พลาสติไซเซอร์ที่ใช้กับฟิล์มบริโกลได้

พลาสติไซเซอร์ (Plasticizer) เป็นสารที่ใช้เพื่อช่วยเพิ่มความอ่อนตัว ความคงทนต่อการใช้งาน และการยืดตัวของฟิล์ม สารที่ใช้เป็นพลาสติไซเซอร์ควรเป็นสารที่ไม่ระเหยง่ายมีจุดเดือดสูง และไม่เกิดการแยกตัวภายหลังการเติม ดังนั้นพลาสติไซเซอร์ที่เลือกใช้ควรเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ความดันไอต่ำ และอัตราการแพร่ต่ำ เพื่อป้องกันการแยกตัวออกขณะระเหยตัวทำละลายออกจากสารละลายพอลิเมอร์ นอกจากนี้ พลาสติไซเซอร์ที่นำมาเติมในสารละลายพอลิเมอร์จะต้องละลายเป็นเนื้อเดียวกับสารละลายพอลิเมอร์นั้น กล่าวคือ ถ้าพอลิเมอร์เป็นสารประเภทมีขั้วก็ต้องเลือกใช้พลาสติไซเซอร์ ที่มีสารประเภทมีขั้วด้วยเช่นกัน (Banker, 1966)

การเติมพลาสติไซเซอร์ลงในฟิล์มบริโกลได้มีวัตถุประสงค์หลัก 2 ข้อคือ เพื่อช่วยในการขึ้นรูปฟิล์ม และช่วยในการปรับสภาพสมบัติของฟิล์ม พลาสติไซเซอร์อาจหมายถึง สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สารที่ไม่ระเหยที่เติมเข้าไปในพอลิเมอร์เพื่อลดความแข็งแรงเปราะของฟิล์ม ทำให้ฟิล์มยืดหยุ่น และเพิ่มความทนทานของฟิล์ม (toughness) อาจกล่าวได้ว่า พลาสติไซเซอร์ช่วยลดแรงภายในโมเลกุลระหว่างสายพอลิเมอร์ ดังนั้นทำให้ปริมาตรอิสระเพิ่มขึ้น และทำให้มีการเคลื่อนที่ของสารพอลิเมอร์มากขึ้น (Sothonvit and Krochta, 2005)

คุณสมบัติของพลาสติไซเซอร์ที่ดีต้องรวมเป็นเนื้อเดียวกันกับพอลิเมอร์ที่ใช้ทำฟิล์ม โดยมีแรงระหว่างโมเลกุลของสารทั้งสองคล้ายคลึงกัน มีจุดเดือดสูง ระเหยยาก ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ได้ดี นอกจากนี้ไม่ควรมีสี กลิ่น รส ไม่เป็นพิษและไม่ติดไฟ พลาสติไซเซอร์ที่นำมาใช้กับฟิล์มบริโกลได้ มีหลายประเภท เช่น โมโน ไค โอลิโกแซ็กคาไรด์ พอลิแอลกอฮอล์ และลิพิด หรืออนุพันธ์ของลิพิด (Guilbert, 1986) นอกจากนี้ยังจัดว่าเป็นพลาสติไซเซอร์ที่สำคัญในฟิล์มและสารเคลือบที่บริโกลได้ โดยปกติพลาสติไซเซอร์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งจะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับไบโอพอลิเมอร์ ทำให้ปริมาตรอิสระและความยืดหยุ่นในเนื้อฟิล์มมากขึ้น (Sothonvit and Krochta, 2005)

การเติมพลาสติไซเซอร์ในระหว่างการเตรียมฟิล์มบริโกลได้นั้นใช้วิธีการละลายโดยทั้งพลาสติไซเซอร์และพอลิเมอร์ละลายในตัวทำละลายชนิดเดียวกันระหว่างการละลายมีการกวนผสม พร้อมทั้งให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาเหมาะสมแล้วจึงนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกไปในสภาวะที่ไม่รุนแรง สาเหตุที่ทำให้แรงระหว่างโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ที่

อยู่ใกล้กันอ่อนลงเกิดจาก อิทธิพลของความร้อนระหว่างการเตรียมสารละลายฟิล์มทำให้พลาสติกไฮเซอรสามารถแทรกเข้าไปอยู่ระหว่างสายพอลิเมอร์ง่ายขึ้น และพันธะไฮโดรเจนหรือแรงอื่น ๆ ระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ถูกหักล้างไป เนื่องจากเกิดแรงดึงดูดที่แข็งแรงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์กับพลาสติกไฮเซอรทำให้โมเลกุลของพอลิเมอร์ไม่สามารถจับกันเองได้ ส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น ลดความเปราะแตกง่าย การต้านทานแรงฉีกขาดเพิ่มขึ้น แต่แรงต้านทานการดึงขาดลดลง นอกจากนี้พลังงานที่ใช้แยกสายพอลิเมอร์ที่อยู่ใกล้กันยังมีความสัมพันธ์กับพลังงานที่ไปกระตุ้นการแพร่กระจายของก๊าซและไอให้ผ่านแผ่นฟิล์ม ดังนั้นเมื่อแรงดึงดูดระหว่างสายโซ่ลดลงทำให้พลังงานดังกล่าวลดลง การซึมผ่านของก๊าซและไอน้ำจึงเพิ่มขึ้น (Banker, 1966)

6. โครงสร้างและสมบัติการเกิดฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน (Structure and film forming properties of polysaccharides and proteins)

คุณสมบัติของฟิล์มจากไบโอพอลิเมอร์ต่าง ๆ มีอิทธิพลมาจากจำนวนของพันธะไฮโดรเจนของโมเลกุลภายในระหว่างสายพอลิเมอร์ ซึ่งเกิดจากความแตกต่างกันของโครงสร้างระดับโมเลกุล ซึ่งโครงสร้างที่แตกต่างกันนี้ อันได้แก่ กิ่งก้านของโครงสร้าง ประจุทางไฟฟ้า การแทนที่ของหน่วยน้ำตาล และน้ำหนักโมเลกุล เป็นต้น มีผลกระทบต่อสมบัติต่าง ๆ ของฟิล์ม (Nieto, 2009)

พอลิแซ็กคาไรด์มีทั้งที่ประจุเป็นกลาง ได้แก่ แอซิเทตเอสเทอร์ เมทิลอีเทอร์ และน้ำตาลที่เป็นกลาง (neutral sugars) ส่วนที่มีประจุเป็นลบ ได้แก่ คาร์บอกซิเลต หมู่ซัลเฟต หรือที่มีประจุเป็นบวก ได้แก่ หมู่แอมิโน เกิดจากหมู่เคมีที่ติดกับหน่วยของแต่ละโมโนแซ็กคาไรด์ ลักษณะโครงสร้างทั้งหมดเหล่านี้ของพอลิแซ็กคาไรด์ส่งผลต่อสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์แตกต่างกัน ไม่ว่าจะเป็นความสามารถในการละลาย ความข้นหนืด การเกิดเจล การเป็นอิมัลชัน และมีความสำคัญอย่างมากกับ สมบัติการเกิดฟิล์ม

พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นกลางและมีโครงสร้างเป็นเส้นตรง เช่น อะการ์ เมทิลเซลลูโลส ไฮดรอกซีเมทิลเซลลูโลส และพุลูลาน มักจะเกิดฟิล์มที่แข็งแรงกว่า ในขณะที่พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นลบ เช่น แอลจินเนต คาร์ราจีแนน และเพกติน แม้จะมีความเป็นขี้และละลายน้ำได้ดีกว่า และเกิดฟิล์มได้แต่อาจจะไม่แข็งแรงเท่า เนื่องจากมีแรงผลักรังของประจุ ที่เกิดขึ้น ยกตัวอย่างเช่น การกำจัดประจุลบออกจากแอลจินเนตด้วยการเชื่อมข้ามแอลจินเนตด้วยแคลเซียมทำให้

แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าการเกิดโครงสร้างฟิล์มที่ดีกว่าถ้าไม่มีแรงผลักของประจุ (Nieto, 2009)

โดยทั่วไป ประจุลบที่อยู่บนโครงสร้างแบบเส้นตรงของพอลิแซ็กคาไรด์มีผลต่อโครงสร้างและความแข็งแรงของฟิล์มทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงพอที่จะฟอร์มตัวเป็นแผ่นฟิล์ม และลอกออกจากถาดได้ แต่ถ้าโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์มีการแทนที่ด้วยน้ำตาลที่เป็นกลางหนึ่งตัวหรือหลาย ๆ ตัว หรือมีโซ่ข้างในโครงสร้าง พบว่าโครงสร้างที่ถูกแทนที่ หรือมีโซ่ข้างในโครงสร้าง จะมีผลต่อสมบัติของฟิล์มมากกว่าทำให้ความแข็งแรงของฟิล์มลดลง เนื่องจากการมีที่โครงสร้างมีการแทนที่หรือมีโซ่ข้างในโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ทำให้เกิดการกีดขวางเนื่องจากขนาด (steric hindrance) และเกิดการขัดขวางการเกิดการรวมตัวกันภายในโมเลกุล (intermolecular association) ซึ่งจะทำให้โครงสร้างของฟิล์มไม่แข็งแรง (Nieto, 2009) เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง ฟิล์มจากแอลจินตและฟิล์มจากเพกติน พบว่าฟิล์มจากเพกติน มีโครงสร้างที่เป็น hairy regions หรือ กิ่งก้านมากกว่าฟิล์มจากแอลจินต มีผลทำให้เกิดการกีดขวางเนื่องจากขนาด ในการฟอร์มฟิล์มมากกว่า ส่งผลทำให้ฟิล์มจากเพกตินมีความแข็งแรงน้อยกว่าฟิล์มจากแอลจินต พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างเป็นกิ่งก้าน (branched polysaccharides) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีผลต่อการเกิดฟิล์มโดยที่โครงสร้างไม่แข็งแรง ยกเว้นต้องใช้ความเข้มข้นและความหนาสูง จึงจะสามารถลอกเป็นแผ่นเป็นชิ้นเดียวได้เมื่อทำแห้ง จะเกิดลักษณะเป็นเกล็ด (flake) ตัวอย่างเช่น กัมอะราบิก (arabic gum) กัมกัตติ (gahhti gum) กัมคารายา (karaya gum) กัมจากต้นสน (larch gum) (Nieto, 2009)

น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์มีผลต่อสมบัติของฟิล์มแตกต่างกัน โดยที่ Park *et al.* (2002) พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ลดลง มีผลทำให้แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มลดลง ขณะที่ไม่มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มไคโตซาน Sothornvit and Krochta (2000) พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนเวย์ที่ลดลง ไม่มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนของฟิล์ม แต่มีผลทำให้แรงต้านทานการดึงขาด และมอดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มลดลง Ayranci *et al.* (1997) พบว่า น้ำหนักโมเลกุลของ hydroxyl propyl methyl cellulose (HPMC) และ methyl cellulose (MC) ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มลดลง ซึ่งเกิดจากลักษณะของการไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ของหมู่เมทิลใน HPMC ที่มากกว่าเมื่อเทียบกับ hydroxyl propyl cellulose (HPC) และ Park *et al.* (1993) พบว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักโมเลกุลของ MC และ HPC ส่งผลทำให้ การต้านทานการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และก๊าซออกซิเจนของฟิล์มเพิ่มขึ้น

7. สมบัติของฟิล์มบริโภคได้ (Edible film properties)

7.1 ความหนา (Thickness)

ความหนา คือ ระยะตั้งฉากระหว่างผิวหน้าทั้งสองของฟิล์ม มีหน่วยเป็นไมโครเมตร หรือมิลลิเมตร ความหนามีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติอื่น ๆ เช่น แรงต้านทานการดึงขาด การต้านทานการผ่านของไอน้ำ และการต้านทานการซึมผ่านก๊าซออกซิเจน เป็นต้น (Guilbert, 1986) ความหนาของฟิล์มบริโภคได้ชนิดที่ชอบน้ำ (hydrophilic edible films) มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ เนื่องจากความหนาของฟิล์มมีผลต่อแรงดัน (partial pressure) ที่อยู่ด้านล่างฟิล์ม ซึ่งเกิดจากปริมาณความชื้น โดยที่เมื่อความหนาของฟิล์มเพิ่มขึ้นความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูงขึ้น (McHugh *et al.*, 1993; Gounga *et al.*, 2007) และทำให้การยึดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้น (Rossi-Marquez *et al.*, 2009)

7.2 สมบัติการดึง (Tensile properties)

ค่าแรงต้านทานการดึงขาด (tensile strength) และการยืดตัว (elongation) ของฟิล์มเป็นการทดสอบด้วยการดึง ซึ่งสองค่านี้ถูกใช้โดยทั่วไปเพื่อวัดสมบัติเชิงกลของฟิล์มบริโภคได้ (Krochta, 2002)

7.2.1 แรงต้านทานการดึงขาด (Tensile strength)

ค่าแรงต้านทานการดึงขาด คือ ค่าความเครียดสูงสุดที่ใช้ในการดึงฟิล์มที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งของแผ่นทดสอบที่มีความกว้างคงที่จนแผ่นฟิล์มขาด ภายใต้สภาวะการทดสอบที่กำหนด มีหน่วยเป็นนิวตันต่อตารางเมตร ขึ้นกับความแข็งแรงของพันธะระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์มากกว่าความแข็งแรงของสายโซ่พอลิเมอร์ เป็นค่าที่บ่งบอกความสามารถในการทนทานของวัสดุเมื่อมีแรงกระทำ เช่นแรงดึง (Guilbert, 1986; Krochta *et al.*, 1994, 2002) ฟิล์มที่มีแรงต้านทานการดึงสูงบ่งบอกว่าฟิล์มมีความแข็งแรง

7.2.2 การยืดตัว (Elongation)

การยืดตัว คือ ร้อยละของระยะทางที่ฟิล์มยืดออกด้วยแรงดึงจนขาดต่อความยาวเดิม เป็นค่าที่บอกถึงความสามารถในการยืดและความยืดหยุ่นของฟิล์ม ถ้าการยืดตัวของฟิล์มน้อย ฟิล์มจะมีลักษณะเปราะและไม่ยืดหยุ่น (Krochta *et al.*, 2002) การเติมพลาสติกไซเซอรในโครงสร้างตาข่ายนอกจากจะทำให้ค่าความต้านทานแรงดึงของฟิล์มลดลง ยังมีผลทำให้ความยืดของฟิล์มเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากพลาสติกไซเซอรทำให้ความแข็งแรงของพันธะระหว่างสายโซ่โมเลกุลลดลง สายโซ่พอลิเมอร์เคลื่อนที่ได้มากขึ้น (Guilbert, 1986)

7.3 สมบัติการเป็นตัวป้องกัน (Barrier properties)

7.3.1 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability)

อัตราการซึมของไอน้ำผ่านฟิล์ม คือ ปริมาณไอน้ำที่ซึมผ่านจากผิวหน้าไปยังอีกผิวหน้าหนึ่งต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ผิวฟิล์ม ในระยะเวลาที่กำหนด และภายใต้สภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิกับความชื้นสัมพัทธ์ มีหน่วยเป็นกรัม/ตารางเมตร ที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์อัตราการซึมผ่านของไอน้ำผ่านฟิล์มเมื่อคำนวณเปรียบเทียบผลต่างของความดันไอของแต่ละด้านของฟิล์มที่ทดสอบ ซึ่งเรียกค่านี้ว่า water vapor permeance และเมื่อคำนวณค่า water vapor permeance ของฟิล์มที่ทดสอบผ่านความหนาของฟิล์มจะเรียกค่านี้ว่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำผ่านฟิล์ม หรือ water vapor permeability (WVP) (Guilbert, 1986) ฟิล์มที่มี WVP ต่ำบ่งบอกว่ามีสมบัติการป้องกันไอน้ำที่ดี โดยทั่วไปการส่งผ่านของไอน้ำของฟิล์มที่ขอบน้ำ ขึ้นกับความสามารถในการแพร่ (diffusivity) และความสามารถในการละลาย (solubility) ของโมเลกุลน้ำภายในเนื้อฟิล์ม (Gontard and Guilbert, 1994) ฟิล์มจากโปรตีนหรือพอลิแซ็กคาไรด์ส่วนใหญ่มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูง เนื่องจากสมบัติการชอบน้ำโดยธรรมชาติของพอลิเมอร์ (McHugh, 2000)

7.3.2 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซ (Gas permeability)

อัตราการซึมผ่านของก๊าซ คือ ปริมาตรของก๊าซที่ซึมผ่านจากผิวหน้าหนึ่งไปยังอีกผิวหน้าหนึ่งต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ผิวในระยะเวลาที่กำหนด และภายใต้ผลต่างของความดันหนึ่ง

หน่วย มีหน่วยเป็นลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตร วัน บรรยากาศ ที่อุณหภูมิในการวิเคราะห์ ก๊าซที่ซึมผ่านฟิล์มได้อาจเป็นก๊าซออกซิเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ หรือก๊าซไนโตรเจน โดยปกติในฟิล์มบริโกลได้มักจะวัดการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ค่าที่ได้จากการหาอัตราการซึมผ่านของก๊าซเมื่อนำมาคูณด้วยความหนาของฟิล์มที่ทดสอบ เรียกว่า ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซ (Guilbert, 1986) ฟิล์มจากโพรตีน หรือพอลิแซ็กคาไรด์ส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซต่ำ บ่งบอกว่ามีสมบัติเป็นตัวป้องกันก๊าซที่ดี (Sothornvit and Krochta, 2005; Lacroix, 2009)

7.4 สมบัติการมองเห็น (Optical properties)

สมบัติการมองเห็นของฟิล์ม ได้แก่ ความทึบแสงหรือโปร่งแสง ความเงา มีความเกี่ยวข้องกับการใช้งานของฟิล์มค่อนข้างสูงเนื่องจากมีผลกระทบต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ที่นำไปใช้ เมื่อแสงตกกระทบกับพื้นผิวอาหาร มันจะเกิดการสะท้อน ดูดซับ และส่องผ่าน ซึ่งเป็นผลทำให้แสงและผลิตภัณฑ์อาหารเกิดอันตรกิริยากันได้ (Hutchings, 1999)

7.4.1 ความทึบแสง (Opacity)

ความทึบแสงของฟิล์มเป็นสมบัติที่สำคัญของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ควบคุมแสงที่จะตกกระทบกับอาหาร (Carneiro-da-Cunha *et al.*, 2009) ความทึบแสงมากแสดงว่าฟิล์มมีความโปร่งแสงน้อยโดยที่ความแตกต่างของความทึบแสงของฟิล์ม สัมพันธ์กับโครงสร้างภายในของฟิล์มที่เกิดขึ้นระหว่างการทำแห้ง (Villalobos *et al.*, 2005; Fabra *et al.*, 2009) ความทึบแสงของฟิล์มที่เพิ่มขึ้นบ่งบอกถึงความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของเนื้อฟิล์ม (Fabra *et al.*, 2010)

7.4.2 ความเงา (Gloss)

ความเงาเป็นการวัดความสามารถในการสะท้อนแสงของพื้นผิวฟิล์ม โดยที่พื้นผิวของฟิล์มสะท้อนแสงบางส่วนที่มุมเท่ากับมุมตกกระทบ และแสงบางส่วนจะถูกดูดซับไว้ (Kigle-Boeckler, 1996) ฟิล์มไบโอพอลิเมอร์เกือบทั้งหมดมีความเงาอยู่ในช่วงปานกลาง (35-70 gloss unit ที่มุม 60 °) ซึ่งแตกต่างจากฟิล์มพลาสติกสังเคราะห์ทั่วไปซึ่งมีความเงาสูง ค่าความเงาที่ลดลงอาจเกิดจากความไม่เป็นเนื้อเดียวกันทางเคมี และความขรุขระของพื้นผิว (Trezza and

Krochta, 2001) Ward and Nussinovitch (1997) รายงานว่าลักษณะพื้นผิวของผลไม้มีอิทธิพลต่อความเงา และสังเกตว่าความขรุขระของเปลือกกล้วยมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับความเงาของมัน

7.5 อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature; T_g)

สมบัติทางกายภาพของไบโอพอลิเมอร์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณความชื้น และเวลา เป็นต้น การใช้น้ำและหรือสารจำพวกพอลิแอลกอฮอล์ที่น้ำหนักโมเลกุลต่ำ นิยมใช้เป็นพลาสติกไซเซอรส์สำหรับพอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน เนื่องจากลักษณะของการชอบน้ำ นั่นคือค่า T_g ของสารเหล่านี้มีค่าลดลงอย่างมาก เมื่อมีการปริมาณน้ำเพิ่มมากขึ้น (Kristo and Biliaderis, 2006) ค่า T_g มีความสำคัญอย่างมากในการทำนายและเข้าใจต่อสมบัติเชิงหน้าและความคงตัวขององค์ประกอบของอาหาร ระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร (Kristo and Biliaderis, 2006)

ค่า T_g ของฟิล์มเป็นค่าที่ถูกกำหนดมาจากสองปัจจัยที่สำคัญ ปัจจัยแรก ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมี และพลาสติกไซเซอรส์ที่เติม ปัจจัยที่สอง ได้แก่ ลักษณะโครงสร้าง เช่น กิ่งก้านของสายพอลิเมอร์ การเชื่อมข้าม และความเป็นผลึกของพอลิเมอร์ (Rogers, 1985) สมบัติเชิงกลและการเป็นตัวป้องกันของพอลิเมอร์ ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ เป็นผลมาจากค่า T_g (Oadian, 1991) ยกตัวอย่างเช่น การซึมผ่านของโมเลกุลก๊าซและไอน้ำไปยังฟิล์มมีค่าสูงขึ้นที่อุณหภูมิเหนือค่า T_g เนื่องจากสายของพอลิเมอร์มีการเคลื่อนที่มากขึ้น (Rogers, 1985) การเพิ่มขึ้นของพลาสติกไซเซอรส์มีผลทำให้ T_g ของฟิล์มลดลง (Labrecque *et al.*, 1997)

ค่า T_g เกี่ยวข้องกับสมบัติเชิงกลและสมบัติการเป็นตัวป้องกันของพอลิเมอร์ ที่อุณหภูมิจำเพาะหนึ่ง ๆ ยกตัวอย่างเช่น การซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซมีค่าสูงที่อุณหภูมิสูงกว่า T_g เนื่องจากโมเลกุลมีการเคลื่อนที่มากขึ้น (Cherian *et al.* 1995) ค่า T_g สามารถนำมาใช้ประโยชน์กับฟิล์มบรรจุได้ ในแง่การนำไปใช้ในอาหารตลอดจนการเก็บรักษา Koelsch and Labuza (1992) รายงานว่าฟิล์มจากเมทิลเซลลูโลส และกรดไขมันมีค่า T_g อยู่ในช่วง -11 ถึง -15 °ซ โดยระบุว่าที่สถานะอุณหภูมิห้องฟิล์มจะมีสถานะคล้ายยาง (rubbery state) ดังนั้นที่อุณหภูมิสูงกว่าค่า T_g ความสามารถในการซึมผ่านของฟิล์มมีค่าสูง เนื่องจากฟิล์มมีสถานะคล้ายยาง ดังนั้นการเพิ่มค่า T_g ให้สูงขึ้นก็เหมือนเป็นการปรับปรุงสมบัติการซึมผ่านของฟิล์ม Kalichevsky *et al.* (1992) พบว่าการแทนที่ กลีเซอรอลบางส่วนด้วยซูโครสเพื่อใช้เป็นพลาสติกไซเซอรส์ในฟิล์มจากกลูเตน มีผลทำให้ค่า

T_g สูงขึ้น ส่งผลต่อการปรับปรุงสมบัติการเป็นกั้นน้ำของฟิล์ม นอกจากนี้ T_g มีค่าสูงขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า (Aklonis and MacKnight 1983)

แม้ว่าโดยปกติมักนิยมใช้ DSC เพื่อหาค่า T_g ของไบโอพอลิเมอร์ แต่การใช้ DMA ให้ผลเป็นที่น่าพอใจมากกว่าเนื่องจากมีความไวต่อการหาค่า T_g มากกว่าการใช้ DSC ถึง 1000 เท่า (Li and Chien, 2001) ซึ่ง DMA เป็นการวัดการตอบสนองทางกลของพอลิเมอร์ที่สะท้อนออกมาจากค่า พลังงานที่สะสมในวัสดุของแข็ง (storage modulus, E') และพลังงานที่หายไปขณะที่ความร้อน (loss modulus, E'') และ $\tan \delta$ เป็นอัตราส่วนของพลังงานที่สูญเสียต่อพลังงานที่สะสม (E''/E') ในขณะที่ ค่า T_g ของตัวอย่างคืออุณหภูมิที่มีการลดลงของ E' อย่างรวดเร็ว หรือ ค่าสูงสุดของ E'' และ $\tan \delta$ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Vodovotz and Chinachoti, 1996; Lai *et al.*, 2000; Sperling, 2001; Kristo and Biliaderis, 2006) การเลือกใช้พารามิเตอร์ใดเป็นตัวบ่งชี้ค่า T_g ระหว่าง E' , E'' หรือ $\tan \delta$ ขึ้นกับการทดลองว่าผลของการใช้ค่าใดง่ายต่อการสังเกต ให้ผลแม่นยำ คลาดเคลื่อนน้อย (Siebenmorgen *et al.*, 2004) ค่า $\tan \delta$ ถูกใช้บ่อย ๆ เพื่อหาค่า T_g เนื่องจากรูปร่างของตัวอย่างไม่มีผลต่อค่า $\tan \delta$ (Vodovotz and Chinachoti, 1996)

8. การแยกชั้นของเฟสในโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ (Phase separation of proteins and polysaccharides)

โดยทั่วไปการผสมกันระหว่างโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ในรูปสารละลายสามารถทำให้เกิดสถานะที่แตกต่างกันดังนี้

8.1 การผสมกันได้ (miscibility)

ไบโอพอลิเมอร์สามารถผสมกันเข้ากันได้ดี ไม่เกิดการแยกชั้น มักเกิดขึ้นที่สถานะของไบโอพอลิเมอร์มีความเข้มข้นต่ำ (Dickinson, 2003)

8.2 Complex coacervates หรือ Associative phase separation

เกิดขึ้นที่สถานะต่ำกว่าจุด isoelectric point (pI) ของโปรตีน ซึ่งมีผลทำให้ประจุสุทธิระหว่างพอลิเมอร์เป็นประจุตรงข้ามกันทำให้เกิดแรงดึงดูดกัน ส่งผลทำให้เกิดการแยกเฟส โดยที่เฟสหนึ่งประกอบไปด้วยทั้งโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ ขณะที่อีกเฟสหนึ่งไม่มีทั้งโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์หรือมีน้อยมาก มักเกิดในสถานะที่ความเข้มข้นของไบโอพอลิเมอร์สูง (Dickinson, 2003)

8.3 Thermodynamic incompatibility หรือ Segregative phase separation

ไบโอพอลิเมอร์เกิดการแยกเป็นสองเฟส เฟสหนึ่งประกอบด้วยโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ ขณะที่อีกเฟสหนึ่งประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเกิดจากโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์มีประจุที่เหมือนกัน ทำให้เกิดแรงผลักรัน โดยมักเกิดที่ความเข้มข้นของไบโอพอลิเมอร์สูง (de Kruif and Tuinier, 2001; Dickinson, 2003)

Giancone *et al.* (2008) และ Jara and Pilosof (2009) รายงานว่า Thermodynamic incompatibility เป็นผลของการกีดกันของเอนทัลปีและเอนโทรปี (enthalpy and entropy barriers) ที่เกิดจากขนาดและความไม่เข้ากันทางเคมีของไบโอพอลิเมอร์ที่แตกต่างกัน โดย ณ สถานะที่ pH สูงกว่า pI มักเกิด thermodynamic incompatibility ระหว่างโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ เนื่องจากอันตรกิริยาจากแรงผลักระหว่างประจุ (repulsive electrostatic interactions) ขณะที่ Ercelebi and Ibanoglu (2007) รายงานว่า เกิด thermodynamic incompatibility ในสารผสมระหว่างโปรตีนเวย์และเพกติน และโปรตีนเวย์และกัวร์กัม ที่ pH 7.0 เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น มีผลทำให้โปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งแสดงประจุเหมือนกันเกิดแรงผลักรันเกิดขึ้น (net repulsion) นอกจากนี้ยังเกิดเนื่องจากการผสมไบโอพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งการที่น้ำหนักโมเลกุลสูงส่งผลทำให้ combinatorial entropy mixing ต่ำ ทำให้การที่จะรวมเข้าด้วยกันกับไบโอพอลิเมอร์อื่น ๆ ในลักษณะสารละลายผสมจึงเป็นไปได้ยาก (Magnin and Dumitriu 2005) ซึ่งการเกิด phase separation ระหว่างโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ มีอิทธิพลต่อลักษณะปรากฏ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความคงตัวของผลิตภัณฑ์อาหาร (Dickinson, 2003)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1 กระเจี๊ยบเขียว อายุ 5-6 วัน มีความยาวฝัก 8-13 เซนติเมตร ลักษณะฝักมีความสมบูรณ์ ไม่มีรอยฉีกขาด ซื้อจากบริษัททิม ฟู้ด จำกัด ซึ่งปลูกแถบจังหวัดนครนายก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ ในระหว่างรอการสกัด และเก็บรักษาไม่เกิน 5 วัน

1.2 โปรตีนจากเวย์ไอโซเลต (whey protein isolate, WPI)

โดยมีปริมาณโปรตีนเข้มข้น 97.7% ของน้ำหนักแห้งของโปรตีนทั้งหมด ปริมาณไขมัน น้อยกว่า 0.5% ปริมาณเถ้า 2.0% และน้ำตาลแล็กโตส 0.4% จากบริษัท Davisco Food Interantional ประเทศสหรัฐอเมริกา เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

2. สารเคมี

2.1 การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

2.1.1 เอทานอล ความเข้มข้น 95% (95% Ethanol; Commercial grade จากบริษัท SAC Science-Eng ประเทศไทย)

2.1.2 เมทานอล (Methanol; Commercial grade จากบริษัท SAC Science-Eng ประเทศไทย)

2.1.3 เฮกเซน (Hexane; Commercial grade จากบริษัท SAC Science-Eng ประเทศไทย)

2.1.4 แอซีโตน (Acetone; Analytical grade จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)

2.1.5 โซเดียมแอซีเตต (Sodium acetate จากบริษัท Ajex Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.1.6 กรดแอซีติก 100% (100% Glacial acetic acid จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)

2.1.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; Analytical grade จากบริษัท Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

2.2.1 ฟีนอล (Phenol; Analytical grade จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)

2.2.2 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 95-97% (95-97% Concentrate sulfuric acid จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)

2.2.3 กรดกาแล็กทูโรนิก 98% (98% D-galacturonic acid monohydrate จากบริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา) ใช้เป็นสารมาตรฐาน

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลยูโรไนต์ทั้งหมด

2.3.1 โซเดียมเททระโบเรต (di-Sodium tetraborate decahydrate; Analytical grade จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี)

2.3.2 เมตาไฮดรอกซีไดเฟนิล 85% (85% *m*-Hydroxydiphenyl จากบริษัท Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)

2.3.3 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น เช่นเดียวกับข้อ 2.2.2

2.3.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ เช่นเดียวกับข้อ 2.1.7

2.3.5 กรดกาแล็กทูโรนิก เช่นเดียวกับข้อ 2.2.3

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณเมทอกซิลและค่า degree of esterification

2.4.1 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide จากบริษัท Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.4.2 เพนเทนไดโอน (2,4-Pentanedione จากบริษัท Aldrich ประเทศอังกฤษ)

2.4.3 แอลกอฮอล์ออกซิเดส จาก *P. pastoris* (Alcohol: Oxygen oxidoreductase, EC 1.1.3.13) จากบริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.4.4 แอมโมเนียมแอซีเตต (Ammonium acetate จากบริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.4.5 กรดแอซติก เช่นเดียวกับข้อ 2.1.6

2.4.6 กรดฟอสฟอริก 85% (85% Phosphoric acid จากบริษัท Mallinckrodt ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.4.7 เมทานอล 100% (100% Methanol anhydrous) จากบริษัท Mallinckrodt ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้เป็นสารมาตรฐาน

2.4.8 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium di-hydrogen phosphate จากบริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2.5.1 กรดซัลฟิวริก เช่นเดียวกับข้อ 2.2.2

2.5.2 กรดบอริก (Boric acid; Analytical grade จากบริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.5.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ เช่นเดียวกับข้อ 2.1.7

2.5.4 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate จากบริษัท Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ)

2.5.5 โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate; Analytical grade จากบริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.5.6 โซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium Thiosulphate; Analytical grade จากบริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.5.7 โบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green; Analytical grade จากบริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.5.8 เมทิลเรด (Methyl red; Analytical grade จากบริษัท Panreac ประเทศสเปน)

2.6 สารเคมีในการเตรียมฟิล์ม

2.6.1 กลีเซอรอล (vegetable glycerine จากบริษัท Starwest Botanicals ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.6.2 สารป้องกันการเกิดโฟม (antifoaming agent, polydimethylsiloxane จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.6.3 แมกนีเซียมไนเตรต (Magnesium nitrate; Analytical grade จากบริษัท Finechem ประเทศนิวซีแลนด์)

2.6.4 แคลเซียมซัลเฟต (Calcium sulfate desiccant, Drierite[®] จากบริษัท Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3. อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1 การเตรียมพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียวเขียวและฟิล์ม

3.1.1 อุปกรณ์งานครัว

3.1.2 เครื่องชั่งหยابและเครื่องชั่งละเอียด

3.1.3 เครื่องกวน (Overhead stirrer)

3.1.4 เครื่องแก้ว

3.1.5 เทอร์โมมิเตอร์

3.1.6 เครื่องปั่นผสม (Waring blender)

3.1.7 ชุดกรองสุญญากาศ

3.1.8 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ

3.1.9 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Refrigerated centrifuge รุ่น Himac CR 20B2 จากบริษัท Hitachi ประเทศญี่ปุ่น)

3.1.10 โอดูดความชื้น

3.1.11 เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer รุ่น Dura-Top MP จากบริษัท FTS systemsTM ประเทศแคนาดา)

3.1.12 ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (รุ่น KBF 240 จากบริษัท Binder ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.1.13 ถาดเตรียมฟิล์มชนิดเทฟลอน (Teflon) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.5 เซนติเมตร

3.1.14 ถาดเตรียมฟิล์มชนิดพอลิเอทิลีน (high density polyethylene) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 14.0 เซนติเมตร

3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

3.2.1 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer รุ่น Spectro22 จากบริษัท Labomed ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.2.2 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ด้วยวิธี Micro-Kjeldahl จากบริษัท บริษัท Thermo Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.2.3 พีเอชมิเตอร์ (pH meter รุ่น Orion 2 star benchtop จากบริษัท Thermo Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.3 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

3.3.1 เครื่องวัดความชื้น (Moisture analyzer รุ่น MA 45-000230V1 จากบริษัท Sartorius ประเทศเยอรมนี)

3.3.2 เครื่องวัดสี (Minolta chroma meter รุ่น CR-200 จากบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น และ รุ่น Ultra Scan XE จากบริษัท Hunter Lab ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.3.3 ไมโครมิเตอร์ (รุ่น 7326 และ รุ่น 7305 จากบริษัท Mitutoyo ประเทศญี่ปุ่น)

3.3.4 Instron universal testing machine (รุ่น 5500R จากบริษัท Instron ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.3.5 Polymethylmethacrylate cup (Plexiglas®) ประกอบด้วยฐานและฝาครอบรูปวงกลมที่มีพื้นที่เปิด ขนาดพื้นที่ 78.5 ตารางเซนติเมตร ความลึก 1.1 เซนติเมตร polymethylmethacrylate

3.3.6 เครื่องวัดความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (Oxygen permeability testing meter) รุ่น Ox-Tran 2/20 modular system บริษัท Mocon ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3.7 ชุดวัดความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability testing set)

3.3.8 เครื่องวัดความเงา (Gloss meter รุ่น micro-TRI-Gloss บริษัท BYK Gardner ประเทศเยอรมนี)

3.3.9 กล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope รุ่น JSM-6400 บริษัท JEOL ประเทศญี่ปุ่น)

3.3.10 Differential scanning calorimeter รุ่น DSC-7 จากบริษัท PerkinElmer ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.3.11 Dynamic mechanical analyzer (รุ่น EPLEXOR[®] DMA 10 N จากบริษัท GABO Qualimeter ของประเทศเยอรมนี)

วิธีการ

1. การเตรียมผนังเซลล์กระเจี๊ยบเขียว (Okra cell wall)

การเตรียมผนังเซลล์กระเจี๊ยบเขียวตัดแปลงจากจาก วชิราภรณ์ (2549) และ Sengkhampan *et al.* (2009b) นำฝักกระเจี๊ยบเขียวแยกเมล็ดออก หั่นเป็นชิ้น และปั่นผสมกับเอทานอลความเข้มข้น 70% (ปริมาตร/ปริมาตร) ปริมาณ 2 เท่าของน้ำหนักกระเจี๊ยบเขียวหลังหั่น กวนเป็นเวลา 15 นาที กรองแยกเอทานอลออกด้วยชุดกรองสุญญากาศ เติมน้ำตาลละลายเฮกเซน : เมทานอล (1:1 ปริมาตร/ปริมาตร) ปริมาณ 2 เท่าของน้ำหนักกระเจี๊ยบเขียวหลังหั่น กวนเป็นเวลา 30 นาที กรองแยกน้ำตาลละลายออก ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง จากนั้นล้างอีกครั้งด้วยเอซีโทนเพื่อระเหยน้ำออก ได้ส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol insoluble solids : AIS) (ภาพที่ 3) ระหว่างรอการสกัดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 °ซ

2. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว (Okra Polysaccharide, OKP) และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวแต่ละชนิด (OKP fractions)

2.1 การสกัด OKP ตัดแปลงจาก Sengkhampan *et al.* (2009b)

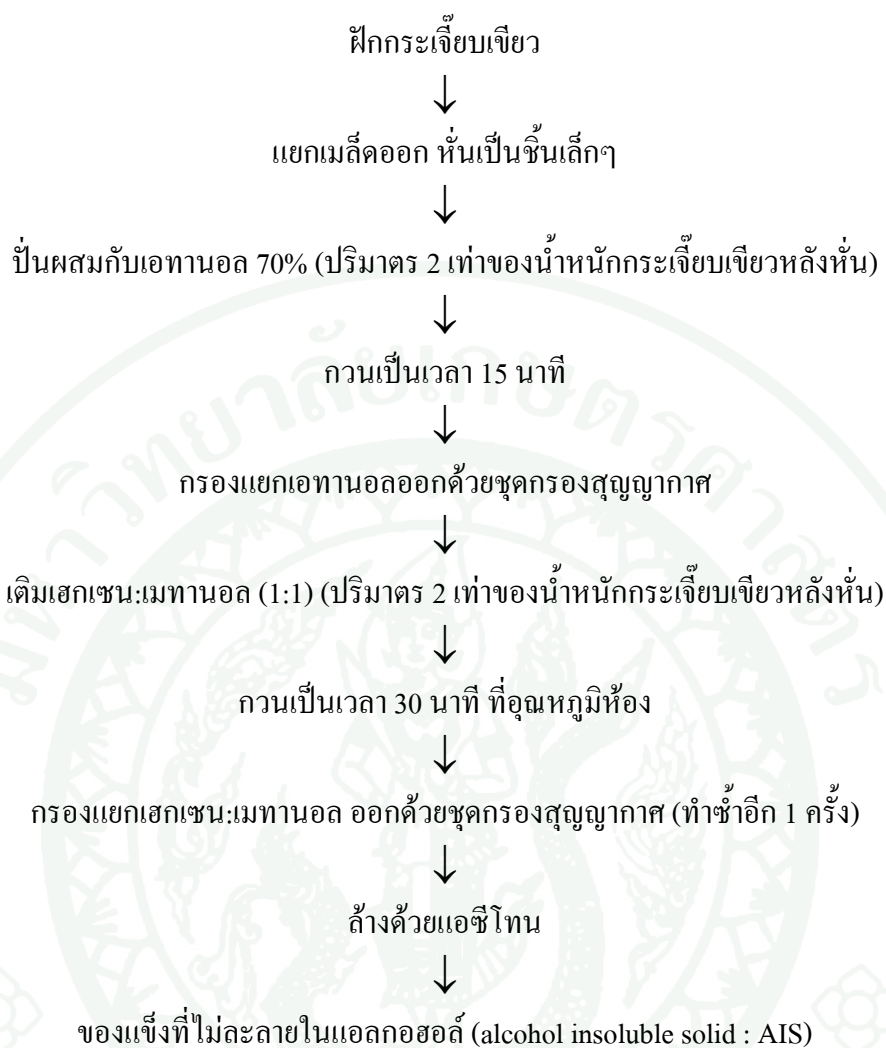
ทำการสกัดของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol insoluble solids, AIS) ด้วยวิธีตามลำดับ (sequential extraction) นำ AIS มาสกัดครั้งที่ 1 ด้วยบัฟเฟอร์แอซีเทต ที่ความเป็นกรด-เบส 5.2 ปริมาณ 10 เท่าของน้ำหนัก AIS กวนตลอดเวลาในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 70 °ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 9,500x g นาน 30 นาที เก็บส่วนใสไว้ แล้วนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง ได้ส่วนของ OKP ในรูปของแห้งที่เรียกว่าพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดที่ละลายในบัฟเฟอร์ร้อน (hot buffer soluble solid fraction; HBSS) หากที่เหลือจากการสกัดนำไปสกัดต่อโดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 M ปริมาณ 10 เท่าของน้ำหนัก AIS ที่อุณหภูมิ 5 °ซ นาน 1 ชั่วโมง นำไปหมุนเหวี่ยงแยก

ส่วนใส และทำแห้งเช่นเดียวกับ HBSS ได้ OKP ในรูปของแห้งที่เรียกว่าพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดที่ละลายในเบส (alkaline soluble solid fraction; ASS) (ภาพที่ 4) คำนวณปริมาณผลได้ (Yield) ของพอลิแซ็กคาไรด์เป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับน้ำหนักฝักสด (wet basis)

2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของ OKP

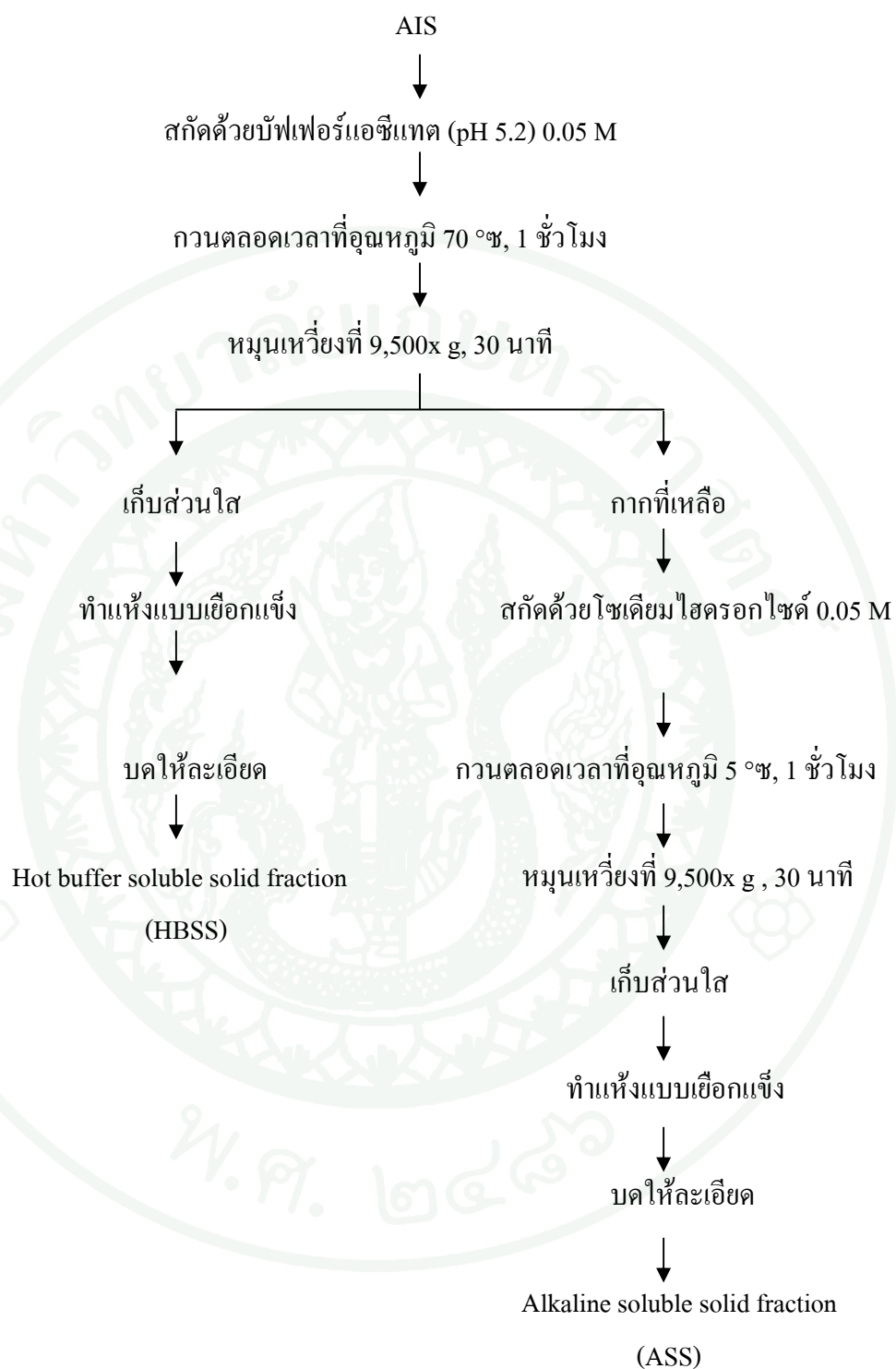
2.2.1 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (total carbohydrate) วิเคราะห์ตามวิธี phenolsulfuric acid colorimetric method (Hodge and Hofreiter, 1962; Brummer and Cui, 2005)

ปีปเตสารละลาย OKP ความเข้มข้น 0.01% (วิธีการเตรียมสารละลาย OKP แสดงดังภาคผนวก ก) ลงในหลอดทดสอบ เติมน้ำกลั่น 5 % เขย่า (vortex) ให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น เขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ปล่อยให้เย็นเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการเขย่าอีกครั้ง จากนั้นปล่อยให้เย็นอีก 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)



ภาพที่ 3 แผนภาพการเตรียมผนังเซลล์ของกระเจียบเขียว

ที่มา : ดัดแปลงจาก วชิราภรณ์ (2549) และ Sengkhampan *et al.* (2009b)



ภาพที่ 4 แผนภาพการสกัด OKP ด้วยวิธีตามลำดับ (Sequential extraction)

2.2.2 ปริมาณน้ำตาลยูโรไนต์ทั้งหมด (Total uronide) (ดัดแปลงจาก Ahmed and Labavitch, 1977)

นำ OKP ที่อยู่ในรูปผงแห้งมาชั่งด้วยกรวดชัลฟวริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตรเติมสารละลายโซเดียมเทรอะบอเรตในกรวดชัลฟวริกเข้มข้น ลดอุณหภูมิทันทีโดยจุ่มลงในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นให้ความร้อนเป็นเวลา 10 นาที นำมาลดอุณหภูมิทันทีอีกครั้ง เติมสารละลาย เมตาไฮดรอกซีไดฟีนอล ปลอ่ยทิ้งไว้ 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จากกราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิก (รายละเอียดในการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)

2.2.3 ปริมาณเมทอกซิล และค่า degree of esterification (Schultz, 1965; Klavones and Bennett, 1986)

เติมสารละลายเอนไซม์แอลกอฮอล์ออกซิเดส (alcohol oxygen oxidoreductase, EC 1.1.3.13) ลงในสารละลายกระเจียบเขียวที่ผ่านการย่อยด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ 15 นาที เติมสารละลายเพนเทนไดโอน เขย่าให้เข้ากัน แช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °ซ 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณเมทอกซิลเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จากกราฟมาตรฐานของเมทานอล แล้วคำนวณค่า degree of esterification ดังรายละเอียดการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก

2.2.4 การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl (AOAC, 2000)

ชั่งตัวอย่างผงตัวอย่าง OKP 0.10 กรัมลงในพลาสติกย่อย เติมโพแทสเซียมซัลเฟต 2.0 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม จากนั้นเติมกรวดชัลฟวริกเข้มข้น 4 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนจนได้เป็นสารละลายสีเขียวใส (ระหว่างให้ความร้อนทำการจิกน้ำกลั่นเพื่อล้างส่วนที่ติดขอบเครื่องแก้วเป็นระยะ) ทิ้งให้เย็นทำการเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายเบส ซึ่งประกอบด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไทโอซัลเฟต 15 มิลลิลิตรลงในพลาสติกตัวอย่าง นำพลาสติกตัวอย่างไปกลั่น รองรับสิ่งกลั่นด้วยกรดบอริก 4% จำนวน 10 มิลลิลิตรที่เติมอินดิเคเตอร์เมทิลเรด

ร่วมกับโบรโมคริสซอลกรีน กลั่นจนได้สีกลั่น 50 มิลลิลิตร นำสีกลั่นมาไทเทรตด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.02 M จนได้สีเทาแล้วคำนวณตามสูตรในภาคผนวก ก

3. การศึกษาผลของปริมาณกลีเซอรอล ความเป็นกรด-เบส ปริมาณไอออน ต่อสมบัติของฟิล์มจาก OKP แต่ละชนิด (OKP fractions)

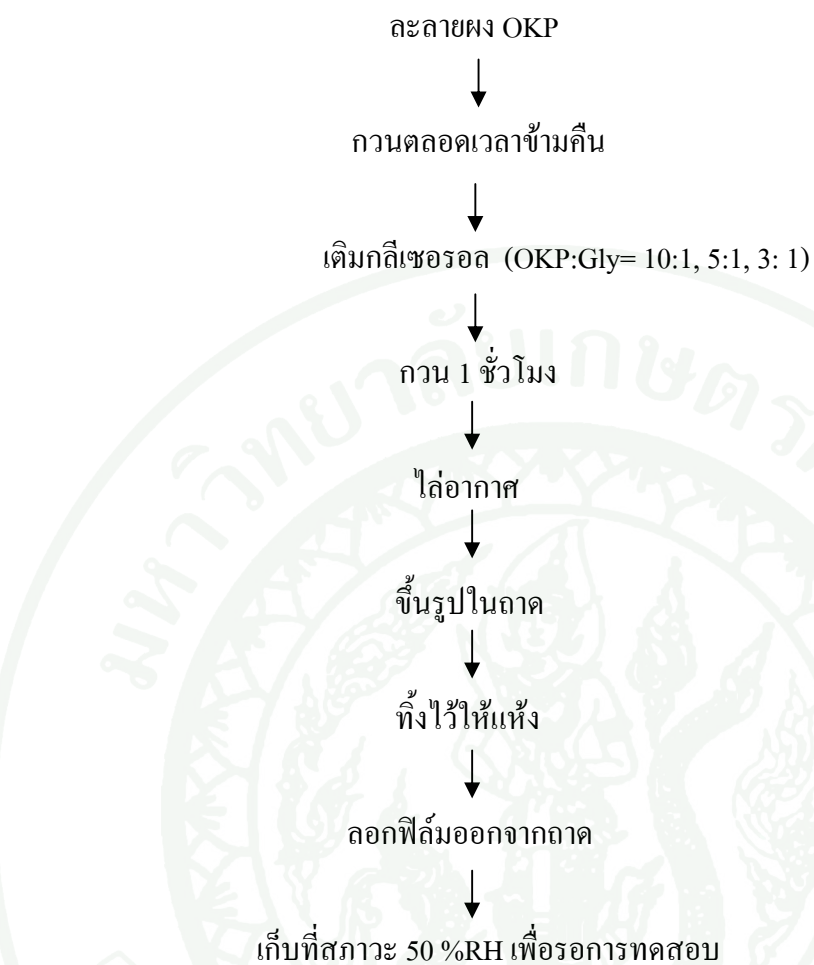
3.1 การศึกษาผลของปริมาณกลีเซอรอลต่อสมบัติของฟิล์มจาก OKP แต่ละชนิด

3.1.1 การเตรียมสารละลายฟิล์มของ OKP (Preparation of OKP casting solutions)

เตรียมสารละลายฟิล์ม OKP ชนิด HBSS หรือ ASS ความเข้มข้น 1.75% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยทำการค่อย ๆ เติมผงของ OKP ลงในน้ำที่ปราศจากไอออน กวนตลอดเวลา ด้วยแท่งแม่เหล็ก เป็นเวลา 1 คืน ที่อุณหภูมิห้อง (23°C) เพื่อให้ละลายได้สมบูรณ์ จากนั้นเติม กลีเซอรอล (Gly) และกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนน้ำหนักของ OKP ต่อน้ำหนักของ กลีเซอรอล (OKP:Gly) เท่ากับ 1:0, 3:1, 5:1 และ 10:1 ตามลำดับ

3.1.2 การขึ้นรูปฟิล์ม

นำสารละลายฟิล์มที่เตรียมได้ มาใส่ภาชนะ จากนั้นนำสารละลายฟิล์ม ขึ้นรูปบน ภาชนะฟลอรอน วางบนแผ่นหินแกรนิตที่ปรับระดับให้เรียบได้ระนาบเสมอ เพื่อควบคุมความหนาของ แผ่นฟิล์มให้เท่ากันทั้งแผ่น วางทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $25 \pm 5\% \text{ RH}$) แต่ละภาชนะประกอบด้วยสารละลายฟิล์มซึ่งประกอบด้วยของแข็งทั้งหมด 1.5 กรัม (หรือ 0.0122 กรัมของแข็งทั้งหมดต่อตารางเซนติเมตร) เพื่อควบคุมความหนาของแผ่นฟิล์มแต่ละแผ่นให้เท่ากัน มากที่สุด (ประมาณ 0.1 มิลลิเมตร) แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ และแต่ละซ้ำเตรียมฟิล์ม 3 ภาชนะเพื่อใช้ การวิเคราะห์ลักษณะต่าง ๆ ของฟิล์ม เก็บตัวอย่างฟิล์มเพื่อรอการทดสอบที่ในตู้ควบคุมความชื้น $50 \pm 5\% \text{ RH}$ การเตรียมฟิล์ม OKP แสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 แผนภาพการเตรียมฟิล์ม OKP

3.1.3 การทดสอบลักษณะของฟิล์ม

3.1.3.1 การวัดความหนาของฟิล์ม

วัดความหนาของฟิล์มด้วยไมโครมิเตอร์ โดยการสุ่มวัดรอบ ๆ แผ่นฟิล์ม 5 ตำแหน่งเป็นวงกลมให้ทั่วแผ่น แล้วหาค่าเฉลี่ย หน่วยเป็นมิลลิเมตร ความหนาเฉลี่ยใช้ในการคำนวณสมบัติทางกล และสมบัติการซึมผ่านของฟิล์ม

3.1.3.2 การวัดสมบัติการดึง (Tensile properties measurement)

การวัดค่าแรงต้านทานการดึงขาด (Tensile strength: TS) โมดูลัสยืดหยุ่น (elastic modulus: EM) และการยืดตัว (%elongation: %E) วัดตามมาตรฐานของ ASTM D882-A (ASTM, 1997) โดยใช้เครื่อง Instron universal testing machine ที่มีกำลังรับน้ำหนักเซลล์ (load cell) เท่ากับ 500 กิโลกรัม สภาพะที่ใช้ในการวัดคือ 23 ± 2 °ซ และ 50 ± 5 %RH ระยะห่างของการยึดฟิล์ม (grip) คือ 50 มิลลิเมตร และความเร็วของแรงที่ใช้ดึง คือ 12.5 มิลลิเมตร/นาที การตัดตัวอย่างฟิล์มโดยใช้ หัวแบบ (die) ตัดให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า กว้าง 8 มิลลิเมตร ยาว 50 มิลลิเมตร มีพื้นที่สำหรับหนีบตัวอย่างด้านละ 15x15 มิลลิเมตร ก่อนทำการทดลองตัวอย่างให้ทำการเก็บฟิล์มไว้ในสภาวะ 23 ± 2 °ซ และ 50 ± 5 % RH อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ปรับสภาวะความชื้นการเก็บด้วยสารละลายอิ่มตัวแมกนีเซียมไนเตรด ในการวัดสมบัติการดึงใช้ตัวอย่างฟิล์ม 5 ซ้ำในแต่ละการทดลอง

3.1.3.3 การทดสอบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability test)

ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability: WVP) ทดสอบตามมาตรฐานของ ASTM E96-00 (ASTM, 2000) ตัวอย่างฟิล์มถูกวางบนถ้วยวงกลมที่ทำจาก polymethylmethacrylate (PMMA) ประกอบด้วยฐานและฝาครอบรูปวงกลมที่มีพื้นที่เปิด ขนาดพื้นที่ 78.5 ตารางเซนติเมตร ความลึก 1.1 เซนติเมตร เติมน้ำ 6 มิลลิลิตร ลงที่ฐานของถ้วย วางตัวอย่างฟิล์มลงบนฐานที่ทาน้ำมัน (grease) ปิดทับด้วยฝาครอบแล้วหมุนสกรู นำไปทำการทดสอบการซึมผ่านของไอน้ำโดยเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น 23 ± 2 °ซ และ 0 %RH โดยควบคุมความชื้นให้เป็น 0% โดยใช้ แคลเซียมซัลเฟตที่อบจนแห้ง ความเร็วลมของพัดลมของตู้ควบคุมตั้งไว้ที่ 183 เมตร/นาที ชั่งน้ำหนักของถ้วยที่หายไปทุกชั่วโมงจนการส่งผ่านของไอน้ำเข้าสู่สภาวะคงที่ นำไปคำนวณหาค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ทำ 3 ซ้ำในแต่ละการทดลอง

3.1.3.4 การทดสอบความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจน (Oxygen permeability test)

อัตราการซึมผ่านของออกซิเจน (Oxygen transmission rate: OTR) ทดสอบตามมาตรฐานของ ASTM D3985 (ASTM, 1995) ด้วยเครื่อง Ox-Tran 2/20 ที่อุณหภูมิ 23 °ซ และ 50 ± 1 %RH วางตัวอย่างฟิล์มลงบนหน้ากากสแตนเลส (stainless steel mask) ที่มีพื้นที่เปิดให้ออกซิเจนผ่าน 5 ตารางเซนติเมตร ก่อนทำการทดลองตัวอย่างฟิล์มเก็บไว้ในสภาวะ 23 ± 2 °ซ และ 50 ± 5 % RH เป็นเวลาอย่างน้อย 48 ชั่วโมง ปรับสภาวะความชื้นการเก็บด้วยสารละลายอิมัลชันแมกนีเซียมไนเตรด ทำซ้ำการทดลองละ 2 ซ้ำ

การคำนวณ :

$$\text{ค่าการซึมผ่านของออกซิเจน (Oxygen permeability: OP)} = \frac{\text{OTR} \times \text{ความหนา}}{\text{partial pressure ระหว่างฟิล์มสองด้าน}}$$

3.1.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลอง 2X4 แฟกทอเรียลแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in Completely Randomized Design: CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคือชนิดของ OKP และอัตราส่วนของ OKP:Gly วิเคราะห์ข้อมูลแบบ one-way analysis of variance (ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS version 10.0.1 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2 การศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-เบสต่อสมบัติของฟิล์มจาก OKP แต่ละชนิด

3.2.1 การเตรียมสารละลายฟิล์มของ OKP

เตรียมสารละลายฟิล์ม OKP ชนิด HBSS หรือ ASS ความเข้มข้น 1.78 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยทำการค่อย ๆ เติมผงของ OKP ลงในสารละลายแอซีเทตบัฟเฟอร์สำหรับค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3.0 และ 5.0 และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ สำหรับค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 7.0 และ 9.0 กวนตลอดเวลาด้วยแท่งแม่เหล็ก 1 คืบ ที่อุณหภูมิห้อง (23 °ซ) เพื่อให้ละลายได้

สมบูรณ์ จากนั้นเติมกลีเซอรอล โดยใช้อัตราส่วนของ OKP:Gly เท่ากับ 10:1 และกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง การขึ้นรูปฟิล์ม และการทดสอบลักษณะของฟิล์ม เช่นเดียวกับข้อ 3.1.2 และข้อ 3.1.3

3.2.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลอง 2X4 แฟกทอเรียลแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษาคือชนิดของ OKP และ ค่าความเป็นกรด-เบส วิเคราะห์ข้อมูลแบบ ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS version 10.0.1 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3 การศึกษาผลของไอออนต่อสมบัติของฟิล์มจาก OKP แต่ละชนิด

3.3.1 การเตรียมสารละลายฟิล์มของ OKP

เตรียมสารละลายฟิล์ม OKP ชนิด HBSS หรือ ASS ความเข้มข้น 1.78% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยทำการค่อย ๆ เติมผงของ OKP ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนเท่ากับ 500 1,000 1,500 และ 2,000 ไมโครโมลาร์ ที่เตรียมด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน กวนตลอดเวลาด้วยแท่งแม่เหล็ก 1 ชิ้น ที่อุณหภูมิห้อง (23 °ซ) เพื่อให้ละลายได้สมบูรณ์ จากนั้นเติมกลีเซอรอล โดยใช้อัตราส่วนของ OKP:Gly เท่ากับ 10:1 และกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง การขึ้นรูปฟิล์ม และการทดสอบลักษณะของฟิล์ม เช่นเดียวกับข้อ 3.1.2 และข้อ 3.1.3

3.3.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

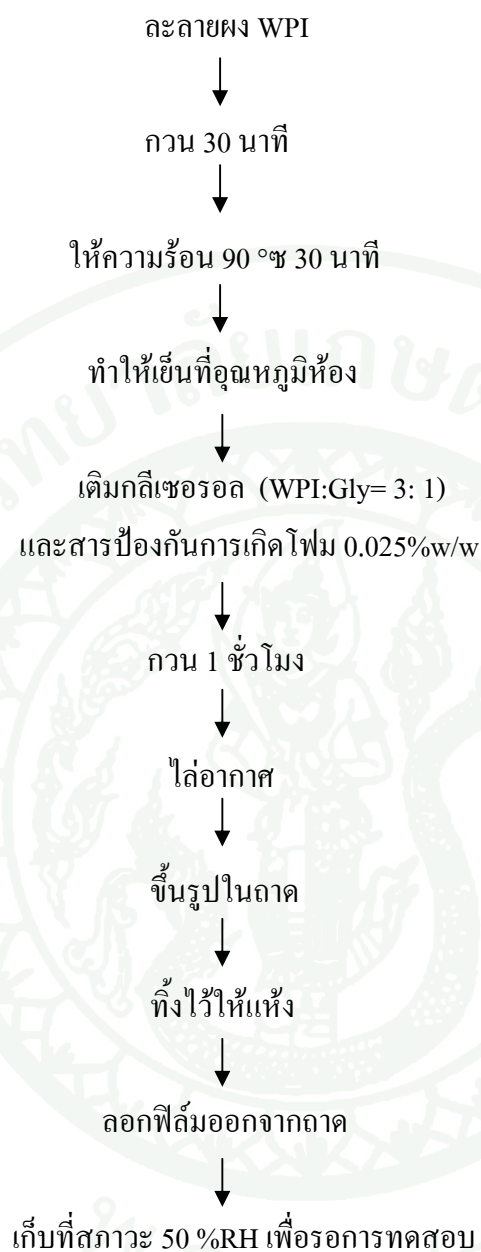
วางแผนการทดลอง 2x4 แฟกทอเรียลแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษาคือชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออน วิเคราะห์ข้อมูลแบบ ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS version 10.0.1 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การศึกษาผลของชนิดของ OKP ต่อสมบัติของฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP

4.1 การเตรียมฟิล์มสำหรับวิเคราะห์สมบัติทางกล การซึมผ่านของไอน้ำ การซึมผ่านของออกซิเจน สมบัติการมองเห็น การวิเคราะห์โครงสร้างขนาดอนุภาค และการหาค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature; T_g)

4.1.1 การเตรียมสารละลายฟิล์มโปรตีนเวย์ (WPI casting solutions)

เตรียมสารละลายฟิล์มโปรตีนเวย์ความเข้มข้น 1.79% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยละลายโปรตีนเวย์ในน้ำปราศจากไอออน กวนตลอดเวลาด้วยแท่งแม่เหล็กนาน 30 นาที โดยแต่ละครั้งใช้สารละลายโปรตีนเวย์จำนวน 200 กรัมในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนเพื่อให้โปรตีนเสียสภาพในอ่างน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 90 °C นาน 30 นาที แล้วทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องในอ่างน้ำแข็ง เตรียมฟิล์มเพื่อเปรียบเทียบฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP (WPI+OKP fraction) กับ ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ (WPI) โดยใช้อัตราส่วนของโปรตีนเวย์รวมกับ OKP ต่อกลีเซอรอล (WPI+OKP fraction:Gly ratio) ระดับเดียวกัน ทำการเติมกลีเซอรอลโดยใช้อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ต่อกลีเซอรอลเท่ากับ 3:1 (WPI:Gly = 3:1) และเติมสารป้องกันการเกิดโฟม 0.025% ของน้ำหนักสารละลายฟิล์ม กวนตลอดเวลาด้วยแท่งแม่เหล็ก นาน 1 ชั่วโมง นำไปใส่อากาศและขึ้นรูปฟิล์ม (ภาพที่ 6) การทดสอบลักษณะของฟิล์ม เช่นเดียวกับข้อ 3.1.2 และข้อ 3.1.3 ในส่วนของการศึกษาผลของพลาสติกไซเซอร์ใช้อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ต่อกลีเซอรอลเท่ากับ 1.3:1 และ 0.6:1 ซึ่งก็คือปริมาณกลีเซอรอลเท่ากับ 25%, 44% และ 62.5% (ของน้ำหนักแห้ง) การคำนวณสูตรการเตรียมสารละลายฟิล์มแสดงในภาคผนวก ก



ภาพที่ 6 แผนภาพการเตรียมฟิล์มโปรตีนเวย์

4.1.2 การเตรียมสารละลายฟิล์ม OKP (OKP fraction casting solutions)

เช่นเดียวกับ ข้อ 3.1.1 แต่ใช้อัตราส่วนของ OKP:Gly เท่ากับ 3:1 และเติมสารป้องกันการเกิดโฟม 0.025% ของน้ำหนักสารละลายฟิล์ม กวนตลอดเวลาด้วยแท่งแม่เหล็ก นาน 1 ชั่วโมง

4.1.3 การเตรียมสารละลายฟิล์มผสมของโปรตีนเวย์และ OKP (WPI-OKP fraction blend casting solutions)

เตรียมสารละลายฟิล์มผสม WPI-OKP โดยให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 1.79% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ต่อ OKP คือ 3:1, 1:1 และ 1:3 ตามลำดับ ละลาย OKP โดยค่อย ๆ เติมผงของ OKP ลงในน้ำที่ปราศจากไอออน กวนตลอดเวลาด้วยแท่งแม่เหล็ก เป็นเวลา 1 คืน ที่อุณหภูมิห้อง (23 °ซ) เพื่อให้ละลายได้สมบูรณ์ จากนั้นทำการละลายผงโปรตีนเวย์ในน้ำปราศจากไอออน กวนด้วยแท่งตลอดเวลา นาน 30 นาที นำไปให้ความร้อนเพื่อทำให้โปรตีนเสียสภาพในอ่างน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 90 °ซ นาน 30 นาที แล้วทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องในอ่างน้ำแข็ง ผสมสารละลายฟิล์มทั้งสองเข้าด้วยกัน กวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติมกลีเซอรอลโดยใช้อัตราส่วนของพอลิเมอร์ต่อกลีเซอรอล (polymer: Gly) เท่ากับ 3: 1 และเติมสารป้องกันการเกิดโฟม 0.025% ของน้ำหนักสารละลายฟิล์ม กวนต่ออีก 1 ชั่วโมง นำไปใส่อากาศและขึ้นรูปฟิล์ม (ภาพที่ 7)

การเปรียบเทียบการเติม OKP ร่วมกับกลีเซอรอลในโปรตีนเวย์ (ฟิล์มผสม) และการเติมเฉพาะกลีเซอรอลเข้าไปในโปรตีนเวย์ (ฟิล์มโปรตีนเวย์) โดยใช้อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ต่อ OKP ต่อกลีเซอรอล (WPI:OKP:Gly) ดังนี้ 75:0:25, 56:19:25, 37.5:37.5:25, 19:56:25 และ 0:75:25 ซึ่งก็คือ OKP fraction+Gly เท่ากับ 25%, 44%, 62.5%, 81% and 100% (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ รายละเอียดการคำนวณสัดส่วนของ WPI:OKP:Gly แสดงในภาคผนวกที่ ก

วิธีการเตรียมสารละลายผสมของโปรตีนเวย์และ OKP นี้ได้จากการทดลองเบื้องต้น เนื่องจากถ้าผสมสารละลายฟิล์มทั้งสองเข้าด้วยกันก่อนแล้วนำไปให้ความร้อน ทำให้เกิดการตกตะกอนของสารละลายฟิล์ม เนื่องจากจากการเสียสภาพของส่วนผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP ทำให้ไม่สามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้

4.1.4 การขึ้นรูปฟิล์ม

เช่นเดียวกับข้อ 3.1.2

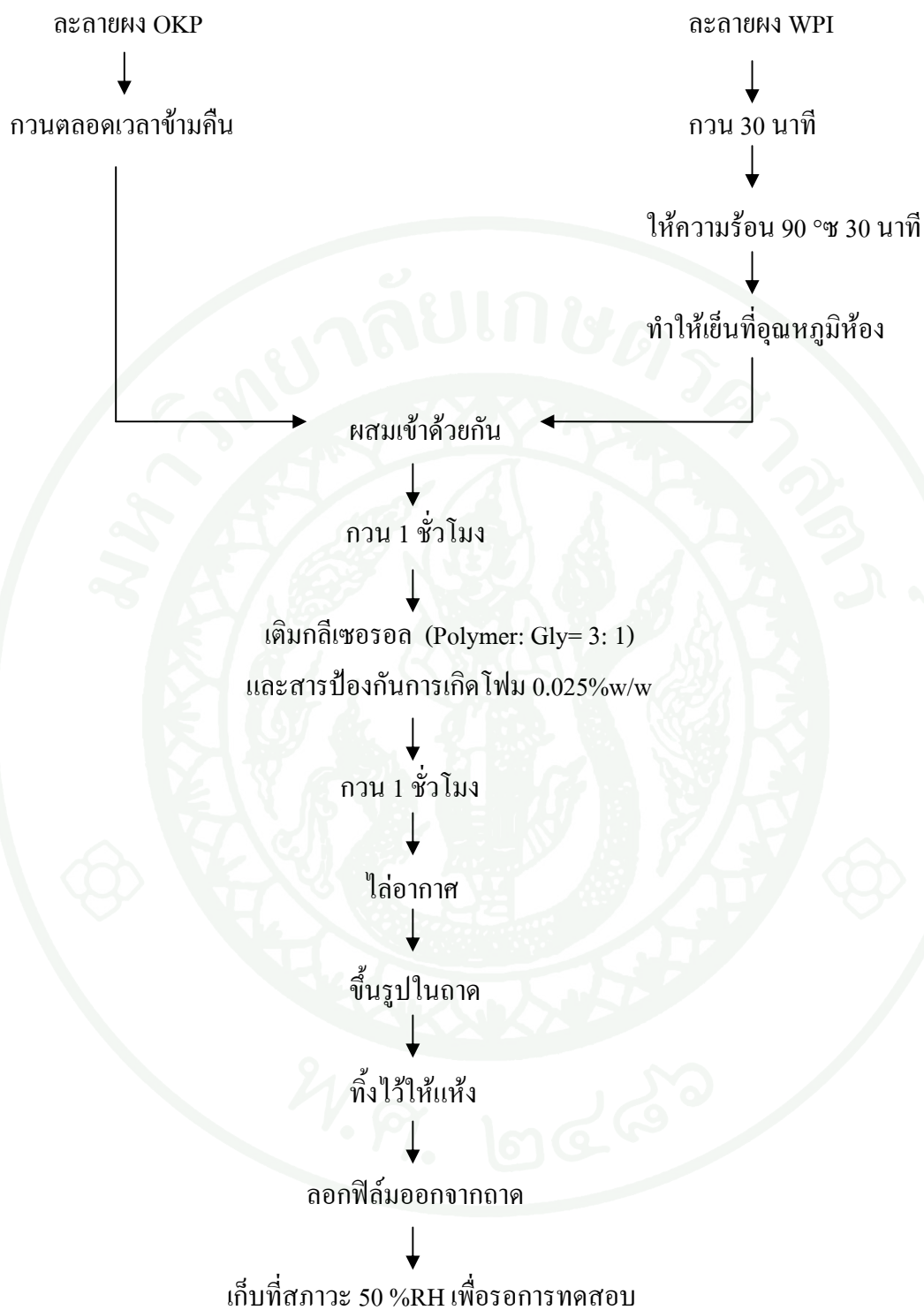
4.2 การเตรียมฟิล์มสำหรับวิเคราะห์ค่าสี ความทึบแสง (Opacity) ความเงา (Gloss) โครงสร้างระดับจุลภาค (Microstructure) และค่า T_g

4.2.1 การเตรียมสารละลายฟิล์มโปรตีนเวย์ สารละลายฟิล์ม OKP และสารละลายฟิล์มผสม WPI-OKP

เช่นเดียวกับ 4.1.1, 4.1.2 และ 4.1.3

4.2.2 การขึ้นรูปฟิล์ม

นำสารละลายฟิล์มที่เตรียมได้ มาไล่อากาศ จากนั้นนำสารละลายจำนวน 60 กรัม ขึ้นรูปบนภาชนะพลาสติก Polyethylene นำไปทำแห้งในตู้ควบคุมความชื้นและอุณหภูมิที่ปรับพื้นให้เรียบ (30°C , $30 \pm 5\% \text{RH}$) นานข้ามคืน สารละลายฟิล์มซึ่งประกอบด้วยของแข็งทั้งหมด 1.5 กรัม เพื่อควบคุมความหนาของแผ่นฟิล์มแต่ละแผ่นให้เท่ากันมากที่สุด แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ และแต่ละซ้ำเตรียมฟิล์ม 3 ภาชนะเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ลักษณะต่าง ๆ ของฟิล์ม เก็บตัวอย่างฟิล์มเพื่อการทดสอบที่ในตู้ควบคุมความชื้น $50 \pm 5\% \text{RH}$



ภาพที่ 7 แผนภาพการเตรียมฟิล์มผสม WPI-OKP

4.3 การทดสอบลักษณะของฟิล์ม

4.5.1 การวัดความหนา เช่นเดียวกับข้อ 3.1.3.1

4.5.2 สมบัติการดึง เช่นเดียวกับข้อ 3.1.3.2

4.5.3 การซึมผ่านของไอน้ำ เช่นเดียวกับข้อ 3.1.3.3

4.5.4 การซึมผ่านของออกซิเจน เช่นเดียวกับข้อ 3.1.3.4

4.5.5 การวัดค่าสี

วัดค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) ของฟิล์มด้วยเครื่องวัดสีรุ่น Minolta Chroma meter CR-200 โดยวางตัวอย่างฟิล์มบนแผ่นมาตรฐานสีขาว วัดโดยใช้ D_{65} (day light) illuminant/ 10° observer แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ และตัวอย่างฟิล์มแต่ละแผ่นถูกสุ่มวัดค่า 5 จุดแล้วหาค่าเฉลี่ย

4.5.6 ความทึบแสง (Opacity)

วัดความทึบแสงของฟิล์มด้วยเครื่อง Ultra Scan XE ด้วย Hunterlab color scale ตามมาตรฐาน ASTM D523 (ASTM, 1999) โดยใช้แหล่งของแสงชนิด D_{65} (day light) รูเปิด 30 มิลลิเมตร วัดค่า 3 ซ้ำในแต่ละการทดลอง หลังการ calibration ด้วยแผ่นมาตรฐานสีดำและสีขาว

ค่าความทึบแสง (Y) คำนวณจากเปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนระหว่างความทึบแสงของตัวอย่างบนแผ่นมาตรฐานสีดำ (Y_b) และความทึบแสงของตัวอย่างบนแผ่นมาตรฐานสีขาว (Y_w) ตามสูตร (Carneiro-da-Cunha *et al.*, 2009)

$$Y (\%) = 100 (Y_b/Y_w)$$

4.5.7 ความเงา (Gloss)

วัดความมันเงาของฟิล์มด้วยเครื่องวัดความเงา (Gloss meter รุ่น micro-TRI-Gloss บริษัท BYK Gardner ประเทศเยอรมนี) โดยวัดที่มุม 20, 60 และ 85 °angles ตามมาตรฐาน ASTM D-523-89 (ASTM, 2000a) ค่าที่ได้มีหน่วยเป็น gloss unit (GU) โดยวางตัวอย่างฟิล์มลงบนผ้ากำมะหยี่สีดำที่มีค่า GU เท่ากับศูนย์ ที่มุม 20, 60 และ 85 °angles วัดค่า 3 ซ้ำในแต่ละการทดลอง

4.5.8 การวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาค (Microstructure analysis)

วิเคราะห์โครงสร้างพื้นผิวของฟิล์มด้วยเครื่องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope ชนิด Energy Dispersive Spectroscopy : SEM-EDS) ภาพที่ได้เป็นภาพบริเวณพื้นผิว (Top surface) และพื้นผิวด้านข้าง (Fractured side surfaces) ของฟิล์ม เก็บฟิล์มไว้ในตู้ดูดความชื้นที่มีซิลิกาเจล เป็นเวลา 7 วันก่อนการทดลอง การเตรียมฟิล์มสำหรับภาพถ่ายพื้นผิวด้านข้าง คือคิบบฟิล์มด้วยที่คิบบที่เรียบ แล้วจุ่มฟิล์มลงในไนโตรเจนเหลว แล้วหักด้วยที่คิบบอีกข้าง และก่อนที่จะนำตัวอย่างไปส่องกล้องทำการเคลือบตัวอย่างด้วยทองคำโดยใช้เครื่อง sputter coater (Dalzer SCD 040) ที่ 15 mA นาน 3 นาที

4.5.9 การวัดค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว Glass transition temperature (T_g)

4.5.9.1 Differential scanning calorimeter (DSC)

หาค่า T_g ของตัวอย่างฟิล์มด้วยเครื่อง Differential scanning calorimeter (รุ่น DSC-7 บริษัท PerkinElmer ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่มีเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermal analyzer controller) (TAC-7) และ intracooler และใช้โปรแกรม Pyris เวอร์ชัน 3.81 ในการวิเคราะห์ผลเตรียมตัวอย่างฟิล์มโดยใช้หัวเจาะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1/8 นิ้ว เจาะฟิล์มให้เป็นชิ้นวงกลม ใส่ลงถ้วยสแตนเลส (stainless steel pan) ขนาด 0.075 ตารางเซนติเมตร ที่ชั่งน้ำหนักแล้วพร้อมฝาและยางรูปตัวโอ (O-ring) ปรับสภาพตัวอย่างโดยเก็บที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ $50 \pm 5\%$ RH และ อุณหภูมิ $28 \pm 5^\circ\text{C}$ อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ก่อนทดสอบ ในตู้ที่มีสารละลายอิมมัวเมกนีเซียมในเตรต จากนั้น

ปิดฝาตัวอย่างรวดเร็วด้วยเครื่องปิด (Crimper) ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ใช้ถ้วยที่ไม่มีตัวอย่างเป็น reference สภาวะในการทำงานของเครื่อง คือ

1. cool จาก 25 °ซ ถึง -60 °ซ อัตราเร็ว 10 °ซ/นาที
2. hold 5 นาที ที่ -60 °ซ
3. heat จาก -60 °ซ ถึง 80 °ซ อัตราเร็ว 10 °ซ/นาที
4. cool จาก 80 °ซ ถึง 25 °ซ อัตราเร็ว 10 °ซ/นาที

หาค่า T_g จาก peak ที่เกิดจากการดูดความร้อนที่เพิ่มขึ้น (Endothermic heat) ทำซ้ำการทดลองละ 3 ซ้ำ

4.5.9.2 Dynamic Mechanical Analysis (DMA)

หาค่า T_g ของตัวอย่างฟิล์มด้วยเครื่อง Dynamic Mechanical Analyzer (รุ่น EPLEXOR[®] DMA 10 N จากบริษัท GABO Qualimeter ของประเทศเยอรมนี) ใช้หัวจับแบบดึง (Tension clamp) ซึ่งค่า T_g ได้จาก peak ของ $\tan \delta$ สำหรับการเตรียมตัวอย่างโดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า กว้าง 10 มิลลิเมตร ยาว 50 มิลลิเมตร ปรับสภาพตัวอย่างโดยเก็บที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ $50 \pm 5\%$ RH และ อุณหภูมิ 28 ± 5 °ซ อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ในตู้ที่มีสารละลายอิ่มตัวแมกนีเซียมไนเตรดก่อนทดสอบ ทำซ้ำการทดลองละ 3 ซ้ำ สภาวะการทำงานของเครื่อง คือ

1. Temperature sweep mode
2. Static load: Force 0.30 N
3. Dynamic load: Force 0.10 N
4. Frequency: 1.00 Hz
5. Temperature range: -80.00 °ซ ถึง 80.00 °ซ
6. Heat rate: 2.0 °ซ/นาที

ค่าที่ได้มีดังนี้

1. Storage modulus (E') คือปริมาณของพลังงานที่สะสมอยู่ในวัสดุต่อ

รอบ

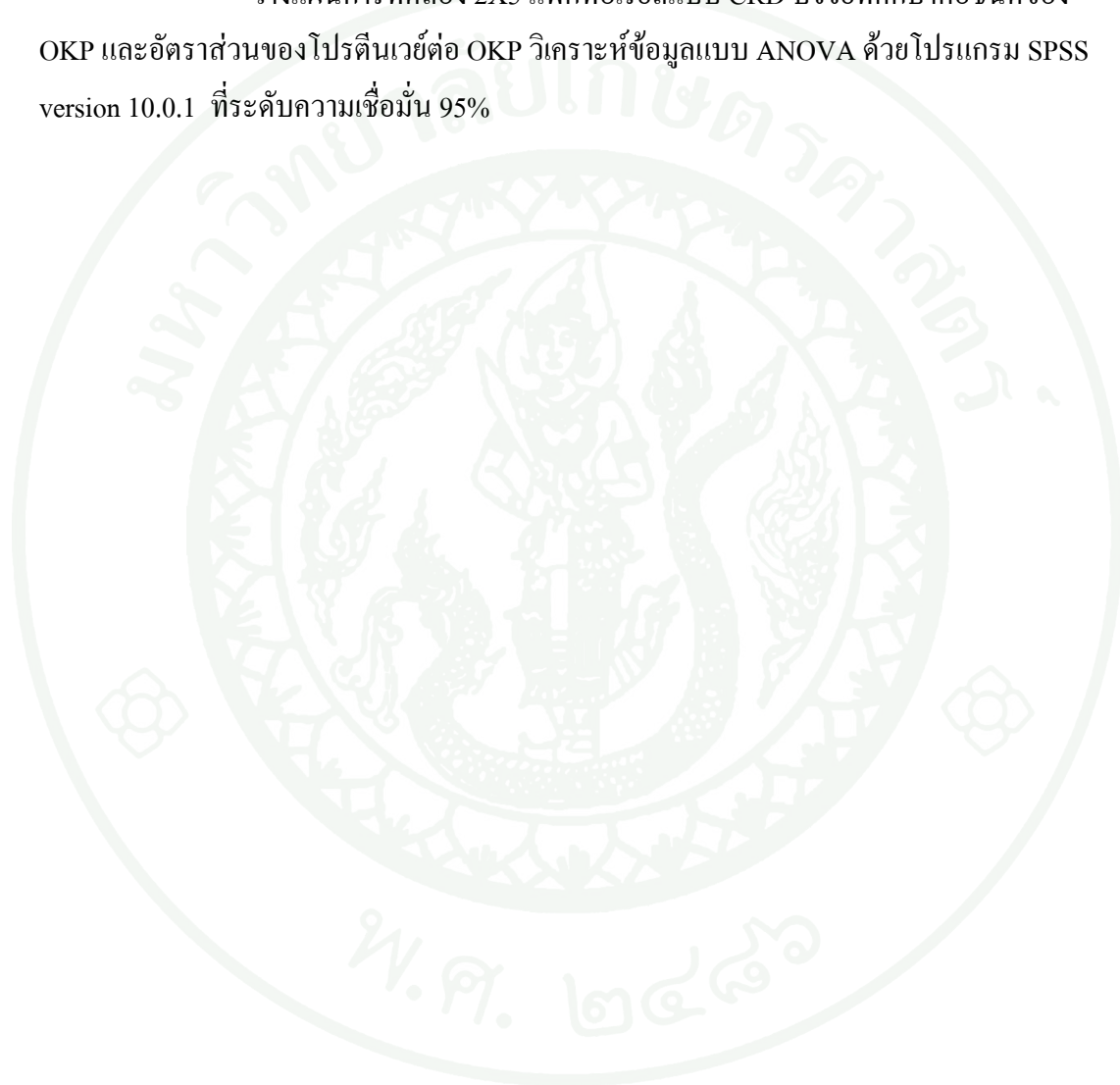
2. Loss modulus (E'') คือสัดส่วนปริมาณของพลังงานที่ dissipated ต่อ

รอบ

3. Loss tan delta ($\tan \delta$) คือ อัตราส่วนของ E'' ต่อ E' ต่อรอบ

4.5.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลอง 2X5 แฟกทอเรียลแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษาคือชนิดของ OKP และอัตราส่วนของโปรตีนเวย์ต่อ OKP วิเคราะห์ข้อมูลแบบ ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS version 10.0.1 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ผลและวิจารณ์

1. การสกัด OKP ด้วยวิธีการสกัดแบบตามลำดับ (Sequential extraction) และองค์ประกอบทางเคมี

1.1 การสกัด OKP

กระเจี๊ยบเขียวที่นำมาใช้ในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ อายุ 5-6 วันหลังดอกบาน และมีความยาวฝักประมาณ 8-13 เซนติเมตร ไม่นับก้านฝัก ดังภาพที่ 8 วชิราภรณ์ (2549) อ้างว่า กระเจี๊ยบเขียวที่มีอายุประมาณ 5-6 วันหลังดอกบานมีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ค่อนข้างสูง ประกอบกับเป็นช่วงอายุฝักที่ขายมากในท้องตลาด ขณะที่ถ้าใช้ฝักที่มีอายุมากกว่านี้ปริมาณเพกตินจะลดลงเรื่อย ๆ



ภาพที่ 8 กระเจี๊ยบเขียวที่ใช้ในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์

ทำการเตรียมตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวก่อนสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ โดยการเตรียมให้อยู่ในรูปของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (Alcohol insoluble solid : AIS) โดยดัดแปลงจากวิธีของ วชิราภรณ์ (2549) และ Sengkhamparn *et al.* (2009b) (ภาพที่ 3) จากนั้น นำ AIS ที่ได้ ไปสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีการสกัดแบบตามลำดับ (Sequential extraction) (ภาพที่ 4)

วิธีการสกัดแบบตามลำดับนี้ใช้เนื่องจากโดยปกติผนังเซลล์ของพืชประกอบไปด้วย โครงสร้างโมเลกุลหลาย ๆ ชนิดที่มีโครงสร้างซับซ้อน และมีพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เพกติน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส เป็นต้น การสกัดด้วยวิธีดังกล่าวโดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน ทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ต่างชนิดกันด้วย เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์แต่ละชนิดมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายไม่เท่ากัน (Hilz *et al.*, 2005) Voragen *et al.* (1995) พบว่า การสกัดด้วยน้ำทำให้ได้ผลได้ของเพกตินที่มีหมู่เอสเตอร์ไฟด์ (esterified pectin) สูง และเป็นเพกตินที่มีน้ำตาลที่เป็นกลางมากกว่าที่สกัดด้วยคีเลตติ้งเอเจนต์ (chelating agent) ขณะที่การสกัดด้วยคีเลตติ้งเอเจนต์ทำให้ได้เพกตินที่มีประมาณ degree of methylation สูง ส่วนการสกัดด้วยเบส เจือจาง ละลาย เพกตินที่มีเอสเตอร์ที่ถูกเชื่อมข้ามภายในเนื้อผนังเซลล์ (ester cross linked) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเบสทำให้ช่วยละลายเฮมิเซลลูโลสออกมา ขณะที่กากที่เหลือจากการสกัดประกอบด้วย ลิกนินและเซลลูโลส (Åman and Westerlund, 1996; Fügél *et al.*, 2004)

Sengkhampan *et al.* (2009b) ศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีสกัดแบบตามลำดับในกระเจียบเขียวโดยใช้สารละลายชนิดต่าง ๆ ขั้นแรก สกัดด้วยบัฟเฟอร์ร้อน (0.05 M acetate buffer pH 5.2 อุณหภูมิ 70 °ซ) จากนั้นเหวี่ยงแยก นำส่วนที่ไม่ละลายน้ำมาสกัดต่อด้วย คีเลตติ้งเอเจนต์ (0.05 M EDTA) และเหวี่ยงแยก นำส่วนที่ไม่ละลายในคีเลตติ้งเอเจนต์ มาสกัดต่อยด้วย เบสเจือจาง (0.05 M NaOH อุณหภูมิ 5 °ซ) และเบสเข้มข้น (6.0 M NaOH อุณหภูมิ 5 °ซ) ตามลำดับ ได้พอลิแซ็กคาไรด์ชนิดต่าง ๆ ดังนี้ hot buffer soluble solid (HBSS), chelating agent soluble solid (CHSS), dilute alkaline soluble solid (DASS) และ concentrated soluble solid (CASS) ตามลำดับ โดยที่ผลได้ของ HBSS และ DASS มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 1)

การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ในงานวิจัยนี้ดัดแปลงจากวิธีของ Sengkhampan *et al.* (2009a) และเนื่องจากต้องการปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์แต่ละชนิดในปริมาณสูงเพื่อใช้ศึกษาสมบัติของฟิล์มที่สัมพันธ์กับโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์แต่ละชนิดจึงเลือกใช้สารละลายที่ให้ผลได้สูงในการสกัด คือ บัฟเฟอร์ร้อน (0.05 M acetate buffer pH 5.2 อุณหภูมิ 70 °ซ) ตามด้วยเบส เจือจาง (0.05 M NaOH อุณหภูมิ 5 °ซ) ได้พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวชนิด Hot Buffer Soluble Solid (HBSS) และ พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวชนิด alkaline soluble solid (ASS) เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ในการสกัดด้วยบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิสูงทำให้เพกตินละลายออกมาได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง และการที่ใช้บัฟเฟอร์ 5.2 แทนน้ำก็เพื่อควบคุมค่า pH ไม่ให้

เปลี่ยนแปลงที่มีผลต่อโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ ส่วนการสกัดด้วยเบสที่อุณหภูมิต่ำก็เพื่อป้องกันการเกิด β -elimination ของโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ (Voragen *et al.* 1995)

ผลได้จากการสกัด OKP ด้วยวิธีแบบตามลำดับเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา แสดงดังตารางที่ 1 โดยคำนวณผลได้เทียบกับน้ำหนัก AIS และ เทียบกับฝักสด พบว่า ปริมาณผลได้ของ AIS เมื่อเทียบกับฝักสดมีค่าใกล้เคียงกับผลของ Sengkhampan *et al.* (2009a) คือ งานปัจจุบันมีปริมาณผลได้เท่ากับ 5.33% ขณะที่งานของ Sengkhampan *et al.* (2009a) มีปริมาณผลได้เท่ากับ 5.83%

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณผลได้ของ OKP เทียบกับน้ำหนักฝักสด (ตารางที่ 1) พบว่า HBSS ในงานปัจจุบันมีค่าสูงสุด คือ 0.96% และสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องในงานของ วชิราภรณ์ (2549) การที่ได้สูงกว่าอาจเนื่องจากการสกัดด้วยอุณหภูมิสูงกว่า (70 °ซ) ขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับผลของ Sengkhampan *et al.* (2009b) การสกัดด้วยบัฟเฟอร์ร้อน (HBSS) พบว่าในงานปัจจุบันมีปริมาณผลได้สูงกว่า (0.96% และ 0.65%) ขณะที่การสกัดด้วยเบสเจือจาง (ASS สำหรับงานปัจจุบันเทียบกับ DASS สำหรับงานของ Sengkhampan) พบว่างานปัจจุบันมีปริมาณผลได้ต่ำกว่า (0.45% และ 0.28%) ซึ่งผลที่แตกต่างนี้อาจเนื่องมาจากงานของ Sengkhampan *et al.* (2009b) การสกัดในแต่ละขั้นตอนสกัดหลาย ๆ รอบ (ประมาณ 6-7 รอบ) แล้วนำปริมาณผลได้มารวมกัน ขณะที่งานวิจัยนี้มีข้อจำกัดคือต้องการปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์สูง ในการสกัดรอบที่สองค่าผลได้ค่อนข้างต่ำ ทำให้ใช้เวลาในการสกัดค่อนข้างนาน และส่งผลให้การสกัดในขั้นถัด ๆ ไปมีผลได้ต่ำลงซึ่งปริมาณไม่พอที่จะใช้ในการทดลองถัดไป ดังนั้นจึงทำการสกัดแต่ละขั้นเพียงรอบเดียว

เมื่อเทียบระหว่างการสกัดด้วยน้ำและเบสเจือจางในงานปัจจุบัน พบว่า การสกัดด้วยน้ำมีปริมาณผลได้มากกว่าการสกัดด้วยเบสเจือจางประมาณหนึ่งเท่า (0.96% และ 0.45%) ทั้งนี้ยังอาจเนื่องมาจากการใช้อุณหภูมิสูงร่วมด้วย

จากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการที่ปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากกระเจี๊ยบเขียวมีค่าแตกต่างกัน เกี่ยวข้องกับวิธีที่ใช้ในการสกัด สารละลายที่ใช้ในการสกัด และ ขั้นตอนการทำให้เป็นผงแห้ง สำหรับการทดลองนี้ทำการสกัด OKP และทำให้แห้งแบบแช่เยือก

แข็ง โดยไม่ผ่านการทำให้เข้มข้นด้วยการระเหยน้ำออก เนื่องจากขั้นตอนดังกล่าว ทำให้เกิดการสูญเสียพอลิแซ็กคาไรด์ออกไปบางส่วน ส่งผลทำให้มีปริมาณผลได้ลดลง

ตารางที่ 1 ปริมาณผลได้ (yield) ของ AIS และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียนเขียวในรูปผงแห้ง (OKP) เทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา

งานวิจัย	ปริมาณผลได้ของ AIS เทียบกับ น้ำหนักฝักสด (%)	ปริมาณผลได้ของ OKP เทียบกับ น้ำหนัก AIS (%)	ปริมาณผลได้ของ OKP เทียบกับ น้ำหนักฝักสด (%)	สารละลายที่ใช้สกัด OKP
วชิราภรณ์ (2549)	NA	NA	0.93	น้ำอุณหภูมิห้อง
Sengkhampan <i>et al.</i> (2009b)*	5.83	HBSS 11.17	0.65	Hot buffer pH 5.2, 70 °ซ
		CHSS 4.8	0.28	0.05 M EDTA, 5 °ซ
		DASS 13.15	0.77	0.05 M NaOH, 5 °ซ
		CASS 4.05	0.24	6 M NaOH, 5 °ซ
งานปัจจุบัน* (Present study)	5.33	HBSS 17.96	0.96	Hot buffer pH 5.2, 70 °ซ
		ASS 8.29	0.45	0.05 M NaOH, 5 °ซ

หมายเหตุ NA หมายถึง not applicable = ไม่ได้วัด

* หมายถึง สกัดด้วยวิธีตามลำดับ (Sequential extraction)

1.2 องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียนเขียว

องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียนเขียวชนิด HBSS และ ASS ที่สกัดด้วยวิธีการสกัดตามลำดับโดยใช้สารละลายต่างชนิดกัน แสดงดังตารางที่ 2 ตามรายงานของ Hilz *et al.* (2005) พบว่าบัพเฟอร์ร้อนละลายเพกตินที่ยึดแบบหลวม ๆ ในเนื้อเซลล์ ขณะที่โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.05 M ละลายเพกตินที่ติดแน่นอยู่กับเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total carbohydrate) โดยเทียบกับสารมาตรฐานกรดกาแล็กโทส ได้ผลดังตารางที่ 2 โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของ HBSS มีค่า

สูงกว่า ASS ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบประกอบด้วยน้ำตาลที่ละลายในน้ำมากกว่าน้ำตาลที่ละลายในเบส และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมาใกล้เคียงกับค่าของ Sengkhampan *et al.* (2009a) ที่รายงานปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของ OKP ใน HBSS CHSS DASS และ CASS คือ 85%, 60%, 62% และ 90% ตามลำดับ จากงานที่ผ่านมารายงานว่า การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้สารละลายที่แตกต่างกันทำให้ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน โดยที่ HBSS และ ASS ประกอบด้วยชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลักที่ต่างกัน โดยที่การสกัดด้วยบัฟเฟอร์ร้อน ได้ HBSS ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ถูกเอสเทอร์ไฟด์และมีน้ำตาลที่เป็นกลางเป็นองค์ประกอบหลัก และมีน้ำตาลกาแล็กโทสสูง (Lengsfeld *et al.*, 2004; Deters *et al.*, 2005; Sengkhampan *et al.*, 2009a) ขณะที่การสกัดด้วยเบสเจือจางได้เทียบได้กับ ASS ที่มีน้ำตาลกาแล็กโทสและอะราบิโนสเป็นองค์ประกอบหลัก (Sengkhampan *et al.*, 2009a)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียว

องค์ประกอบทางเคมี	HBSS*	ASS*
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (%)	85.46 ^a ±2.13	52.92 ^b ±0.93
กรดยูโรไนค์ (%)	20.65 ^b ±0.78	32.37 ^a ±2.16
เมทานอล (%)	0.11 ^a ±0.01	0.07 ^b ±0.01
Degree of esterification (%)	2.75 ^a ±0.12	1.85 ^b ±0.13
โปรตีน (%)	12.30 ^a ±0.63	8.64 ^b ±0.32

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การวิเคราะห์น้ำตาลยูโรไนค์ โดยเทียบกับสารมาตรฐานกรดกาแล็กโทโรนิก ซึ่งเป็นการวัดน้ำตาลที่มีหมู่คาร์บอกซิลิกในโครงสร้าง ผลการวิเคราะห์พบว่า ASS มีปริมาณน้ำตาลยูโรไนค์สูงกว่า HBSS ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าทั้งสองชนิดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดกรด (acidic polysaccharides) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sengkhampan *et al.* (2009a) พบว่า ปริมาณน้ำตาลยูโรไนค์ใน DASS (32.9) มีค่าสูงกว่าใน HBSS (29.5) เช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากการที่สารละลายเบสที่ใช้ในการสกัดไปทำลายพันธะเอสเทอร์ของหมู่เมทิลเอสเทอร์ที่เกาะกับหมู่คาร์บอกซิลิกใน

โครงสร้างของน้ำตาล จึงทำให้มีปริมาณน้ำตาลที่มีสถานะเป็นกรดมากกว่า (Voragen and Pilnik, 1995)

การวิเคราะห์ปริมาณเมทอกซิล ด้วย alcohol oxidase ตามวิธีของ Klavones and Bennett (1986) พบว่า HBSS และ ASS มีค่าเมทอกซิลต่ำ คือ 0.11% และ 0.07% โดยมีค่า degree of esterification เท่ากับ 2.75% และ 1.85% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ากรดกาแล็กทูโรนิก ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวทั้งสองชนิด มีหมู่เมทิลเอสเทอร์ไฟด์อยู่ค่อนข้างน้อย เมื่อเทียบกับค่า degree of esterification ของเพกตินชนิดที่มีหมู่เมทอกซิลต่ำ ที่ใช้ในทางการค้าซึ่งมีค่า degree of esterification อยู่ในช่วง 20-40% (Rolin, 1998) แต่เมื่อเทียบกับงานของ Sengkhampan *et al.*, (2009a) ซึ่งมีค่า degree of esterification ใน HBSS เท่ากับ 31% แตกต่างกัน อาจเนื่องจากการใช้วิธีในการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยวิเคราะห์ด้วย HPLC (Voragen *et al.*, 1986) จำนวน โดยเทียบกับ 100 โมลของกรดกาแล็กทูโรนิก

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี micro-kjeldahl แล้วคำนวณเป็นปริมาณโปรตีน โดยใช้ Conversion factor เท่ากับ 6.25 พบว่า HBSS มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า ASS แสดงให้เห็นว่าโปรตีนอาจจับอยู่บริเวณผนังเซลล์ไม่แน่น ดังนั้นการใช้บัฟเฟอร์แอซิเตดสัคคัสสามารถละลายโปรตีนออกมาได้ ขณะที่เมื่อทำการสกัดแบบตามลำดับได้โปรตีนที่เหลือน้อยลง ทำให้ ASS มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่า

2. ผลของปริมาณกลีเซอรอล ความเป็นกรด-เบส ปริมาณไอออน ต่อสมบัติของฟิล์มจาก OKP แต่ละชนิด

2.1 การเตรียมฟิล์มและการขึ้นรูปฟิล์ม

จากการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาสูตรที่เหมาะสมในการทำฟิล์มและการขึ้นรูปฟิล์ม พบว่า ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายฟิล์มคือ 1.75% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เนื่องจากเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถละลายในน้ำได้อย่างเป็นเนื้อเดียวกัน การใช้ความเข้มข้นสูงก็ยิ่งทำให้การทำแห้งใช้เวลาน้อย ขณะที่การใช้ความเข้มข้นต่ำ ต้องใช้ปริมาณของสารละลายฟิล์มสูง เพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งสุดท้ายได้ตามที่กำหนด ทำให้การทำแห้งใช้เวลานานขึ้น

ทั้งนี้การละลายผงพอลิแซ็กคาไรด์ในน้ำให้เป็นเนื้อเดียวกันค่อนข้างยาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง HBSS ซึ่งเมื่อละลายในน้ำให้ความหนืดสูง และมีการดูดน้ำที่เร็ว ทำให้จับตัวเป็นก้อน ส่วนที่สัมผัสน้ำก็ดูดน้ำอย่างรวดเร็วห่อหุ้มเอาส่วนที่ไม่สัมผัสน้ำเอาไว้ ดังนั้นวิธีการละลายและการทำให้กระจายตัวในน้ำจึงค่อนข้างสำคัญ ต้องค่อย ๆ ละลายโรยผง แล้วกวนด้วยความเร็ว และกวนทิ้งไว้ทั้งคืนเพื่อให้ดูดน้ำอย่างสมบูรณ์ ถ้าการละลายไม่สมบูรณ์ทำให้สารละลายฟิล์มเป็นก้อน ยากแก่การขึ้นรูปและทำแห้ง เมื่อนำไปทำแห้ง ฟิล์มที่ได้แห้งไม่พร้อมกัน และความหนาไม่สม่ำเสมอ

ปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมฟิล์ม คือ สัดส่วนในสูตร ขั้นตอนการผสม การทำแห้ง การเก็บรักษา ซึ่งมีผลต่อความหนา ความสม่ำเสมอของฟิล์ม ต้องควบคุมให้คงที่เพื่อให้การทดสอบคุณสมบัติต่างของฟิล์มถูกต้องและแม่นยำ

2.2 ลักษณะปรากฏและความหนาของฟิล์ม

ฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS มีสีเหลืองและไม่โปร่งแสง (ภาพที่ 9) การที่ฟิล์มมีสีเหลืองอาจเนื่องมาจาก สีของคลอโรฟิลล์ที่เหลือจากขั้นตอนการเตรียมผนังเซลล์ (AIS) ฟิล์มจาก ASS มีสีเหลืองมากกว่า HBSS เนื่องจากการใช้เบสในการสกัดทำให้เกิดสีเหลือง ความหนาเฉลี่ยของฟิล์มคือ 0.1089 ± 0.021 มิลลิเมตร ซึ่งนำไปใช้ในการคำนวณ สมบัติการดึงความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนของฟิล์ม



ภาพที่ 9 ฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS

2.3 ผลของปริมาณกลีเซอรอลที่มีต่อสมบัติของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS

ศึกษาผลของปริมาณกลีเซอรอลที่มีต่อสมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ซึ่งกลีเซอรอลทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ช่วยเพิ่มความอ่อนตัว ความคงทนต่อการใช้งาน และการยืดตัวของฟิล์ม

2.3.1 สมบัติการดึง (Tensile properties)

ปริมาณกลีเซอรอล และชนิดของ OKP มีผลต่อแรงต้านทานแรงดึงขาด (Tensile strength, TS) โมดูลัสยืดหยุ่นซึ่งบ่งบอกความแข็ง (Elastic modulus, EM) และการยืดตัว (%Elongation, %E) ของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข1-ข3

การเพิ่มขึ้นของปริมาณกลีเซอรอลมีผลทำให้แรงต้านทานการดึงขาดและความแข็งของฟิล์ม HBSS และ ASS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่การยืดตัวของฟิล์มทั้งสองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS มีแรงต้านทานการดึงขาดสูงกว่าฟิล์มจาก OKP ชนิด ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และการเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลส่งผลให้แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 10)

ฟิล์มจาก ASS มีโมดูลัสยืดหยุ่นหรือความแข็งกว่าฟิล์มจาก HBSS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนฟิล์มจาก ASS ที่ไม่เติมกลีเซอรอลมีความแข็งสูงที่สุด เมื่อเทียบกับฟิล์มทุกตัว การเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลส่งผลทำให้ฟิล์มมีความแข็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 11)

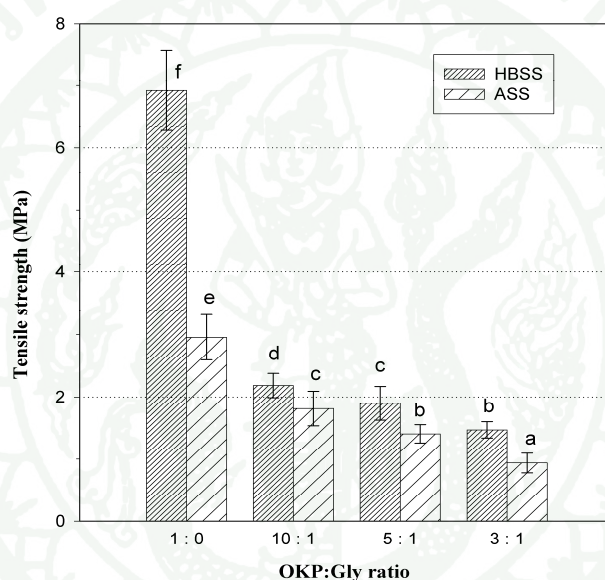
ฟิล์มจาก HBSS มีการยืดตัวสูงกว่าฟิล์มจาก ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลส่งผลให้การยืดตัวของฟิล์มสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 12)

แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับการยืดตัวของฟิล์ม ซึ่งโดยปกติความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์หรือโปรตีนมีความสัมพันธ์แปรผกผันกัน (Krochta *et al.*, 1994)

การที่ฟิล์มจาก ASS มีสมบัติการดึงที่ด้อยกว่าฟิล์มจาก HBSS อาจเนื่องมาจากโครงสร้างที่แตกต่างกันของฟิล์มทั้งสองชนิด ASS เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างประกอบด้วยอะราบินอกาแล็กแทนชนิดที่ 1 (Arabinogalactan I; AG I) และ อะราบินอกาแล็กแทนชนิดที่ 2 (Arabinogalactan II; AG II) เป็นโซ่ข้าง (side chain) ซึ่งมีความยาวมากกว่า HBSS โดยที่ HBSS มีโซ่ข้างเป็นกาแล็กแทนซึ่งสั้นกว่า (Sengkhampan *et al.* 2009a, 2009b) โดยภาพจำลองของโครงสร้างผนังเซลล์พืช แสดงดังภาพที่ 2 ส่งผลทำให้ฟิล์มจาก ASS มีความแข็งแรงน้อยกว่าฟิล์มจาก HBSS Nieto (2009) รายงานว่า โดยทั่วไป ประจุลบที่อยู่บนโครงสร้างแบบเส้นตรงของพอลิแซ็กคาไรด์ (Linear polysaccharide) มีผลต่อโครงสร้างและความแข็งแรงของฟิล์ม ทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงพอที่จะฟอร์มตัวเป็นแผ่นฟิล์ม และลอกออกจากถาดได้ แต่ถ้าพอลิแซ็กคาไรด์มีโครงสร้างที่มีโซ่ข้างที่ยาวกว่า ส่งผลทำให้เกิดการกีดขวางการชนกัน (steric hindrance) และเกิดการขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาค้างภายในโมเลกุลเอง (intermolecular association) และปฏิกิริยาค้างระหว่างโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ (chain intermolecular force) ลดลง ซึ่งทำให้โครงสร้างของฟิล์มไม่แข็งแรง นอกจากนี้ Sothornvit and Krochta (2005) รายงานว่าความยาวของโซ่ข้างของพอลิเมอร์มีผลต่อสมบัติของฟิล์มโดยเมื่อความยาวของสายข้างยาวขึ้น เป็นการเพิ่มการกีดขวางเนื่องจากขนาด ขณะที่แรงภายในโมเลกุล (chain intermolecular force) ลดลง ทำให้การเคลื่อนที่ของสายพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ความแข็งแรงและสมบัติการเป็นตัวป้องกันไอน้ำและก๊าซออกซิเจนลดลงของฟิล์มลดลง

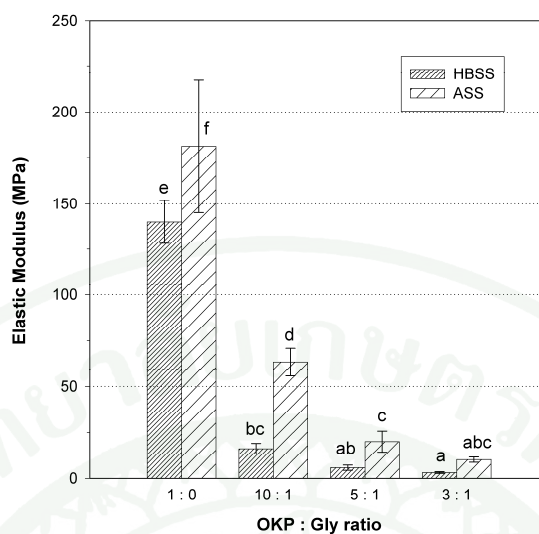
สำหรับฟิล์มจากไฮโดรคอลลอยคัลนั้น นิยมใช้พลาสติกไซเซอร์เพื่อเป็นตัวช่วยเสริมสมบัติเชิงหน้าที่ของฟิล์มให้ดีขึ้น โดยช่วยปรับปรุงทั้งความยืดหยุ่นและการจัดการดูแลเกี่ยวกับฟิล์มให้เหมาะสมมากขึ้น (Sothornvit and Krochta, 2001) ซึ่งการใช้กลีเซอรอลซึ่งเป็นพลาสติกไซเซอร์ชนิดที่ชอบน้ำ (Hydrophilic plasticizer) จึงเหมาะสมและเข้ากันได้กับ OKP ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำโดยธรรมชาติทำให้ผสมกันได้ง่ายและเข้ากันได้ดี (Krochta *et al.*, 1994)

โมเลกุลของกลีเซอรอลที่ถูกเติมเข้าไปใน OKP สามารถทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างกลีเซอรอลกับ OKP แทนที่พันธะไฮโดรเจนระหว่างพอลิแซ็กคาไรด์กับพอลิแซ็กคาไรด์ และด้วยเหตุที่อันตรกิริยาระหว่างโซโมเลกุลของพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ลดลง ทำให้มีโอกาสเกิดการเคลื่อนที่ระหว่างโซ่ข้างมากขึ้น ส่งผลทำให้แรงด้านการดึงยึดของฟิล์มลดลง และช่วยปรับปรุงความสามารถในการทำให้ยืดของฟิล์ม (Krochta *et al.*, 1994; Sothornvit and Krochta, 2005)



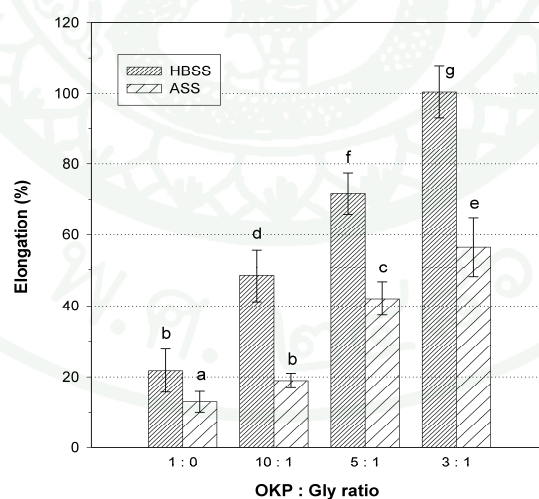
ภาพที่ 10 แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 11 มอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 12 การยืดตัวของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อปริมาณกลีเซอรอลที่เติมลงในฟิล์มมากขึ้น ทำให้สมบัติของฟิล์มเปลี่ยนแปลงไป โดยทำให้มีการยืดออก และความยืดหยุ่นมากขึ้น ขณะที่แรงต้านทานการดึงขาด และความแข็งแรงลดลง เมื่อพลาสติกไซเซอรเข้าไประหว่างฟิล์มเกิดการแลกเปลี่ยน (interchange) ของพันธะไฮโดรเจนระหว่างพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ และพอลิเมอร์กับพลาสติกไซเซอร ส่งผลทำให้อันตรกิริยาโดยตรงระหว่างสายพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ลดลงบางส่วน ดังนั้นการเพิ่มปริมาณของกลีเซอรอลเป็นการเพิ่มพันธะไฮโดรเจนกับพอลิเมอร์ และลดพันธะของพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ (Sothornvit and Krochta, 2005) ซึ่งเป็นไปตามที่คาดไว้ว่า เมื่อเติมกลีเซอรอลในฟิล์มจาก OKP ค่าแรงต้านทานการดึงขาดลดลง ขณะที่การยืดตัวของฟิล์มสูงขึ้น โดยกลีเซอรอลไปทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอรขณะเดียวกันก็ลดแรงต้านทานการดึงขาด เนื่องจากกลีเซอรอลไปลดแรงยึดเกาะภายในโมเลกุลของพอลิเมอร์โดยกลีเซอรอลเข้าไปจับกับพอลิเมอร์เกิดพันธะไฮโดรเจน ทำให้แรงระหว่างโมเลกุลของสายพอลิเมอร์ ที่อยู่ใกล้กันลดลง นอกจากนี้เมื่อเพิ่มปริมาณกลีเซอรอล ทำให้แรงต้านทานการดึงขาดลดลงเป็น เพราะกลีเซอรอลทำหน้าที่ไปแทรกในโครงสร้างภายในฟิล์มทำให้สายของพอลิแซ็กคาไรด์แยกออกจากกัน ส่งผลทำให้แรงต้านทานการดึงขาดลดลง (Beerler and Finney, 1983) สอดคล้องกับผลของงานวิจัยในฟิล์มหลาย ๆ ชนิด ได้แก่ ฟิล์มจากโปรตีน เช่น การเติมกลีเซอรอลในฟิล์มจากโปรตีนเวย์ (McHugh and Krochta, 1994) และการเติมกลีเซอรอลในฟิล์มจากเบต้าแล็กโตโกลบูลิน (Sothornvit and Krochta, 2001) ฟิล์มผสม เช่น การเติมกลีเซอรอลในฟิล์มผสมจากเจลาตินและไคโตซาน (Rivero *et al.*, 2009) รวมทั้งฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์เช่น การเติมกลีเซอรอลในฟิล์มจากเจลาติน (Yang and Paulson, 2000) ฟิล์มจากเซลลูโลส (Park *et al.*, 1993; Donhowe and Fenema, 1993) ฟิล์มจากไคโตซาน (Ziani *et al.*, 2008) และฟิล์มจากบุกกลูโคแมน (Cheng *et al.*, 2006)

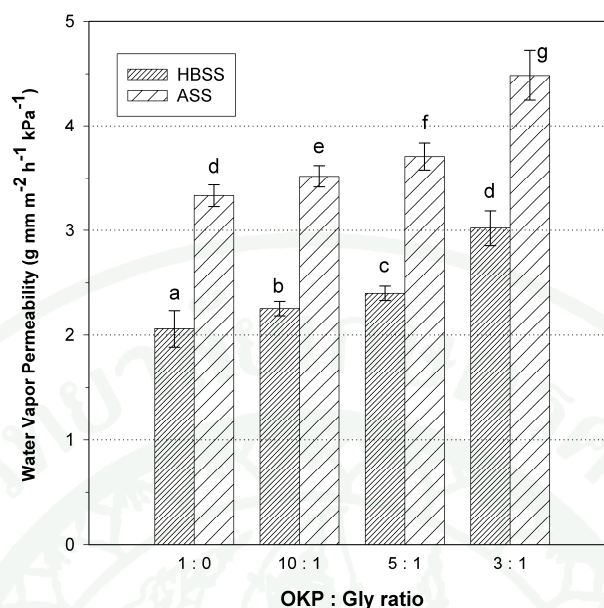
2.3.2 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (Water vapor permeability)

ปริมาณกลีเซอรอล และชนิดของ OKP มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข4

จากภาพที่ 13 การเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลทำให้ฟิล์มจาก HBSS และ ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูงขึ้น ($p < 0.05$) ฟิล์มจาก ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูงกว่าฟิล์มจาก HBSS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งอาจเกิดจาก ASS มีสมบัติ

ชอบน้ำมากกว่า HBSS เนื่องจากการสกัด ASS ใช้เบสในการสกัดซึ่งเป็นการ saponify ซึ่งทำให้หมู่ แอซีทิลและหมู่เมทอกซิลหลุดออกไปจากโครงสร้างของ OKP ส่งผลทำให้มีปริมาณกรด กา แล็กทิกที่มียุโรปสูงกว่ เมื่อเทียบกับ HBSS ที่ใช้บัฟเฟอร์ในการสกัด (ตารางที่ 2) ซึ่ง Sengkhampan et al. (2009b) รายงานว่า DASS ซึ่งสกัดด้วยเบสเจือจาง (0.05 M NaOH) มีปริมาณ ปริมาณกรดกาแล็กทิกสูงกว่ HBSS

การที่กลีเซอรอลเข้าไปแทรกอยู่ในพื้นที่ระหว่างโซ่โมเลกุลของพอลิเมอร์ (inclusion) ทำให้พื้นที่ว่างระหว่าง (interchain spacing) โซ่พอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ไอน้ำมีการ แพร่ผ่านฟิล์มสูงขึ้น อีกทั้งช่วยเร่งการส่งผ่านของไอน้ำให้สูงขึ้น นอกจากนี้การที่โมเลกุลของ กลีเซอรอลมีความเป็นขั้วสูงทำให้โมเลกุลของน้ำสามารถซึมซับได้ดี ส่งผลทำให้ฟิล์มมีความ สามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูง (Gontard et al., 1993) ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อมีปริมาณกลีเซอรอล สูง ทำให้กลีเซอรอลอยู่รวมกันมากขึ้น ส่งผลให้โครงสร้างของพอลิเมอร์เปิดออกมากขึ้น ทำให้การ ซึมผ่านของความชื้นในฟิล์มสูงขึ้นด้วย (Lieberman and Gilbert, 1973) รวมทั้งตามที่ Guilbert and Biquet (1996) รายงานว่าการเติมพลาสติกไซเซอรเป็นารดัดแปรสมบัติของฟิล์มโดยเป็นการลด พันธะภายในโมเลกุลระหว่างโซ่ข้างพอลิเมอร์ ส่งผลการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการซึมผ่าน ของไอน้ำของฟิล์ม นอกจากนี้ เนื่องจากกลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอรชนิดที่ชอบน้ำ และมี น้ำหนักโมเลกุลต่ำจึงสามารถแทรกเข้าไปรวมในสายของพอลิเมอร์ได้ง่าย และเกิดพันธะไฮโดรเจน กับหมู่ของพอลิเมอร์ที่เกิดปฏิกิริยาได้ (reactive group polymer) ซึ่งการที่กลีเซอรอลเข้าไปอยู่ใน เนื้อพอลิเมอร์ (polymer matrix) ทำให้แรงดึงดูดระหว่างสายพอลิเมอร์ลดลงและทำให้ปริมาตร อิสระ (free volume) เพิ่มขึ้น ทำให้มีการเคลื่อนที่ของพอลิเมอร์มากขึ้น ดังนั้นโมเลกุลของน้ำจึง แพร่ (diffusion) ได้ง่ายขึ้น ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำจึงสูงขึ้น ผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Park et al., (1993) ศึกษาฟิล์มจากเซลลูโลส; Debeaufort and Villey (1994) ศึกษาฟิล์มจากเมทิลเซลลูโลส โดยที่วัตถุประสงค์หลักของการใช้พลาสติกไซเซอร เพื่อเพิ่ม ความยืดหยุ่น ลดแรงต้านทานการดึงขาด และเพิ่มการยึดตัว ในฟิล์มบริโภคได้ (Donhowe and Fennema, 1993; Gontard et al., 1993) ขณะที่ข้อเสียในการประยุกต์ใช้คือทำให้ความสามารถใน การซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มเพิ่มขึ้น (Sothornvit and Krochta, 2005)



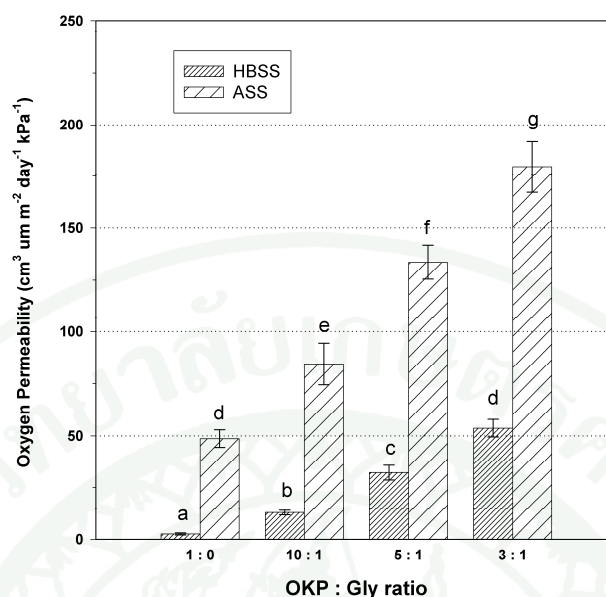
ภาพที่ 13 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแห่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.3.3 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (Oxygen permeability)

ปริมาณกลีเซอรอล และชนิดของ OKP มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข5

การเพิ่มปริมาณกลีเซอรอลทำให้ฟิล์มจาก HBSS และ ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนสูงขึ้น ($p < 0.05$) ฟิล์มจาก ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนสูงกว่าฟิล์มจาก HBSS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ฟิล์มจาก OKP ทั้งสองชนิดที่เติมกลีเซอรอลมีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนสูงกว่าฟิล์มที่ไม่ได้เติมกลีเซอรอล ($p < 0.05$) (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของ OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณกลีเซอรอลระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การเพิ่มของปริมาณพลาสติกไซเซอร์ มีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนสูงขึ้นในฟิล์มบรีโกลได้ เนื่องจากการเพิ่มปริมาตรอิสระระหว่างสายพอลิเมอร์ในโครงสร้างของฟิล์มให้สูงขึ้น (Sothornvit and Krochta, 2005)

การที่ฟิล์มจาก HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่าฟิล์มจาก ASS อาจเนื่องมาจากโครงสร้างและองค์ประกอบที่แตกต่างกันของฟิล์ม ไม่ว่าจะเป็นปริมาณกรดกลีเซอริก ความยาวของโซ่ข้างของพอลิเมอร์ และขนาดของน้ำหนักรโมเลกุล จากที่กล่าวข้างต้น การที่ ASS มีจำนวนโซ่ข้างที่ยาวกว่า HBSS ส่งผลทำให้ฟิล์ม HBSS มีความแข็งแรงและสมบัติการเป็นตัวกั้นหรือตัวป้องกัน (barrier) ออกซิเจนที่ดีกว่า และอาจเกิดจากการที่โมเลกุลของ HBSS มีขนาดใหญ่ต่อเนื่องทำให้เกิดโครงข่าย (network) ที่ต่อเนื่องได้ดีกว่าโมเลกุลที่มีสายสั้นกว่าที่มักเป็นตัวเติม (filler) ของโครงสร้าง โดยผลของการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของ HBSS และ ASS ยืนยันด้วยภาพถ่ายจากโครงสร้างขนาดอนุภาคในหัวข้อ 3.7

2.3.4 การเปรียบเทียบสมบัติการดึงและความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนของฟิล์ม OKP และฟิล์มชนิดอื่น ๆ

โดยทั่วไปฟิล์มจากพอลิเอทิลีนและโพรพีนมีประสิทธิภาพในการเป็นตัวป้องกันก๊าซออกซิเจน กลิ่น และน้ำมันที่ดี เนื่องจากมีโครงสร้างพอลิเมอร์ที่แน่น แต่พอลิเอทิลีน-ไรด์เป็นไบโอพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ ดังนั้นจึงเป็นข้อจำกัดของฟิล์มในการเป็นตัวป้องกันความชื้นที่ไม่ดี ส่งผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ที่ค่อนข้างจำกัด (Sothornvit and Krochta, 2005; Yang *et al.*, 2010) แต่จากตารางที่ 3 พบว่าฟิล์ม OKP มีคุณสมบัติเป็นตัวป้องกันน้ำและก๊าซออกซิเจนที่ดี (good water and oxygen barriers) เมื่อเทียบกับฟิล์มจากพอลิเอทิลีนและโพรพีนชนิดต่าง ๆ และฟิล์มสังเคราะห์ ขณะที่สมบัติเชิงกลทางด้านความแข็งแรง (mechanical strength) และความยืดหยุ่นปานกลาง เมื่อเทียบกับฟิล์มจากโพรพีน และฟิล์มสังเคราะห์ ซึ่งจากข้อดีในด้านการเป็นตัวป้องกันน้ำและก๊าซออกซิเจนนี้ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลากหลาย ได้แก่ นำไปเคลือบอาหารประเภทผักผลไม้ ขนมหวาน อาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ ส่วนข้อด้อยด้านความแข็งแรงอาจเพิ่มความแข็งแรงของฟิล์มได้โดยนำไปผสมกับพอลิเมอร์อื่น ๆ เช่น โพรพีน

ตารางที่ 3 สมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ของฟิล์มจาก OKP ที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไฮเซอรเปรียบเทียบกับฟิล์มไบโอพอลิเมอร์ชนิดต่าง ๆ และฟิล์มสังเคราะห์

Films	Tensile properties			WVP	OP
	TS (MPa)	%E	EM (MPa)	(g mm m ⁻² day ⁻¹ kPa ⁻¹)	(cm ³ μm/m ⁻² day ⁻¹ kPa ⁻¹)
OKP:Gly (3:1-10:1) ^a	0.2-1.6	6-70	1.5-16.0	3.2-5.8	5.7-27.4
MC:Gly (1.52:1-5.88:1) ^b	20.83-37.5	50-100	-	9.07-10.08	101.03
HPM:Gly (1.52:1-5.88:1) ^b	8.33-12.5	100-125	-	7.00	201.46
Gellan:Gly (0.5:1) ^c	30	30	25	36	-
HCMS:Gly (3.3:1-10:1) ^d	9.7-15.3	2.6-7.7	-	103-190	-
MC:Gly (2.3:1) ^c	48.6	36.7	-	13.8	242
HPMC:Gly (1.5:1-1.67:1) ^c	3.9	112	57	-	326
WPI:Gly (3:1) ^a	8.4	35	278	2.56	5.44
Soy bean:Gly (0.25:1-0.67:1) ^f	1.55-2.08	250-275	-	-	-
Egg albumen:Gly (2:1-3.3:1) ^g	1.26-4.12	12.4-32.2	-	-	8.77-10.68
Zein:Gly (2.3:1) ^h	7.0	2.6	498	35.52	-
LDPE ⁱ	13	500	-	-	1870
HDPE ⁱ	26	300	-	-	427

หมายเหตุ TS=tensile strength; EM=elastic modulus; %E=%elongation; WVP=water vapor permeability; OP= oxygen permeability; OKP=Okra polysaccharide; Gly=glycerol; MC=methylcellulose; HPM=hydroxylpropylcellulose; HPMS=highly carboxymethylated starch; HPMC=hydroxylmethylcellulose; WPI=whey protein; LDPE=low-density polyethylene; HDPE=high density polyethylene

^a การศึกษานี้; ^b Park *et al.*(1993); ^c Yang and Paulson (2000); ^d Kim *et al.*(2002); ^e Brindle and Krochta (2008); ^f Cao and Chang (2002); ^g Gennadios *et al.* (1996); ^h Parris and Coffin (1997); ⁱ Salame (1986)

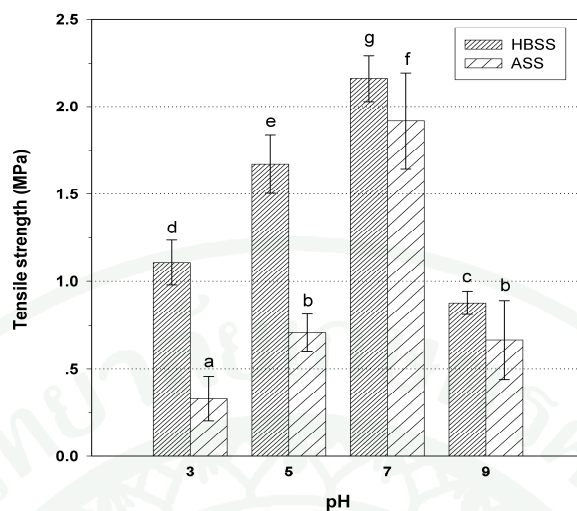
2.4 ผลของความเป็นกรด-เบส และชนิด OKP ต่อสมบัติของฟิล์มจาก OKP แต่ละชนิด

ศึกษาผลของความเป็นกรด-เบส (pH) ที่มีต่อ สมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่าน-ของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS โดยใช้อัตราส่วนของ OKP ต่อกลิเซอรอล เท่ากับ 10 ต่อ 1 ซึ่งเนื่องจากการทดลองข้อ 2.3 โดยเป็นอัตราส่วนที่ใช้ผลิตฟิล์มจาก OKP ได้เหมาะสมที่สุด ลอกออกจากถาดง่าย และง่ายต่อการวัดสมบัติของฟิล์มด้านต่าง ๆ จากการศึกษาพบว่า OKP มีสมบัติในการเกิดฟิล์มได้ในทุก pH ที่ทำการทดลอง (pH 3 5 7 และ 9)

2.4.1 สมบัติการดึง

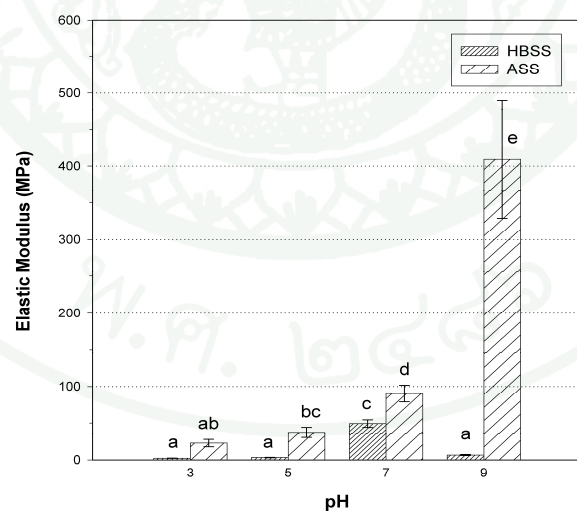
ความเป็นกรด-เบส และชนิดของ OKP มีผลต่อแรงต้านทานการดึงขาด มอดุลัสยืดหยุ่นและการยืดตัว ของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข6-ข8

จากการศึกษาสมบัติการดึงของฟิล์มจาก HBSS และ ASS โดยเตรียมสารละลายฟิล์มด้วยการละลายผงพอลิแล็กคาไรด์ในสารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 3, 5, 7 และ 9 พบว่าในภาวะที่เป็นกรด-กลาง (pH 3, 5 และ 7) แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสภาวะที่เป็นเบส (pH 9) โดยที่แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก HBSS และ ASS มีค่าสูงสุดที่ pH 7 (2.16 ± 0.13 และ 1.92 ± 0.27 MPa ตามลำดับ) (ภาพที่ 15) ความแข็งของฟิล์มชนิด ASS เพิ่มขึ้นเมื่อ pH สูงขึ้น ($p < 0.05$) ASS ที่ pH 9 มีความแข็งมากที่สุด (มอดุลัสยืดหยุ่นเท่ากับ 409 ± 80 MPa) (ภาพที่ 16) การยืดตัวของฟิล์มจาก HBSS ที่ pH 7 มีการยืดตัวสูงสุด ($66.70 \pm 8.60\%$) ขณะที่ ASS มีค่าการยืดตัวลดลงเมื่อ pH สูงขึ้นจาก pH 3 ถึง pH 9 (ภาพที่ 17)



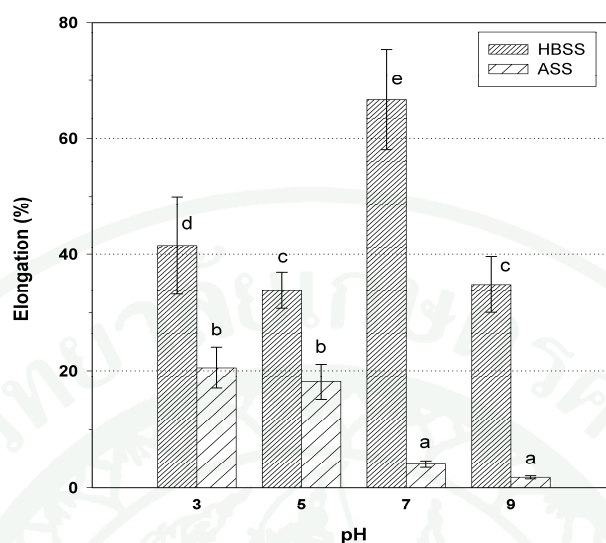
ภาพที่ 15 แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 16 โมดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 17 การยืดตัว (elongation) ของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ในขั้นตอนการเตรียมสารละลายฟิล์มนั้นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการขึ้นรูปฟิล์มขึ้นและสมบัติต่าง ๆ ของฟิล์ม คือการกระจายตัวในน้ำของสารละลายฟิล์ม การกระจายตัวที่ไม่ดีของพอลิเมอร์ส่งผลทำให้ได้ฟิล์มที่มีสมบัติไม่ดีด้วย (Gennadios *et al.*, 1993) ที่ pH 3 ซึ่งเป็น pH ที่ต่ำกว่าค่า pKa ของกรดกาแล็กทูโรนิก ซึ่งกรดกาแล็กทูโรนิก มีค่า pKa เท่ากับ 3.5 (Fraeye *et al.*, 2007) หมู่คาร์บอกซิลิกซึ่งเป็นโครงสร้างหลักในโครงสร้างของ OKP อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเป็นไอออน (COOH) มากกว่าอยู่ในรูปที่แตกตัว (COO⁻) ทำให้เกิดอันตรกิริยากับน้ำได้น้อย ส่งผลทำให้กระจายตัวในน้ำได้ไม่ดี นอกจากนี้สภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะที่มีความเป็นกรด ทำให้เกิดการสลาย (degradation) ของสายพอลิแซ็กคาไรด์เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (acid hydrolysis) เกิดการแตกออกของพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งเป็นพันธะที่เชื่อมระหว่างกรดกาแล็กทูโรนิก และระหว่างกรดกาแล็กทูโรนิกกับน้ำตาลแรมโนส ที่เป็นองค์ประกอบหลักของ OKP การแตกออกของพันธะดังกล่าวทำให้เกิดดีพอลิเมอร์ไรเซชัน (depolymerization) ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ ส่งผลทำให้มีแรงต้านทานการดึงขาดที่สภาวะ pH 3 ต่ำกว่าที่สภาวะ pH 5 และ 7 (ภาพที่ 15)

ในขณะที่ pH 5 และ 7 เป็น pH ซึ่งสูงกว่าค่า pKa ส่งผลทำให้หมู่คาร์บอกซิลิก ซึ่งอยู่ในรูปที่แตกตัวเป็นไอออน (COO^-) มากกว่าอยู่ในรูปไม่แตกตัว (COOH) ซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้ดี ทำให้เกิดการกระจายตัวในน้ำและส่วนผสมต่าง ๆ ในการเกิดฟิล์มได้ดีกว่าในรูปที่ไม่แตกตัวเป็นไอออน ทำให้ฟิล์มที่สภาวะดังกล่าวมีแรงต้านทานการดึงขาดสูงหรือมีความแข็งแรงกว่าในสภาวะ pH 3 อีกทั้งนอกจากการแตกตัวของกรดกาแล็กติกเป็นประจุไอออนสามารถกระจายตัวในน้ำได้ดีแล้ว ยังสามารถเกิดอันตรกิริยากับสารอื่น ๆ เช่น กลีเซอรอล ได้ดีทำให้ฟิล์มที่ได้มีความสม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกัน

ส่วนในภาวะที่เป็นเบส (pH 9) พบว่าฟิล์มทั้งสองชนิดมีแรงต้านทานการดึงขาด และการยืดตัวลดลงเมื่อเทียบกับ pH เป็นกลาง ทั้งนี้แม้ว่าในภาวะที่มีความเป็นเบสสูง หมู่คาร์บอกซิลของกรดกาแล็กติกของสายของ OKP แตกตัวเป็นประจุลบอย่างสมบูรณ์สามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้มาก (Ndjouenkeu *et al.*, 1996; Mesbahi *et al.*, 2005) และกระจายตัวในน้ำได้ดี แต่ในสภาวะดังกล่าวก็ยังสามารถทำให้สายพอลิแซ็กคาไรด์เกิดการแตกสลายด้วยปฏิกิริยา β -elimination (Sajjaanantakul, 1989) ดังนั้นจึงพบว่าในภาวะที่มีค่า pH 9 ฟิล์มมีแรงต้านทานการดึงขาด และการยืดตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับฟิล์มที่ pH 3 5 และ 7

มีงานวิจัยหลาย ๆ งานที่ระบุว่า pH มีผลต่อการละลายของพอลิเมอร์ และส่งผลต่อสมบัติของฟิล์ม โดย Kim *et al.* (2006) รายงานว่า pH และ ชนิดของไคโตซานมีผลต่อสมบัติของฟิล์ม โดยพบว่าที่ pH เข้าใกล้กับ pI ของไคโตซาน (6.2) ทำให้การละลายลดลง เกิดการตกตะกอน และขัดขวางการเกิด phase separation ของพอลิเมอร์ ทำให้แรงต้านทานการดึงขาดและการยืดตัวของฟิล์มลดลง Hamaguchi *et al.* (2007) พบว่า pH มีผลต่อฟิล์มจากโปรตีนกลูเท็นเนื้อปลา Blue marlin โดยที่สภาวะเป็นกรด (1-4) และสภาวะเป็นเบส (7-12) ความสามารถในการละลายของสารละลายฟิล์มสูง ทำให้สมบัติแรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มสูงขึ้น ในขณะที่สภาวะเป็นกลาง (5-6) สารละลายฟิล์มมีการละลายต่ำ ส่งผลต่อสมบัติของฟิล์มทำให้สมบัติการดึงมีค่าต่ำ Gennadios *et al.* (1993) พบว่าการกระจายตัวที่ไม่ดีของกลูเตนจากข้าวสาลี (wheat gluten) และ โปรตีนถั่วเหลือง (soy protein isolate) ในน้ำส่งผลต่อความสามารถในการเกิดฟิล์ม โดยที่ฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลือง ที่เตรียมที่ pH 6-11 มีแรงต้านทานการดึงขาด และการยืดตัวสูงกว่า ฟิล์มที่เตรียมที่ pH 1-3 ส่วนฟิล์มจากกลูเตนข้าวสาลีที่เตรียมที่สภาวะเบสมีแรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มสูงกว่าที่เตรียมที่สภาวะกรด

โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่างฟิล์มจาก HBSS และ ASS พบว่าฟิล์มจาก HBSS มีแรงต้านทานการดึงขาด และการยืดตัว สูงกว่าฟิล์มจาก OKP ชนิด ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ทุก pH ที่ศึกษา ขณะที่ ค่ามอดุลัสยืดหยุ่นซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความแข็งของฟิล์ม (stiffness) พบว่า ทุก pH ฟิล์มจาก HBSS มีค่าต่ำกว่า ฟิล์มจาก ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ยกเว้นที่ pH 7 ที่มีฟิล์มจาก HBSS มีค่าสูงกว่า แสดงให้เห็นว่าฟิล์มมีความแข็งแรง (ภาพที่ 15-17)

จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าในด้านสมบัติการดึง ที่ pH 7 เป็นสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมฟิล์มเนื่องจากมีค่าแรงต้านทานการดึงขาด และการยืดตัวสูงสุด ซึ่งบ่งบอกความแข็งแรงของฟิล์มและความยืดหยุ่นของฟิล์มตามลำดับ และฟิล์มจาก HBSS มีความแข็งแรงและความยืดหยุ่นสูงสุดที่ pH 7 ขณะที่ฟิล์มจาก ASS มีความแข็งแรงสูงสุดที่ pH 7 และความยืดหยุ่นสูงที่ pH 3

2.4.2 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ

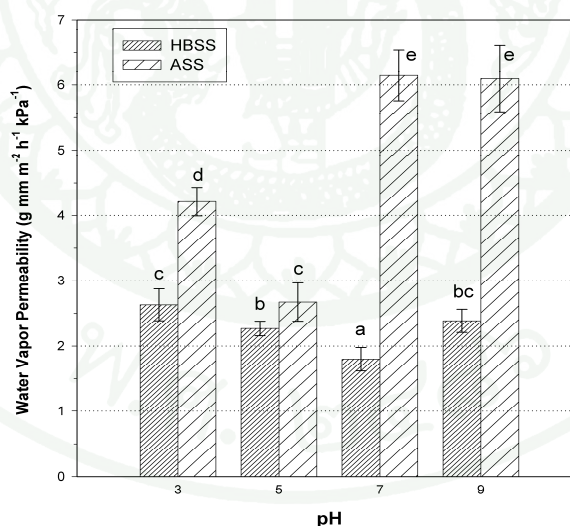
จากภาพที่ 18 พบว่า pH และชนิดของ OKP มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข9

ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์ม HBSS มีค่าต่ำกว่า (เป็นตัวป้องกันไอน้ำที่ดีกว่า) ฟิล์ม ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุก pH และฟิล์ม HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำสุดที่ pH 7 ขณะที่ฟิล์ม ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำสุดที่ pH 5

การที่ pH ของฟิล์มเปลี่ยนแปลงมีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ เนื่องจาก pH มีผลต่อการกระจายตัวในน้ำของพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งสองชนิดดังที่กล่าวไว้ในหน้า 67 ซึ่งการกระจายตัวดังกล่าวส่งผลต่อค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ โดยที่เมื่อมีการกระจายตัวได้ดีในน้ำ การขึ้นรูปฟิล์มมีความสม่ำเสมอ สำหรับฟิล์ม HBSS ที่ pH 7 มีการกระจายตัวในน้ำได้ดีกว่าใน pH 5 และ 3 ตามลำดับ ส่งผลต่อโครงสร้างและความแข็งแรงของฟิล์มเมื่อขึ้นรูป ดังนั้นทำให้มีค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำสุดเมื่อเทียบกับ pH 5

ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์ม ASS มีค่าสูงกว่า ฟิล์มจาก HBSS อาจเนื่องจาก ASS มีลักษณะที่ชอบน้ำ (hydrophilic nature) มากกว่า HBSS จึงส่งผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มที่สูงกว่า

ขณะทำงานวิจัยของ Kim *et al.* (2006) พบว่า การเปลี่ยนแปลงของ pH มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจากไคโตซาน ซึ่งเมื่อ pH สูงขึ้น การละลายของและการกระจายตัวในน้ำของไคโตซานลดลง ทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจากไคโตซานเพิ่มขึ้น ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยนี้ที่พบว่าเมื่อการละลายลดลงเนื่องจากการแตกตัวของประจุลดลง (pH 3) ทำให้ค่าการซึมผ่านของไอน้ำสูงขึ้น และพบว่าชนิดของไคโตซานก็มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ โดยที่ไคโตซานชนิด high deacetylation มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH มากกว่าชนิด low deacetylation ซึ่งทำให้ไคโตซานชนิด high deacetylation มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูงกว่าชนิด low deacetylation ซึ่งเกิดจากลักษณะความเป็นประจุบวกของไคโตซานที่มีมากกว่า ทำให้มีลักษณะชอบน้ำมากกว่า ส่งผลต่อทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำมีค่าสูงกว่า



ภาพที่ 18 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

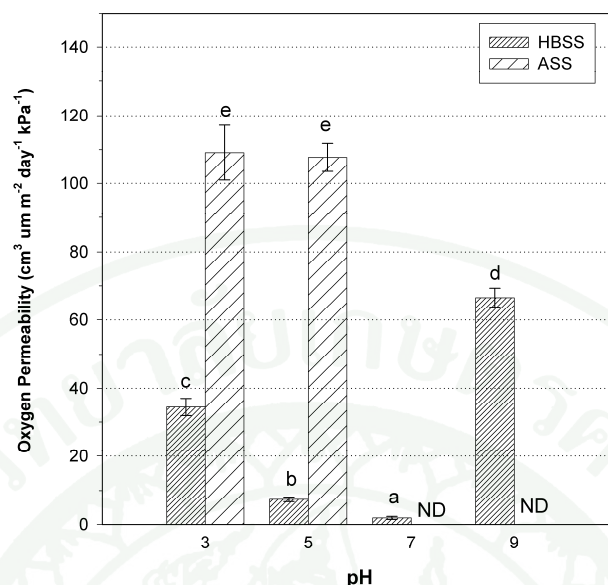
2.4.3 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน

จากภาพที่ 19 พบว่า pH และชนิดของ OKP มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข10

ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์ม HBSS มีค่าต่ำกว่า (เป็นตัวป้องกันก๊าซออกซิเจนที่ดีกว่า) ฟิล์มจาก ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุก pH และฟิล์ม HBSS ที่ pH 7 มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำที่สุด ขณะที่ฟิล์ม ASS มีค่าต่ำสุดที่ pH 5 และพบว่า ที่ pH 7 และ 9 ฟิล์มจาก ASS ไม่สามารถวัดค่าได้ เนื่องจากมีค่าการซึมผ่านของออกซิเจนสูงเกินกว่าช่วงที่เครื่องสามารถวัดได้ ซึ่งมีผลมาจากฟิล์มมีความแข็งและเปราะมาก เมื่อก๊าซออกซิเจนผ่านเข้าไปในช่วงทำการทดลองทำให้ฟิล์มมีรูขาดบางจุด ทำให้มีค่าการซึมผ่านสูงมากเกินไป

สมบัติการเป็นตัวป้องกันไอน้ำและก๊าซออกซิเจนที่แตกต่างกันของฟิล์มทั้งสองชนิด เกิดจากองค์ประกอบและโครงสร้างของพอลิเอทิลีนที่แตกต่างกัน แม้ว่า ASS ซึ่งมีหมู่คาร์บอกซิลมากกว่า HBSS และมี active ionic site ในโมเลกุลมากกว่า ทำให้ละลายน้ำและกระจายตัวได้ดีกว่าก็จริง แต่ฟิล์ม HBSS มีสมบัติการดึง การกั้นไอน้ำและออกซิเจนที่ดีกว่า อาจเนื่องจากโครงสร้างพอลิเอทิลีนและองค์ประกอบอื่น ๆ อาจมีผลต่อสมบัติของฟิล์มของฟิล์มที่ดีมากกว่า

จากการศึกษาพบว่าที่ pH 7.0 มีช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการทำฟิล์มจาก HBSS ซึ่งทำให้ได้ฟิล์มที่มีสมบัติการดึง สมบัติการเป็นตัวป้องกันไอน้ำและก๊าซออกซิเจนที่ดีที่สุด คือมีค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนต่ำเมื่อเทียบกับช่วง pH อื่น ๆ



ภาพที่ 19 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวชนิด HBSS และ ASS ที่ความเป็นกรด-เบสต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแห่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ND = ไม่สามารถวัดได้เนื่องจากมีค่าสูงเกินไป

2.5 ผลของปริมาณแคลเซียมไอออน และชนิด OKP ต่อสมบัติของฟิล์มจาก OKP แต่ละชนิด

ศึกษาผลของแคลเซียมไอออนที่มีต่อ สมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS โดยทำการเตรียมฟิล์มโดยใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครโมลาร์ หรือ 0.07%, 0.14%, 0.21% และ 0.28% ตามลำดับ และใช้อัตราส่วนของ OKP ต่อกลีเซอรอล เท่ากับ 10 ต่อ 1 เนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่ใช้ผลิตฟิล์มจาก OKP ได้เหมาะสมที่สุด และลอกออกจากถาดง่าย ๆ ต่อการวัดสมบัติของฟิล์มด้านต่าง ๆ (จากการทดลองข้อ 2.2)

การที่เลือกใช้ปริมาณของแคลเซียมคลอไรด์ที่ค่อนข้างต่ำในการเตรียมฟิล์ม เนื่องจากในผักกระเจียวมีปริมาณแคลเซียมอยู่แล้ว คือมีประมาณ 107.3 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมผักสด หรือ 0.11% ของน้ำหนักผักสด (Aladesanwa, 2005) อีกทั้งในการเตรียมสารละลายฟิล์มเป็นการผสมแคลเซียมคลอไรด์เข้าไปในเนื้อฟิล์ม โดยไม่ใช้วิธีการจุ่ม ดังนั้นการใช้แคลเซียมคลอไรด์ที่สูงเกินไปอาจส่งผลทำให้ฟิล์มมีลักษณะขบมน้ำมากขึ้น ซึ่งอาจส่งผลต่อสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำทำให้มีค่าสูง

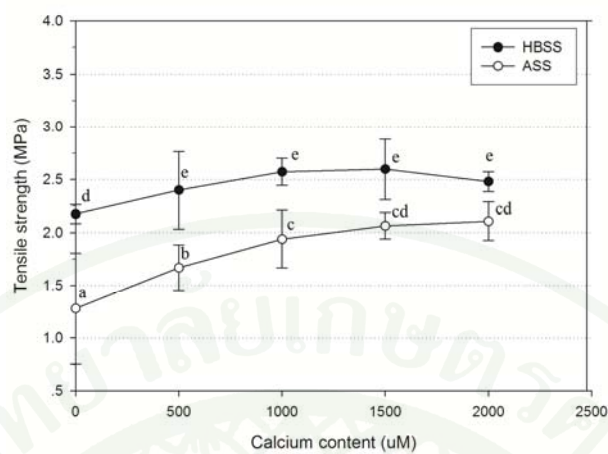
2.5.1 สมบัติการดึง

จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณของแคลเซียมไอออน และชนิดของ OKP มีผลต่อแรงต้านทานการดึงขาด การยืดตัว และมอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาพผนวกที่ ข11-ข13

การเติมแคลเซียมไอออนลงในฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งสองชนิด มีผลทำให้แรงต้านทานการดึงขาดและความแข็งแรงของฟิล์มเพิ่มขึ้น ขณะที่ การยืดตัวของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ฟิล์มจาก HBSS มีแรงต้านทานการดึงขาด และ การยืดตัว สูงกว่าฟิล์มจาก OKP ชนิด ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งเป็นสมบัติที่ดีของฟิล์ม ดังภาพที่ 20-22

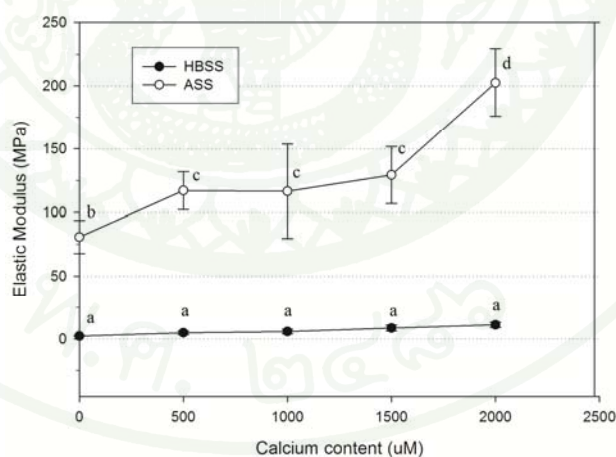
การเพิ่มขึ้นของปริมาณแคลเซียมไอออนที่ระดับ 500 ถึง 2,000 ไมโครโมลาร์ ไม่มีผลต่อแรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มชนิด HBSS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ขณะที่การเพิ่มขึ้นของปริมาณแคลเซียมไอออนที่ระดับ 1,000 ถึง 2,000 ไมโครโมลาร์ไม่มีผลต่อแรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มชนิด ASS ($p > 0.05$) และพบว่าฟิล์มจาก HBSS ที่ระดับแคลเซียมไอออน 1,500 ไมโครโมลาร์ให้ค่าแรงต้านทานการดึงขาดสูงที่สุด (2.60 ± 0.29 MPa) (ซึ่งมีความแข็งแรงมากที่สุด) ดังภาพที่ 20

การเปลี่ยนแปลงของค่ามอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มทั้งสองชนิดเมื่อปริมาณของแคลเซียมไอออนเพิ่มขึ้นแตกต่างกัน โดยที่เมื่อเติมแคลเซียมไอออนไม่เกิน 2,000 ไมโครโมลาร์ลงในฟิล์มจาก HBSS ไม่มีผลต่อค่ามอดุลัสยืดหยุ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะที่เมื่อปริมาณแคลเซียมไอออนเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่ามอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์ม ASS เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาพที่ 21



ภาพที่ 20 แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ

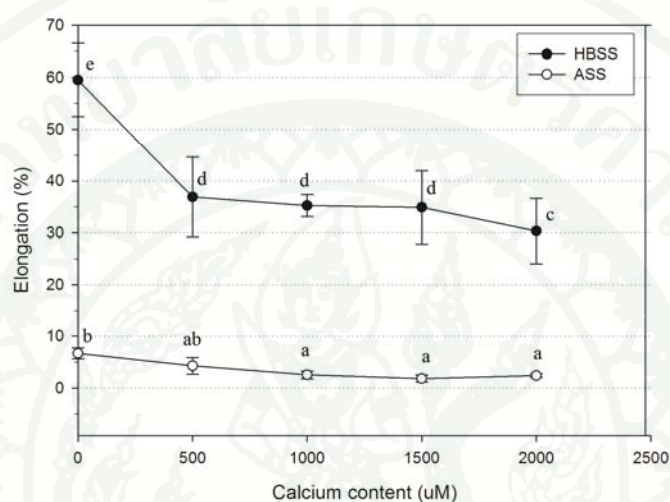
หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนเส้นกราฟหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 21 โมดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนเส้นกราฟหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การเพิ่มปริมาณแคลเซียมไอออนความเข้มข้น 500 ถึง 1,500 ไมโครโมลาร์ไม่มีผลต่อการยืดตัวของฟิล์ม HBSS ($p>0.05$) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเป็น 2,000 ไมโครโมลาร์ทำให้การยืดตัวของฟิล์มลดลง ($p<0.05$) ขณะที่การเพิ่มปริมาณแคลเซียมทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อการยืดตัวของฟิล์ม ASS ($p>0.05$) ดังภาพที่ 22



ภาพที่ 22 การยืดตัว (elongation) ของฟิล์มจาก OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนเส้นกราฟหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

OKP เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ (anionic polysaccharide) เนื่องจากโครงสร้างหลักประกอบด้วยกรดกลูโคนิก ซึ่งมีหมู่คาร์บอกซิลที่สามารถแตกตัวเป็นประจุลบได้เมื่อละลายน้ำ (Ndjouenkeu *et al.*, 1996) ในขณะที่แคลเซียมคลอไรด์เป็นเกลือที่มีไอออนบวกสอง (divalent) ดังนั้นประจุลบของ OKP สามารถรวมตัวกับแคลเซียมไอออน เพื่อเพิ่มอันตรกิริยาระหว่างสายพอลิเมอร์ส่งผลต่อความแข็งแรง ความแข็งสูงขึ้น ขณะที่ความยืดหยุ่นของฟิล์มลดลง ดังนั้นค่า TS และ EM จึงสูงขึ้นและ %E ลดลง

จากภาพที่ 20-22 พบว่าเมื่อถึงความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนระดับหนึ่ง (1,500 ไมโครโมลาร์) ค่าความแข็งแรง (TS) และความยืดหยุ่น (%E) มีแนวโน้มที่มีค่าลดลง

สามารถอธิบายได้ว่า ที่ระดับต่ำกว่าหรือเท่ากับ 1,500 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเรียกว่า ระดับวิกฤติของแคลเซียมไอออน (critical level of Ca^{2+}) (Tang *et al.*, 1994) ประจุลบที่อยู่บนพอลิเมอร์สามารถรวมตัวกับแคลเซียมไอออน เพื่อเพิ่มอันตรกิริยาระหว่างสายพอลิเมอร์และส่งผลทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงสูงขึ้น (TS สูงขึ้น) แต่เมื่อปริมาณของแคลเซียมไอออนเพิ่มขึ้นถึงจุดหนึ่ง แคลเซียมไอออนที่มากเกินไปไปแข่งจับกับประจุลบ ทำให้เกิดแรงผลักรันทำให้ไปรบกวนการเกิดการเชื่อมข้ามของพอลิเมอร์ (Tang *et al.*, 1994, 1995, 1996) ส่งผลทำให้ความแข็งแรงของฟิล์มลดลง

แคลเซียมคลอไรด์เป็นเกลือที่มีไอออนบวกสอง (divalent) ซึ่งใช้ผสมเข้าไปในสูตรของสารเคลือบเพื่อปรับปรุงการยึดติดกัน (cohesion) ของไบโอพอลิเมอร์ ดังนั้นแคลเซียมไอออนทำหน้าที่เป็นสารให้ความแข็งแรงที่สามารถเกิดอันตรกิริยาของอิเล็กตรอน (electrostatic interaction) กับหมู่คาร์บอกซิลทั้งสอง ดังนั้นการเพิ่มแคลเซียมไอออนเข้าไปก็เหมือนเป็นการปรับปรุงการยึดติดกัน ภายในเนื้อฟิล์ม (Bosquez-Molina *et al.*, 2010)

Kang *et al.* (2005) พบว่าฟิล์มจากเพกตินที่จุ่มแคลเซียมคลอไรด์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียม (5% และ 10%) เป็นการปรับปรุงสมบัติการดึง และสมบัติการเป็นตัวป้องกันน้ำของฟิล์ม โดยทำให้แรงต้านทานการดึงขาดเพิ่มขึ้น ขณะที่ การยืดตัวและความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำลดลง ซึ่งอาจเกิดการฟอร์มตัวเป็นแคลเซียมเพกเตท โดยเกิดการเชื่อมข้ามของโมเลกุลเพกตินและแคลเซียมไอออน ส่งผลต่อการปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม

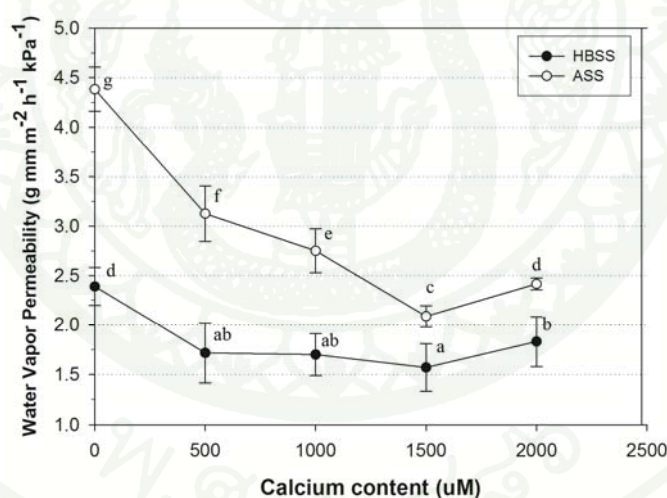
2.5.2 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ

จากภาพที่ 23 พบว่า ปริมาณแคลเซียมไอออน และชนิดของ OKP มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข14

การเติมแคลเซียมไอออน มีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มทั้งสองชนิดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยฟิล์มทั้งสองชนิดที่เติมแคลเซียมคลอไรด์มีความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่ได้เติมแคลเซียมคลอไรด์ถึง 1.7 เท่า (เทียบกับค่าเฉลี่ยของฟิล์มที่เติมแคลเซียมคลอไรด์ทั้ง 4 ระดับ) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของฟิล์ม

ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก HBSS มีค่าต่ำกว่าฟิล์มจาก ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุกที่รติเมนต์

การเพิ่มขึ้นของปริมาณแคลเซียมไอออนที่ระดับ 500 ถึง 2,000 ไมโครโมลาร์ ไม่มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์ม HBSS ($p > 0.05$) ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของปริมาณแคลเซียมไอออนมีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์ม ASS ลดลง ($p < 0.05$) โดยที่การเติมแคลเซียมไอออนที่ระดับ 1,500 ไมโครโมลาร์ในฟิล์ม HBSS และ ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำที่สุด (1.57 ± 0.24 และ $2.09 \pm 0.11 \text{ g mm m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ ตามลำดับ) ดังภาพที่ 23 ฟิล์ม HBSS ซึ่งมีองค์ประกอบของ หมู่เอซิติลสูงกว่า ASS (Sengkhampan *et al.*, 2009b) ทำให้ ASS มีหมู่ OH- สูงกว่าเกิดลักษณะที่ชอบน้ำมากกว่า มีผลทำให้ HBSS มีสมบัติการเป็นตัวป้องกันความชื้นที่ดีกว่า โดยที่ฟิล์มจาก HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มจาก ASS ประมาณ 1.6 เท่า



ภาพที่ 23 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนเส้นกราฟหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลด้านความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kang *et al.* (2005) ฟิล์มจากเพกตินเมื่อจุ่มในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ %5 ขณะทำงานวิจัยของ Avena-Bustillos and Krochta (1993) ศึกษาฟิล์มจากแคลซินเตเกิดการเชื่อมข้ามกับแคลเซียมไอออน ส่งผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของฟิล์มลดลงทำให้ช่วยปรับปรุงสมบัติการเป็นตัวป้องกันความชื้น ทั้งนี้เกิดจากการส่งเสริมการเพิ่มขึ้นของอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์และพอลิเมอร์ (polymer-polymer interaction) (Avena-Bustillos and Krochta, 1993) ซึ่งเป็นไปทางเดียวกับงานวิจัยของ Park *et al.* (2001) ที่พบว่าฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองที่เกิดการเชื่อมข้ามกับแคลเซียมไอออนสามารถปรับปรุงสมบัติการเป็นตัวป้องกันความชื้นได้

อิทธิพลของแคลเซียมไอออนต่อสมบัติของฟิล์ม OKP สามารถอธิบายได้ว่าเกิดจากการเชื่อมข้ามของแคลเซียมไอออนภายในฟิล์ม โดยที่แคลเซียมในช่วง 500-1,500 ไมโครโมลาร์ มีแรงเชื่อมกับหมู่คาร์บอกซิล ($-\text{COO}^-$) ที่แข็งแรงมากกว่ากับน้ำและ โมเลกุลกลีเซอรอลในฟิล์มจากเจลาติน (Yang *et al.*, 2010)

การปรับปรุงสมบัติการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจากการเติมแคลเซียมคลอไรด์ เกิดจากการที่แคลเซียมไอออนสามารถเข้าไปปรับปรุงโครงสร้างของฟิล์มโดยเกิดการเชื่อมข้ามของพอลิเมอร์และแคลเซียมไอออน ทำให้ลดพื้นที่ภายในโซ่พอลิเมอร์ ทำให้สายพอลิเมอร์รวมกันแน่นขึ้น (Avena-Bustillos and Krochta, 1993; Yang and Paulson, 2000; Park *et al.*, 2001)

Bosquez-Molina *et al.* (2010) พบว่า เมื่อปริมาณของแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นจาก 0.1 ถึง 0.3% ในสารเคลือบที่ทำจากพอลิแซ็กคาไรด์จาก mesquite gum (anionic polysaccharide) ส่งผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำลดลง เนื่องจากโครงสร้างภายในสารเคลือบที่แน่นขึ้นจากการเกิด bridging จากอันตรกิริยาระหว่างแคลเซียมและประจุลบของหมู่คาร์บอกซิลในโมเลกุลของ mesquite แต่เมื่อเพิ่มปริมาณแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นเป็น 0.4 และ 0.5% ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของสารเคลือบมีค่าสูงขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากปริมาณของแคลเซียมไอออนที่มากเกินไป ซึ่งไปลดประสิทธิภาพของการเกิดอันตรกิริยาเป็นผลทำให้เครือข่ายของพอลิแซ็กคาไรด์อ่อนแอลงทำให้เกิดช่องว่างขนาดใหญ่ขึ้น การซึมผ่านของน้ำจึงสูงขึ้น

นอกจากนี้ Olivas and Barbosa-Canovas (2008) ยังพบว่าการจุ่มฟิล์มอัลจินดลงในแคลเซียมคลอไรด์ที่เข้มข้น 10%w/w ทำให้ฟิล์มมีสมบัติการป้องกันความชื้นดีขึ้น คือมีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มลดลง

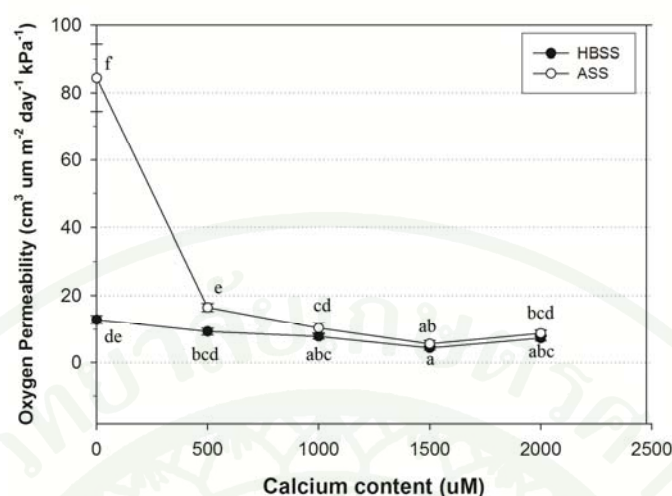
พบว่าในฟิล์ม ASS แคลเซียมไอออนมีผลค่าการซึมผ่านของไอน้ำที่ชัดเจนกว่าฟิล์มจาก HBSS คือช่วยปรับปรุงสมบัติการเป็นตัวป้องกันไอน้ำและมากขึ้นเมื่อใช้แคลเซียมไอออน ดังนั้นควรใช้แคลเซียมไอออนในการเตรียมฟิล์มจาก ASS

2.5.3 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน

จากภาพที่ 24 พบว่า ปริมาณแคลเซียมไอออน และชนิดของ OKP มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข15

การเติมแคลเซียมไอออน มีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์ม HBSS และ ASS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับไม่เติม สำหรับฟิล์ม HBSS พบว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณแคลเซียมไอออนที่ระดับ 500 ถึง 2,000 ไมโครโมลาร์ไม่มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ($p > 0.05$) ในขณะที่ฟิล์มจาก ASS พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณแคลเซียมไอออนมีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนลดลง ($p < 0.05$) และพบว่าการเติมแคลเซียมไอออนที่ระดับ 1,500 ไมโครโมลาร์ในฟิล์ม HBSS และ ASS ให้ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำที่สุด (4.33 ± 0.56 และ $5.56 \pm 1.00 \text{ cm}^3 \mu\text{m} \text{ m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ ตามลำดับ) ดังภาพที่ 24

องค์ประกอบที่แตกต่างกันของ OKP ส่งผลทำให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มแตกต่างกัน ฟิล์มชนิด HBSS ซึ่งมีองค์ประกอบของ หมู่เอชิติลสูงกว่าทำให้มีสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มากกว่า (Sengkhampan et al., 2009b) มีผลทำให้มีสมบัติการเป็นตัวป้องกันก๊าซออกซิเจนที่ดีกว่า โดยที่ฟิล์มจาก HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่าฟิล์มจาก ASS ประมาณ 3 เท่า



ภาพที่ 24 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์ม OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ปริมาณแคลเซียมไอออนระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนเส้นกราฟหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการศึกษาพบว่าที่ใช้ปริมาณแคลเซียมไอออนที่ระดับความเข้มข้น 1,500 ไมโครโมลาร์ เป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับการทำฟิล์มจากพอลิแล็กทอไรด์ทั้งสองชนิดซึ่งทำให้ได้ฟิล์มที่มีสมบัติการคั่งโดยรวม สมบัติการเป็นตัวป้องกันไอน้ำและก๊าซออกซิเจนที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับที่ระดับอื่น ๆ และเมื่อเทียบระหว่าง OKP ทั้งสองชนิด HBSS ให้ฟิล์มที่มีสมบัติของฟิล์มที่ดีกว่าในทุกะดับความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน

3. ผลของชนิดของ OKP ต่อสมบัติของฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP (Whey protein isolate-OKP blend edible film; WPI-OKP)

ศึกษาผลของปริมาณและชนิดของ OKP ที่มีต่อสมบัติการคั่ง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน สมบัติการมองเห็น ลักษณะโครงสร้างขนาดอนุภาค และ ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature; T_g) ของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS โดยศึกษาที่ระดับ 0:1, 3:1, 1:1, 1:3 และ 0:1 โดยใช้จำนวนของแข็งทั้งหมดเป็น 1.79% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และอัตราส่วนของน้ำหนักรวมของโปรตีน

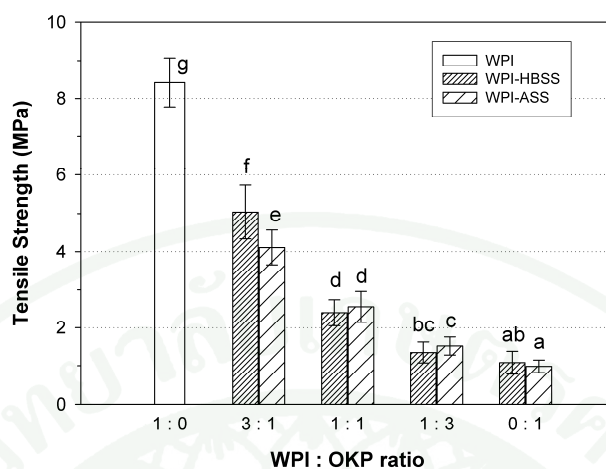
เวย์กับ OKP ต่อกลีเซอรอล เท่ากับ 3 ต่อ 1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่ใช้ผลิตฟิล์มผสมได้เหมาะสมที่สุด และลอกออกจากถาดง่าย ๆ ง่ายต่อการวัดสมบัติของฟิล์มด้านต่าง ๆ (จากผลการทดลองที่ 2.3)

3.1 สมบัติการดึง

3.1.1 ผลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อสมบัติการดึง

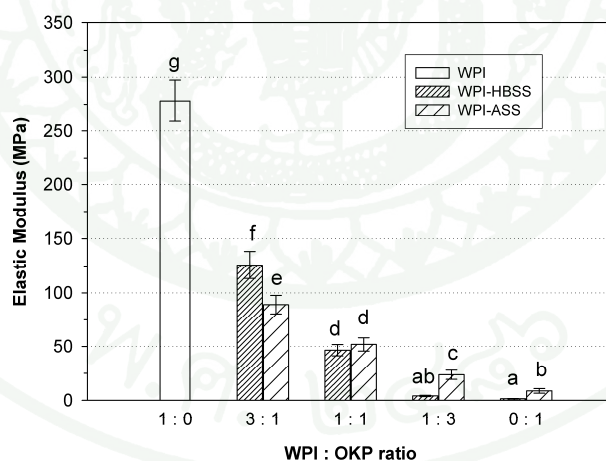
ฟิล์มผสม WPI-OKP ซึ่งใช้อัตราส่วนระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP ที่ระดับต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่า การเติม OKP มีผลต่อ แรงต้านทานการดึงขาด มอดุลัสยืดหยุ่นและการยืดตัวของฟิล์มผสม WPI-OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) ขณะที่ชนิดของ OKP มีผลต่อการยืดตัวของฟิล์มผสม แต่ไม่มีผลต่อแรงต้านทานการดึงขาด และมอดุลัสยืดหยุ่น ($p < 0.05$) ดังภาพผนวกที่ ข16-ข18

โดยพบว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์อย่างเดียวมีแรงต้านทานการดึงขาด และ มอดุลัสยืดหยุ่นสูงสุด (8.4 ± 0.6 และ 278.1 ± 19.2 MPa) ขณะที่ฟิล์มจาก HBSS และ ASS อย่างเดียวยังมีแรงต้านทานการดึงขาด และมอดุลัสยืดหยุ่นต่ำสุด คือเท่ากับ (1.1 ± 0.3 และ 1.5 ± 0.3 MPa) และ (1.0 ± 0.2 และ 8.7 ± 2.2 MPa) ตามลำดับ (ภาพที่ 25 และ 26) เมื่อปริมาณของทั้ง HBSS และ ASS เพิ่มขึ้นทำให้ค่า แรงต้านทานการดึงขาด และมอดุลัสยืดหยุ่นลดลง แสดงให้เห็นว่า OKP ไปลดความแข็งแรง (strength) และความแข็ง (stiffness) ของโปรตีนเวย์จึงทำให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น และการเพิ่มของ OKP เพิ่มการยืดตัวของฟิล์มโปรตีนเวย์ ซึ่งทำให้ฟิล์มมีความสามารถในการยืดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 27)



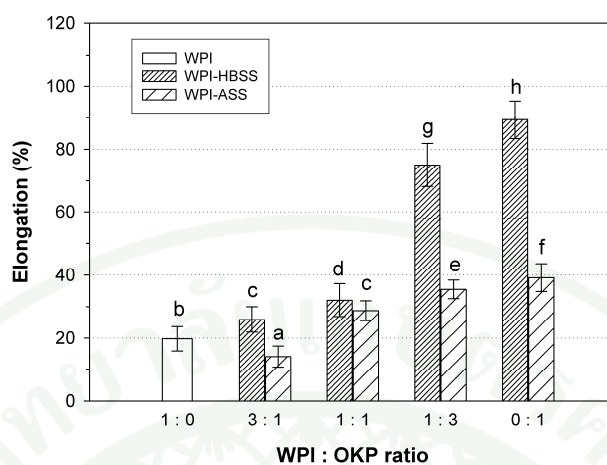
ภาพที่ 25 แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่ อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 26 โมดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 27 การยืดตัวของ (elongation) ฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของ โปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากผลการทดลองด้านสมบัติการดึง พบว่า สอดคล้องกับงานวิจัยต่าง ๆ ที่ รายงานไว้ ได้แก่ ฟิล์มผสมของโปรตีนเวย์และ mesquite gum (Oses *et al.*, 2008) ฟิล์มผสมจาก โปรตีนเวย์และเพกติน (Coughlan *et al.*, 2004) และฟิล์มผสมจากโปรตีนเวย์และแป้งบุก (Coughlan *et al.*, 2004) ความแข็งแรงและความสมบูรณ์ของฟิล์มจากโปรตีนเวย์เกิดจากภายใน โมเลกุลพันธะไดซัลไฟด์และไฮโดรเจนเกิดการเชื่อมข้ามระหว่างสายโปรตีน รวมทั้งเกิดจาก hydrophobic interaction (McHugh *et al.*, 1994) การเติม OKP ทำให้ความแข็งแรงและความแข็ง ของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ลดลง ในขณะที่ ความสามารถในการยืดตัวของฟิล์มที่เพิ่มขึ้นอย่างมี นัยสำคัญทางสถิตินั้น อาจเกิดจาก OKP ไปลดอันตรกิริยาภายในโมเลกุลระหว่างสายโปรตีนใน ฟิล์ม (Coughlan *et al.*, 2004) ซึ่งตรงข้ามกับผล ของ Brindle and Krochta (2008) ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่ม ปริมาณ hydroxylpropyl methylcellulose (HPMC) ในฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ HPMC ทำให้แรงต้านทานการดึงขาด และมอดุลัสยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น ขณะที่การยืดของฟิล์มลดลงโดยที่อาจ เกิดจาก HPMC มีพันธะ ไฮโดรเจนที่เหมาะสมกว่าเมื่อเทียบกับ OKP

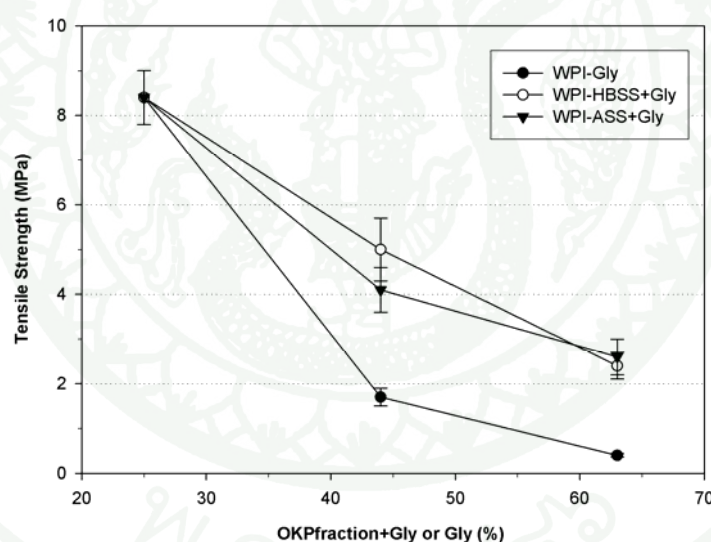
ชนิดของ OKP (HBSS และ ASS) มีผลต่อมอดูลัสยืดหยุ่นและการยึดตัวของฟิล์มผสมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 26 และ 27) โดยที่ฟิล์ม WPI-HBSS มีมอดูลัสยืดหยุ่นต่ำกว่าฟิล์ม WPI-ASS ขณะที่การยึดตัวสูงกว่าซึ่งเป็นสมบัติที่ดีของฟิล์ม ซึ่งเกิดจากผลของความแตกต่างขององค์ประกอบของชนิด OKP ซึ่งมีผลต่อสมบัติทางกลของฟิล์มผสม Sengkhamparn *et al.* (2009a, 2009b) พบว่า OKP ชนิด HBSS เป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุคล้ายกัน (homogeneously charged polymer) ด้วยโครงสร้างปกติของ RG I และ โครงสร้างที่ไม่ปกติ (unusually) ที่มีระดับของหมู่เอซีทิลสูงมาก เมื่อเทียบกับ ASS อีกทั้ง Sengkhamparn *et al.* (2010) ยังระบุว่า การรวมกันของส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic association) ที่บริเวณแรมโนซิลที่มีหมู่เอซีทิลเกาะอยู่ (acetylated rhamnosyl residues) ใน HBSS ส่งผลทำให้มีความหนืดสูง และการที่ความหนืดของ HBSS สูง อาจส่งผลทำให้ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มีส่วนผสมของ HBSS มีการยึดตัวสูงกว่าฟิล์มที่มีส่วนผสมของ ASS ซึ่งมีหมู่เอซีทิลน้อยกว่า ทั้งนี้หมู่เอซีทิลหลุดออกไปจากโครงสร้างในขั้นตอนการสกัดโดยใช้เบส (Sengkhamparn *et al.*, 2009a) ภาพจำลองของโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ในผนังเซลล์พืชแสดงดังภาพที่ 2

3.1.2 การเปรียบเทียบสมบัติการดึงของฟิล์มผสม WPI-OKP กับฟิล์มจากโปรตีนเวย์

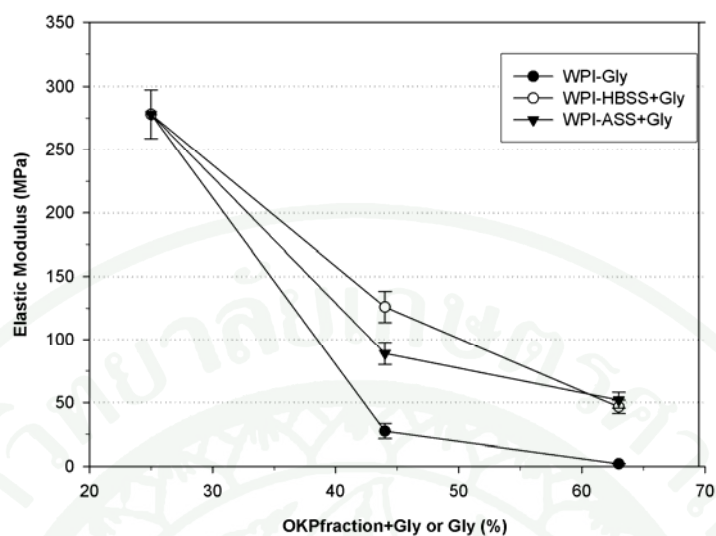
เนื่องจากการเพิ่มปริมาณของ OKP ทำให้มอดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มผสมลดลง ขณะที่การยึดตัวเพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงทำการเปรียบเทียบสมบัติการดึงของฟิล์มผสม WPI-OKP กับฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ ที่มีอัตราส่วนของโปรตีนเวย์และกลีเซอรอลที่ระดับต่าง ๆ

จากภาพที่ 28-30 แสดงผลของสมบัติการดึงของฟิล์มผสมโปรตีนเวย์ที่มีการใช้ OKP ร่วมกับกลีเซอรอล เปรียบเทียบกับฟิล์มโปรตีนเวย์ที่ใช้กลีเซอรอลเพียงอย่างเดียวในปริมาณเท่ากัน พบว่าฟิล์มผสมโปรตีนเวย์ที่มีการใช้ OKP ร่วมกับกลีเซอรอลมีแรงต้านทานการดึงขาด และการยึดตัวสูงกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ใช้กลีเซอรอลอย่างเดียว ขณะที่การยึดตัวต่ำกว่า ผลการทดลองคล้ายกับผลของ Brindle and Krochta (2008) ที่พบว่าฟิล์ม HPMC มีแรงต้านทานการดึงสูงกว่า ขณะที่การยึดตัวต่ำกว่า เมื่อเทียบกับฟิล์มจากโปรตีนเวย์

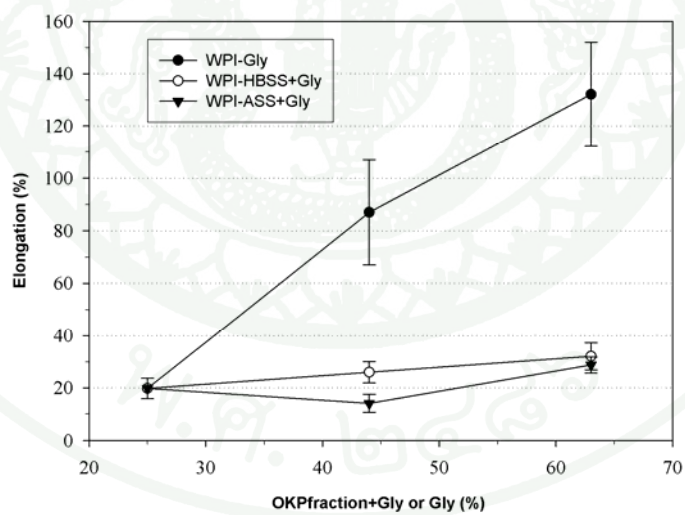
โดยปกติกลีเซอรอลทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ที่ดี โดยปรับปรุงความสามารถในการยืดหยุ่นและการยึดได้ในฟิล์มบริโกลได้ (Sothornvit and Krochta, 2005; Krochta *et al.*, 1994) แต่อย่างไรก็ตาม ตามปกติการใช้กลีเซอรอลที่ปริมาณสูงในฟิล์มที่บริโกลได้ทำให้แรงต้านทานการดึงลดลง ขณะที่ความสามารถในการซึมผ่านของฟิล์มเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นสมบัติที่อาจไม่เหมาะสมเมื่อนำไปใช้กับอาหาร ดังนั้นการรวม OKP เข้าไปในกลีเซอรอลนอกจากสามารถปรับปรุงสมบัติการดึงของฟิล์มให้ดีขึ้นแล้ว ยังมีผลต่อการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนของฟิล์มทำให้มีการซึมผ่านน้อยลงซึ่งแสดงผลในเนื้อหาถัดไป ซึ่งจากผลดังกล่าวสามารถแสดงให้เห็นว่า OKP มีสมบัติเป็นพลาสติกไซเซอร์สามารถใช้แทนกลีเซอรอลในฟิล์มบริโกลได้ แต่ขณะ เดียวกันก็ยังมีผลดีในด้านการเพิ่มความแข็งแรงเชิงกล (mechanical strength) เพราะเป็นพอลิเมอร์เมื่อกับกลีเซอรอลซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็ก โดย OKP ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ที่ดีโดยไม่ทำให้ความแข็งแรงของฟิล์มลดลง



ภาพที่ 28 แรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มผสม WPI-OKP และฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ปริมาณ HBSS+Gly, ASS+Gly และ Gly เท่ากัน



ภาพที่ 29 มอดุลัสยืดหยุ่นของฟิล์มผสม WPI-OKP และฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ปริมาณ HBSS+Gly, ASS+Gly และ Gly เท่ากัน



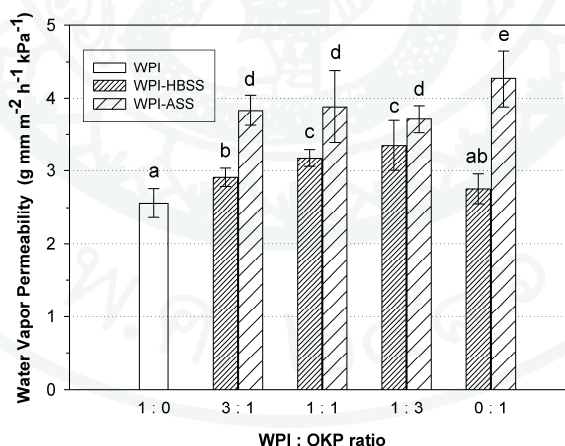
ภาพที่ 30 การยืดตัวของฟิล์มผสม WPI-OKP และฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ปริมาณ HBSS+Gly, ASS+Gly และ Gly เท่ากัน

3.2 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ

3.2.1 ผลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ

ตามที่ McHugh *et al.* (1993) ได้รายงานไว้ว่า ความหนาของฟิล์มชนิดที่ชอบน้ำ (hydrophilic films) มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ เนื่องจากความหนาของฟิล์มมีผลต่อแรงดัน (partial pressure) ที่อยู่ด้านล่างฟิล์ม ซึ่งเกิดจากปริมาณความชื้น ดังนั้นการศึกษานี้จึงควบคุมความหนาของฟิล์มให้เท่ากัน โดยความหนาของฟิล์มอยู่ในช่วง 0.07-0.10 มิลลิเมตร เพื่อให้มีผลเนื่องจากความหนาให้น้อยที่สุด

ปริมาณและชนิดของ OKP มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มผสม WPI-OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข19 และจากภาพที่ 31 พบว่า ฟิล์มโปรตีนเวย์ที่ใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำที่สุด ($2.6 \pm 0.2 \text{ g mm m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$) ขณะที่ฟิล์มจาก ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูงที่สุดที่สุด ($4.3 \pm 0.4 \text{ g mm m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$)



ภาพที่ 31 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การเติม OKP ทั้งสองชนิด (HBSS หรือ ASS) เข้าไปในฟิล์มจากโปรตีนเวย์ มีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ไม่ได้เติม OKP ฟิล์มผสม WPI- HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มผสม WPI-ASS ประมาณ 10-30% ซึ่งการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำจากการเติม OKP เนื่องจากค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายฟิล์มมีค่าประมาณ 6.0 ซึ่งสูงกว่าค่า pK_a ของหมู่คาร์บอกซิลของกรดกลูตาเมต ส่งผลทำให้ OKP มีประจุลบ จากผลการทดลองสันนิษฐานได้ว่าการเพิ่มขึ้นของค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำในฟิล์มผสมนี้ เกิดจากผลของหมู่ไฮดรอกซิลในหน่วยของน้ำตาลและหมู่คาร์บอกซิลที่เป็นประจุลบใน OKP ส่งผลทำให้ฟิล์มผสมมีสมบัติชอบน้ำมากขึ้นเมื่อเทียบกับฟิล์มโปรตีนเวย์ สอดคล้องกับการศึกษาฟิล์มผสมต่าง ๆ งานวิจัยที่ผ่านมา ได้แก่ ฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์ชนิด โปรตีนเวย์เข้มข้นและแอลจินेट โปรตีนเวย์เข้มข้นและเพกติน โปรตีนเวย์เข้มข้นและคาร์ราจีแนน โปรตีนเวย์เข้มข้นและแป้งบุก และ โปรตีนเวย์ไอโซเลตและเคซีนและสตาร์สมันฝรั่งที่ละลายได้ (Coughlan *et al.*, 2004; Ciesla *et al.*, 2006) ที่เมื่อเติมพอลิแซ็กคาไรด์เข้าไปในโปรตีนเวย์มีผลทำให้การซึมผ่านของไอน้ำเพิ่มขึ้น

จากภาพที่ 31 แสดงให้เห็นว่าฟิล์มจาก WPI-HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มจาก WPI-ASS คือมีสมบัติในการป้องกันความชื้นที่ดีกว่า ซึ่งอาจเกิดจาก ASS มีสมบัติชอบน้ำมากกว่า HBSS เนื่องจากการสกัด ASS ใช้เบสในการสกัดซึ่งเป็นการสaponify (saponify) ซึ่งทำให้หมู่เอซิดิกและหมู่เมทอกซิลหลุดออกไปจากโครงสร้างของ OKP ส่งผลทำให้ ASS มีกรดกลูตาเมตที่มีประจุลบสูงกว่า เมื่อเทียบกับ HBSS ที่ใช้บัฟเฟอร์ในการสกัด

ฟิล์มจาก WPI-HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูงกว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ หรือ ฟิล์มจาก HBSS อาจบ่งชี้ว่า WPI-HBSS มีความเป็นขั้วที่ชอบน้ำมากกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ หรือ HBSS เดี่ยว ๆ ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าทั้งโปรตีนเวย์และ HBSS มีการรวมกันของอันตรกิริยาแบบไม่ชอบน้ำ (associating mainly through hydrophobic interactions) ดังนั้นลักษณะการไม่ชอบน้ำของฟิล์ม WPI-HBSS จึงลดลง เมื่อเทียบกับฟิล์มจากโปรตีนเวย์ หรือ ฟิล์มจาก HBSS

3.2.2 การเปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มผสม WPI-OKP กับฟิล์มจากโปรตีนเวย์

ผลของความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของ ฟิล์มผสม WPI-OKP ที่อัตราส่วนต่าง ๆ เปรียบเทียบกับฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์และกลีเซอรอลที่ระดับต่าง ๆ แสดงผลเปรียบเทียบในตารางที่ 4 พบว่า ที่ปริมาณของ OKP fraction+Gly และกลีเซอรอลเท่ากัน ฟิล์มผสม WPI-OKP ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มผสมต่ำกว่า (ป้องกันความชื้นได้ดีกว่า) ฟิล์มจากโปรตีนเวย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การเปรียบเทียบผลของ OKP fraction+Gly กับ Gly ที่มีต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำเพื่อให้เห็นภาพชัด จึงเปรียบเทียบ ณ จุดที่ฟิล์มมีสมบัติการคั่งเท่ากัน ยกตัวอย่างเช่น ในข้อมูลจากภาพที่ 28 และ 29 โดยเทียบฟิล์มที่มี HBSS+Gly และ ASS+Gly เท่ากับ 62.5% มีค่าแรงต้านทานการคั่งขาด และมอดุลัสยืดหยุ่นสูงกว่าฟิล์มฟิล์มที่มีปริมาณ Gly เท่ากับ 44% เล็กน้อย (สูงกว่า 10-20%) โดยพบว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มี HBSS+Gly และ ASS+Gly เท่ากับ 62.5% มีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มี Gly เท่ากับ 44% (ต่ำกว่า 46% หรือ 1.9 เท่า และ 35% หรือ 1.5 เท่า 9 ตามลำดับ) (ตารางที่ 4) ดังนั้นการทำฟิล์มผสมโดยกำหนดให้แรงต้านทานการคั่งขาด (ความแข็งแรง) และมอดุลัสยืดหยุ่น (ความยืดหยุ่น) เท่ากันนั้นสามารถทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ต่ำลงโดยการเติม OKP+Gly แทนการเติมกลีเซอรอลเพียงอย่างเดียว ซึ่งการที่ฟิล์มมีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำเป็นสมบัติที่เป็นที่ต้องการของฟิล์มบริโภคได้หลาย ๆ ชนิดที่ใช้กับอาหาร

ตารางที่ 4 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (WVP) และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (OP) ของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ที่ประกอบด้วยกลีเซอรอล (Gly) อย่างเดียว หรือประกอบด้วย OKP รวมกับกลีเซอรอล โดยใช้อัตราส่วนของ WPI+OKP fraction ต่อกลีเซอรอล เท่ากับ 3 ต่อ 1

ผสมโปรตีนเวย์ ไอโซเลทด้วย	ปริมาณ (%)	WVP (g mm m ⁻² h ⁻¹ kPa ⁻¹)	OP (cm ³ μm m ⁻² day ⁻¹ kPa ⁻¹)
Gly	25	2.6±0.2 ^a	46.4±1.0 ^{b,c}
HBSS+Gly	44	2.9±0.1 ^{a,b}	20.4±1.4 ^a
ASS+Gly		3.8±0.2 ^d	75.2±7.1 ^d
Gly		6.0±0.6 ^f	209.1±2.8 ^g
HBSS+Gly	62.5	3.2±0.1 ^{b,c}	27.8±3.7 ^a
ASS+Gly		3.9±0.5 ^d	95.3±6.6 ^d
Gly		10.0±0.7 ^g	519.5±15.0 ^h
HBSS+Gly	81	3.4±0.4 ^c	38.9±2.4 ^b
ASS+Gly		3.7±0.2 ^d	139.5±14.0 ^e
Gly		--*	--*
HBSS+Gly	100	2.8±0.2 ^a	54.6±3.5 ^c
ASS+Gly		4.3±0.4 ^e	171.3±16.3 ^f
Gly		--*	--*

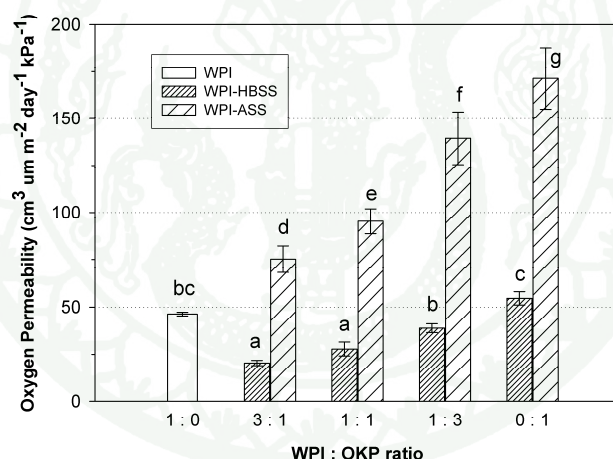
หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

* หมายถึง ไม่สามารถฟอร์มเป็นฟิล์มได้

3.3 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน

3.3.1 ผลของความเข้มข้นและชนิดของ OKP ต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน

ปริมาณและชนิดของ OKP มีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มผสม WPI-OKP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข20 และจากภาพที่ 32 พบว่า ฟิล์มจาก ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนสูงกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์และฟิล์มจาก HBSS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่ฟิล์มจากโปรตีนเวย์และฟิล์มจาก HBSS มีค่าเท่ากัน และฟิล์มผสม WPI-ASS มีค่าความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนอยู่กึ่งกลางระหว่างฟิล์มจากโปรตีนเวย์ และ ฟิล์มจาก ASS



ภาพที่ 32 ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ฟิล์มจาก WPI-HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่าฟิล์มจาก WPI-ASS ประมาณ 3.4-3.7 เท่า และเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งว่าฟิล์มจาก WPI-HBSS มี

ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่า (ป้องกันออกซิเจนดีกว่า) ทั้งฟิล์มจากโปรตีนเวย์ หรือฟิล์มจาก HBSS ฟิล์มจาก WPI-HBSS ที่อัตราส่วน 3:1 มีค่าต่ำที่สุด ($20.4 \pm 1.4 \text{ cm}^3 \mu\text{m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$) ซึ่งต่ำกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ หรือฟิล์มจาก HBSS ประมาณ 2.3 เท่า

ผลการทดลองของฟิล์มผสม WPI-HBSS เรื่องการซึมผ่านของออกซิเจนคล้ายกับผลของการซึมผ่านของไอน้ำ ที่พบว่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำสูงกว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ หรือฟิล์มจาก HBSS การที่ฟิล์มผสม WPI-HBSS มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ หรือฟิล์มจาก HBSS เกิดจากการที่ WPI-HBSS เกิดโครงสร้างที่ทำให้มีความเป็นขั้วที่ชอบน้ำมากกว่า ซึ่งในกรณีของออกซิเจนเป็นโมเลกุลที่ไม่มีขั้ว ฟิล์มที่มีความเป็นขั้วมีความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำ เนื่องจากการดูดซึมของออกซิเจนต่ำ (sorption) ต่ำ (หรือ การละลายต่ำ) ดังนั้นการเติม HBSS เข้าไปในฟิล์มจากโปรตีนเวย์ สามารถในการปรับปรุงคุณสมบัติการเป็นตัวป้องกันออกซิเจนของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ได้ โดยที่ทำให้การยืดหยุ่นและความสามารถในการดัดยัดเพิ่มขึ้นด้วย

ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gounge *et al.* (2007) ซึ่งพบว่าการเติม pullulan ปริมาณเพียงเล็กน้อยในการทำฟิล์มผสมระหว่าง WPI-pullulan มีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์มผสมต่ำกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ไม่ได้เติม แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ pullulan ค่าดังกล่าวมีค่าสูงขึ้น โดยที่ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์และ pullulan เท่ากับ 1 ต่อ 1 ความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์มผสม มีค่าสูงกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ และในงานวิจัยของ Brindle and Krochta (2008) พบว่าการเติม HPMC ในโปรตีนเวย์เพื่อทำฟิล์มผสมระหว่าง WPI-HPMC มีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มผสมเท่ากับ ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ แต่มีค่าต่ำกว่าฟิล์มจาก HPMC แต่ข้อดีก็คือฟิล์มผสมมีแรงต้านทานการดึงขาดสูงกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ซึ่งเกิดจากการเติม HPMC ดังนั้นเห็นได้ชัดว่า การเติมพอลิแซ็กคาไรด์ เพื่อทำฟิล์มผสมระหว่าง โปรตีนเวย์และพอลิแซ็กคาไรด์ มักมีผลดีต่อการปรับปรุงสมบัติของฟิล์ม ขึ้นกับชนิดและปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ที่เติม

Guilbert (1986) รายงานว่าความสามารถในการซึมผ่านของพอลิเมอร์ลดลงเมื่อมีการเชื่อมข้าม (cross-linking) ของโมเลกุลระหว่างการขึ้นรูปฟิล์ม ซึ่งเป็นการลดการแพร่ (diffusivity, D) เนื่องจากความสามารถในการซึมผ่านเกี่ยวข้องกับการละลาย (solubility, S) และการแพร่ของสารที่ซึมผ่าน ($P=S \times D$) ดังนั้นทั้ง S และ D จึงมีผลต่อความสามารถในการซึมผ่าน

Gounga *et al.* (2007) พบว่าฟิล์มผสมของ WPI-pullulan มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนลดลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากโครงสร้างเครือข่ายมีความแน่นมากตลอดถึงการพับตัว (folding) ภายในและระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ขณะที่พอลิเมอร์ทำหน้าที่เป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้าง (structural matrix) ซึ่งผลการศึกษานี้คล้ายกับผลการศึกษาของ Gounga *et al.* (2007) โดยที่การเติม HBSS เข้าไปในโปรตีนเวย์ในปริมาณเล็กน้อยในฟิล์มผสม WPI-HBSS มีผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่ไม่ได้เติม

จากภาพที่ 32 ทั้งโปรตีนเวย์และ HBSS แต่ละชนิดก็มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากัน แต่เมื่อนำมาผสมกันทำให้มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจาก คุณสมบัติเชิงหน้าที่ร่วมกัน (cooperative functionality) ของโปรตีนเวย์และ HBSS โดยอาจเกิดจากผลของการเชื่อมข้าม (cross-linking) ของโปรตีนเวย์ที่เกิดใน HBSS แต่ไม่เกิดใน ASS

เนื่องจาก OKP ชนิด ASS มีโครงสร้างที่คาดว่าประกอบด้วย AG I และ AG II ที่เป็นโซ่ข้างซึ่งมีความยาวมากกว่า HBSS โดยที่ OKP ชนิด HBSS มีโซ่ข้างเป็นกาเล็กแทนซึ่งสั้นกว่า (Sengkhampan *et al.*, 2009a, 2009b) ด้วยเหตุนี้ทำให้คาดว่า ASS เกิดการกีดขวางเนื่องจากขนาด ระหว่างโครงสร้างในฟิล์มได้มากกว่า HBSS รวมทั้งอาจเกิดการรวมตัวกันไม่แน่นหรือโครงสร้างที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (discontinuity network) ในโครงสร้างของฟิล์มผสม WPI-ASS ทำให้ความสามารถ ในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มมีค่ามาก เมื่อเทียบกับฟิล์ม WPI-HBSS โดยยืนยันผลโดยใช้ภาพถ่ายโครงสร้างขนาดอนุภาคในหัวข้อ 3.7

ซึ่งจากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า OKP มีความสามารถในการชะลอ (กรณีใช้ HBSS) หรือช่วยเพิ่ม (กรณีใช้ ASS) ความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์มโปรตีนเวย์ โดยขึ้นอยู่กับโครงสร้างของ OKP ที่แตกต่างกัน และองค์ประกอบของส่วนผสมที่ใช้ขึ้นรูปฟิล์มผสม

3.3.2 การเปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มผสม WPI-OKP กับฟิล์มจากโปรตีนเวย์

ผลของความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของ ฟิล์มผสม WPI-OKP ที่อัตราส่วนต่าง ๆ เปรียบเทียบกับฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์และกลีเซอรอลที่ระดับต่าง ๆ แสดงผลเปรียบเทียบในตารางที่ 4 พบว่า ที่ปริมาณของ OKP fraction+Gly และ กลีเซอรอลเท่ากัน ฟิล์มผสม WPI-OKP มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มผสมต่ำกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ยกตัวอย่างเช่น ฟิล์มโปรตีนเวย์ที่มี HBSS+Gly และ ASS+Gly ที่ระดับ 44% (20.4 ± 1.4 และ $75.2 \pm 7.1 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$ ตามลำดับ) มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่า ฟิล์มโปรตีนเวย์มีกลีเซอรอลอย่างเดียว ที่ระดับ 44% ($209.1 \pm 2.8 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{ day}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$) การแทนที่กลีเซอรอลบางส่วนด้วย OKP มีผลทำให้ความสามารถ ในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มโปรตีนเวย์ต่ำลงอย่างมาก

คล้ายกับผลของความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ที่ระดับของสมบัติการดัดเท่ากัน (ภาพที่ 28 และ 29) โดยฟิล์มที่มี HBSS+Gly และ ASS+Gly เท่ากับ 62.5% มีค่าแรงต้านทานการดัดขาด และมอดูลัสยืดหยุ่นสูงกว่าฟิล์มที่มีปริมาณ Gly เท่ากับ 44% เล็กน้อย (สูงกว่า 10-20%) โดยพบว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มี HBSS+Gly และ ASS+Gly และ เท่ากับ 62.5% มีความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มี Gly เท่ากับ 44% (มีค่าต่ำกว่า 87% หรือ 7.5 เท่า และ 55% หรือ 2.2 เท่า ตามลำดับ) (ตารางที่ 4) ดังนั้นการเติม OKP บางส่วนแทนกลีเซอรอลในการทำฟิล์มผสม สามารถช่วยทำให้ฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีแรงต้านทานการดัดขาดและมอดูลัสยืดหยุ่นมีค่าเท่ากัน โดยที่ สามารถทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มต่ำลงอย่างมาก ซึ่งเป็นการปรับปรุงสมบัติการป้องกันออกซิเจนของ HBSS ต่ำลงประมาณ 7-13 เท่า ขณะที่ ASS ต่ำลง 2-3 เท่า

ซึ่งจากการเติม OKP ในฟิล์มผสม WPI-OKP สามารถใช้แทนกลีเซอรอลบางส่วนเพื่อทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์แล้ว มีผลทำให้ปรับปรุงสมบัติทางกล (ที่กล่าวในหัวข้อ 3.1 หน้า 84) ยังทำให้ฟิล์มมีสมบัติการป้องกันออกซิเจนที่ดี ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอาหารประเภทที่ไม่ต้องการให้สัมผัสกับออกซิเจน เช่น อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ เป็นต้น

3.4 การเปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนระหว่างฟิล์มพอลิเอทิลีนไครด์จากกระเจี๊ยบเขียวกับฟิล์มสังเคราะห์

จากตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่าฟิล์มจากทั้ง OKP ชนิด HBSS และ ASS มีความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำกว่าฟิล์มสังเคราะห์จาก low density polyethylene (LDPE), high density polyethylene (HDPE) and polypropylene (PP) อย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบฟิล์มที่มี โปรตีนเวย์กับกลีเซอรอลกับ ฟิล์มที่มีโปรตีนเวย์และ HBSS ในอัตราส่วน 0.6:1 เท่ากัน พบว่า HBSS สามารถใช้ทำฟิล์มผสม WPI-HBSS ที่มีความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่ำกว่า Nylon 6 ซึ่งมีค่าต่ำที่สุดในบรรดาฟิล์มสังเคราะห์ด้วยกัน

แต่อย่างไรก็ตาม ฟิล์มสังเคราะห์ซึ่งเป็นฟิล์มที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic film) เช่น LDPE, HDPE และ PP ก็ยังคงมีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ฟิล์มผสม WPI-OKP และฟิล์มจาก OKP เนื่องจากฟิล์มบริโกลได้ดังกล่าวเป็นฟิล์มที่ชอบน้ำโดยธรรมชาติ อีกทั้งฟิล์มสังเคราะห์ยังมีสมบัติเชิงกลที่ดีกว่า ดังนั้นฟิล์มจากโปรตีนเวย์ OKP และฟิล์มผสมเหล่านี้ จึงน่าจะเหมาะกับการใช้ประโยชน์เป็นฟิล์มบริโกลได้เป็นบรรจุภัณฑ์ในลักษณะเป็นถุงเล็ก ๆ ที่บริโกลได้ หรือใช้เป็นส่วนผสมสำหรับสารเคลือบที่บริโกลได้ในอาหาร นอกจากนี้ฟิล์มบริโกลได้นี้ยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพจากโปรตีนเวย์และ OKP

3.5 การเปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนระหว่างฟิล์มจากกระเจี๊ยบเขียวกับฟิล์มจากพอลิเอทิลีนไครด์อื่น ๆ

จากตารางที่ 6 เปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ของฟิล์มจาก OKP กับฟิล์มจากพอลิเอทิลีนไครด์ชนิดอื่น ๆ พบว่า ฟิล์มจาก OKP โดยเฉพาะอย่างยิ่ง HBSS สามารถใช้ผลิตฟิล์มบริโกล ซึ่งมีความสามารถป้องกันความชื้นและก๊าซออกซิเจนที่ดีกว่าฟิล์มจากพอลิเอทิลีนไครด์ทั่ว ๆ ไป ซึ่งแสดงว่า ฟิล์มจาก OKP มีศักยภาพที่ใช้เป็นประโยชน์ในแง่เป็นฟิล์มบริโกลได้โดยธรรมชาติ อีกทั้งสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ รวมถึงใช้เพื่อป้องกันอาหารจากความชื้นและจากกระบวนการออกซิเดชัน และสามารถนำไปใช้ได้หลากหลายกับผลิตภัณฑ์อาหารเนื่องจากทั้งฟิล์ม HBSS และ ASS ค่าการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนในช่วงที่แตกต่างกัน จึงเป็นทางเลือกที่สามารถนำไปใช้งานได้หลากหลายขึ้น โดยขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน

ตารางที่ 5 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซ
ออกซิเจนของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ และฟิล์มจาก OKP เทียบกับฟิล์มสังเคราะห์จากวัสดุ
ปิโตรเลียม

Film	Water Vapor Permeability	Oxygen Permeability
	(g mm/m ² h kPa)	(cm ³ μm/m ² day kPa)
WPI:Gly (3:1)	2.6	46
HBSS:Gly (3:1)	2.8	55
ASS:Gly (3:1)	4.3	171
WPI:Gly (0.6:1)	3.9	520
WPI:HBSS (0.6:1)	1.8	7
LDPE ^a	0.0020	1900
HDPE ^a	0.0003	260
Polypropylene ^a	0.0010	620
Nylon 6 ^a	NA	25

หมายเหตุ ^a Danganan and Krochta 2008, NA=not available from cited reference

ตารางที่ 6 ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซ
ออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP เทียบกับฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์อื่น ๆ

Film	Water Vapor Permeability (g mm/ m ² h kPa)	Oxygen Permeability (cm ³ μm/m ² day kPa)
HBSS:Gly (3:1 - 10:1) ^a	2.1-3.0	12.8-53.7
ASS:Gly (3:1 - 10:1) ^a	3.5-4.5	84.4-179.5
MC:Gly (1.52:1 - 5.88:1) ^b	9.07-10.08	101.03
HPC:Gly (1.52:1 - 5.88:1) ^b	7.00	201.46
HCMS:Gly (3.3:1 - 10:1) ^c	103-190	NA
MC:Gly (2.3:1) ^d	13.8	242

หมายเหตุ MC=methylcellulose; HPC=hydroxylpropylcellulose; HCMS=highly
carboxylmethylated starch; HPMC=hydroxylmethylcellulose

^a range of study; ^b Park *et al.* (1993); ^c Kim *et al.* (2002); ^d Brindle and Krochta (2008)

3.6 สีและสมบัติการมองเห็น (Color and Optical properties)

3.6.1 สี

ผลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อค่าสีของฟิล์มผสม WPI-OKP แสดงดัง
ตารางที่ 7 ซึ่งพบว่า ปริมาณและองค์ประกอบที่แตกต่างกันของ OKP (HBSS และ ASS) มีผลทำให้
ค่า L* (ความสว่าง) ค่า a* (แดง-เขียว) และ ค่า b* (เหลือง-น้ำเงิน) ของฟิล์มผสม WPI-OKP มีความ
แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังภาคผนวกที่ ข21

ฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีความสว่างมากที่สุด ($L^* = 90.8 \pm 0.4$) ขณะที่ ฟิล์มจาก ASS
มีความสว่างน้อยที่สุด ($L^* = 71.2 \pm 1.0$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของฟิล์ม HBSS และ ASS
พบว่า ฟิล์มจาก HBSS มีความสว่างมากกว่า ขณะที่ ฟิล์มชนิด ASS มีสีเหลืองมากกว่า โดยที่มีสี
เหลืองมากที่สุดเมื่อเทียบกับฟิล์มทั้งหมด ($b^* = 39.2$) เมื่อเพิ่มปริมาณของ OKP มีผลทำให้ฟิล์มผสม
มีค่า L* ลดลง ขณะที่ ค่า b* มีค่าสูงขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุให้ฟิล์มผสมมีเขียวอมเหลือง ซึ่งอาจ
เนื่องมาจากรงควัตถุของผักกระเจียวที่หลงเหลืออยู่ในขั้นตอนการสกัด ส่วนการที่ ASS มีสี

เหลืองมากกว่า HBSS อาจเนื่องจากในขั้นตอนการสกัดด้วยเบสสามารถละลายคลอโรฟิลล์ออกมาได้มากกว่าการใช้แอซีเทตบัฟเฟอร์

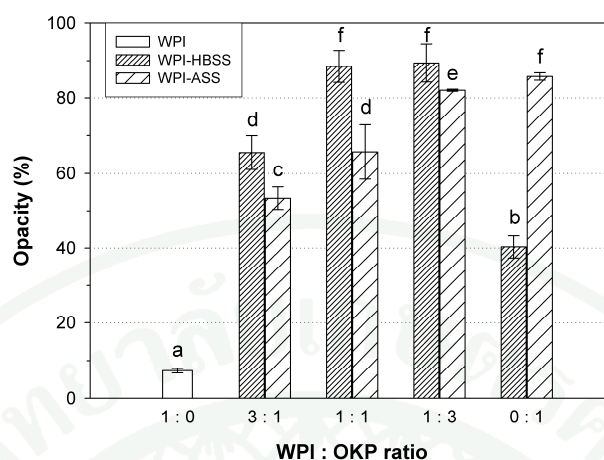
ตารางที่ 7 ค่าสีของฟิล์มผสม WPI-OKP (HBSS และ ASS)

WPI:OKP	L*	a*	b*
WPI:HBSS			
1:0	90.8±0.4 ^g	-1.3±0.1 ^e	5.0±0.3 ^a
3:1	84.9±0.7 ^f	-1.5±0.1 ^{d,e}	21.5±0.6 ^b
1:1	82.7±0.7 ^e	-1.6±0.1 ^d	25.8±1.0 ^c
1:3	80.7±0.6 ^d	-1.7±1.0 ^d	30.7±0.5 ^e
0:1	80.5±0.6 ^d	-2.8±0.1 ^c	33.2±1.1 ^f
WPI:ASS			
3:1	82.7±2.0 ^e	-1.8±0.2 ^d	27.9±1.0 ^d
1:1	79.2±1.2 ^c	-3.3±0.1 ^b	31.0±0.8 ^e
1:3	77.0±0.7 ^b	-3.7±0.1 ^a	34.4±0.9 ^g
0:1	71.2±1.0 ^a	-3.7±0.2 ^a	39.2±1.1 ^h

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.6.2 ความทึบแสง (Opacity)

ผลของความเข้มข้นและชนิดของ OKP ต่อความทึบแสงของฟิล์มผสม WPI-OKP แสดงดังภาพที่ 33 จากผลการศึกษพบว่า OKP มีผลทำให้ความทึบแสงของฟิล์มผสมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่ชนิดของ OKP ไม่มีผลต่อความทึบแสงของฟิล์มผสม ($p > 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข22



ภาพที่ 33 ความทึบแสง (opacity) ของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแห่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ฟิล์มจากโปรตีนเวย์อย่างเดียว มีความทึบแสงของฟิล์มต่ำที่สุด ($7.37 \pm 0.57\%$) (หรือมีความโปร่งแสงมากที่สุด) ขณะที่ฟิล์มจาก OKP มีลักษณะโปร่งแสงเล็กน้อย และเมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นในฟิล์มผสม ทำให้ฟิล์มมีความทึบแสงสูงขึ้น ($p < 0.05$) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุมาจาก pH ของสารละลายฟิล์มซึ่งมีค่า ประมาณ 6-7 เป็น pH ที่สูงกว่าค่า pK_a ของกรดกาแล็กทูโรนิก (3.5) (Fraeye *et al.*, 2007) และ ค่า pI (isoelectric point) ของโปรตีนเวย์มีค่าเท่ากับ 5.2 (Perez-Gago and Krochta, 1999) ส่งผลทำให้โมเลกุลของทั้ง OKP และ โปรตีนเวย์แสดงประจุลบ ที่ pH มากกว่า pI การรวมตัวกันของโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ไม่ดึ้นก (non-existent) หรือเกิด thermodynamic incompatibility (Dickinson, 1998) โดยปกติแล้วพอลิเมอร์ผสมมักมีความทึบแสงมากกว่าพอลิเมอร์เดี่ยว ๆ ที่ไม่ได้ผสมอะไรเลย (Giancone *et al.*, 2008)

การที่แสงผ่านได้น้อยของฟิล์มอาจเกิดจากการเกิด phase separation ที่เรียกว่า thermodynamic incompatibility ของพอลิเมอร์ โดยสามารถเกิดได้โดยที่เกิดการผสมกันของโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ระดับความเข้มข้นสูง (Dickinson, 2003) ทำให้โปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งแสดงประจุเหมือนกันจึงเกิดแรงผลักกันเกิดขึ้น (net repulsion) ซึ่งการเกิด

thermodynamic incompatibility เคยรายงานว่าเกิดในสารผสมระหว่างโปรตีนเวย์และเพกติน และโปรตีนเวย์และกัวร์กัม ที่ pH 7.0 (Ercelebi and Ibanoglu, 2007) ยิ่งไปกว่านั้นเนื่องจาก OKP มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (1.7×10^6 dalton, Tomada *et al.*, 1980) การที่จะรวมเข้าด้วยกันกับไบโอพอลิเมอร์อื่น ๆ ในลักษณะสารละลายผสมจึงเป็นไปได้ยาก เนื่องจากการผสมไบโอพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งการที่น้ำหนักโมเลกุลสูงส่งผลทำให้ combinatorial entropy mixing ต่ำ (Magnin and Dumitriu 2005) อีกทั้งการที่ทั้งโปรตีนเวย์และพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบแดง กระจุกเหมือนกัน ส่งผลทำให้เกิด segregative phase separation (Giancone *et al.*, 2008) ใน การศึกษานี้สังเกตได้ว่าการตกตะกอนของสารละลายฟิล์มเมื่อ pH ของสารละลายเข้าใกล้ค่า pI ของโปรตีนเวย์ ซึ่งการตกตะกอนดังกล่าวเป็นผลให้เกิดความทึบแสงของฟิล์มมากขึ้น

ความทึบแสงของฟิล์มมีสาเหตุมาจากความไม่สม่ำเสมอในการสะท้อนกลับของพื้นผิว ซึ่งมีอิทธิพลจากระดับของการกระจายขององค์ประกอบ วัตถุเจือปน การเข้ากันได้ขององค์ประกอบ เป็นต้น ดังนั้นค่าความทึบแสงเป็นการวัดความไม่สม่ำเสมอและความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของพื้นผิวของฟิล์ม (Villalobos *et al.*, 2005; Fabra *et al.*, 2010) ความทึบแสงของฟิล์มผสม WPI-OKP ไปขัดขวางการส่องผ่านของแสงที่ผ่านเข้าไปยังฟิล์ม ซึ่งเป็นสาเหตุของการลดลงของความโปร่งแสงของฟิล์มผสมเมื่อเทียบกับฟิล์มจากโปรตีนเวย์

เมื่อเทียบระหว่างฟิล์มจาก HBSS และ ASS พบว่า ฟิล์มจาก ASS มีความทึบแสงมากกว่า ฟิล์มจาก HBSS ซึ่งอาจเนื่องจากองค์ประกอบที่แตกต่างกันของพอลิแซ็กคาไรด์ แต่เมื่อเติมพอลิแซ็กคาไรด์ชนิด ASS ลงในฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ความทึบแสงของฟิล์มผสมกลับมีค่าต่ำกว่า การเติมพอลิแซ็กคาไรด์ชนิด HBSS ลงในฟิล์มจากโปรตีน ผลดังกล่าวอาจเกิดจากการที่ pH ของ WPI-HBSS (pH ประมาณ 6) มีค่าเข้าใกล้ pI ของโปรตีนเวย์มากกว่า (ประมาณ 5.2) จึงทำให้เกิดการตกตะกอนมากกว่า WPI-ASS ที่มี pH สูงกว่า (pH ประมาณ 7) ความทึบแสงของฟิล์มที่เพิ่มขึ้นบ่งบอกถึงความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของเนื้อฟิล์ม การที่ฟิล์มมีความโปร่งแสงมากแสดงว่ามีความสม่ำเสมอมาก (more homogeneous) ขณะที่ถ้าฟิล์มมีทึบแสงมากแสดงว่ามีความไม่สม่ำเสมอมาก (more heterogeneous) (Fabra *et al.* 2010; Villalobos *et al.*, 2005) ดังนั้นอิทธิพลของ OKP ต่อความทึบแสงของฟิล์มผสมอาจเกิดจากความไม่สม่ำเสมอในระดับโครงสร้างขนาดอนุภาค (microstructure) ภายในฟิล์ม

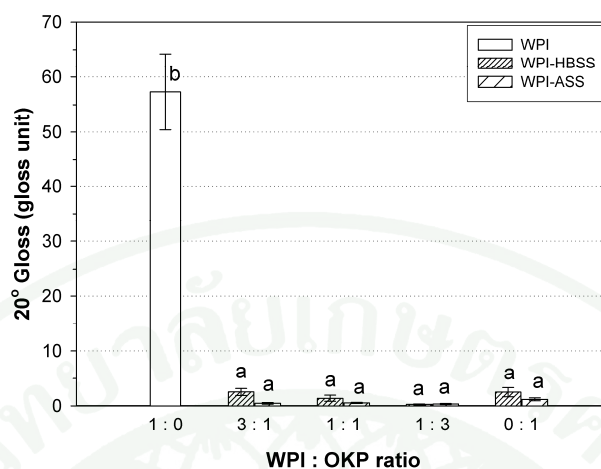
การโปร่งแสงของฟิล์มที่ลดลง (หรือความทึบแสงที่เพิ่มขึ้น) เกิดจากเฟสต่อเนื่องที่มีความหนืดน้อยกว่าเฟสกระจายที่มีความหนืดสูงกว่า (Shonaike and Simon 1999) เกิดการหักเหของแสงจากส่วนผสมดังกล่าว ส่งผลทำให้ฟิล์มมีลักษณะทึบแสงมากขึ้น ความทึบแสงที่เพิ่มขึ้นในฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต พบใน ฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ HPMC (Brindle and Krochta, 2008) โคลโคซานและเจลาติน (Lopez-Caballero *et al.*, 2005) นูกกดูโคแมนแนนและเจลาติน (Li *et al.*, 2006) สตาร์ชจากข้าวโพดและเคซีน สตาร์ชจากข้าวโพดและเจลาติน และสตาร์ชจากข้าวโพดและอัลบูมิน (Jagannath *et al.*, 2003) โดยปกติ ความทึบแสงของฟิล์มเป็นค่าที่บ่งบอกถึงการผสมเข้ากันได้ไม่สมบูรณ์ระหว่างส่วนผสมตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป (Brindle and Krochta, 2008)

3.6.3 ความเงา (Gloss)

การวัดค่าความเงาของพื้นผิววัสดุ โดยปกติวัดโดยใช้มุมตกกระทบ 3 มุม คือ 20, 60 และ 85 องศา โดยที่ วัสดุที่มีความเงาแต่ละระดับเหมาะกับการวัดที่มุมแตกต่างกัน ดังนี้ การใช้มุม 20 องศาเหมาะสำหรับวัสดุที่พื้นผิวมีความเงาสูง (high gloss surface) การใช้มุม 60 องศาเหมาะสำหรับวัสดุที่พื้นผิวมีความเงาปานกลาง (medium gloss surface) และการใช้มุม 85 องศาเหมาะสำหรับวัสดุที่พื้นผิวมีความเงาต่ำ (low gloss surface) (Villalobos *et al.*, 2005; Fabra *et al.*, 2010)

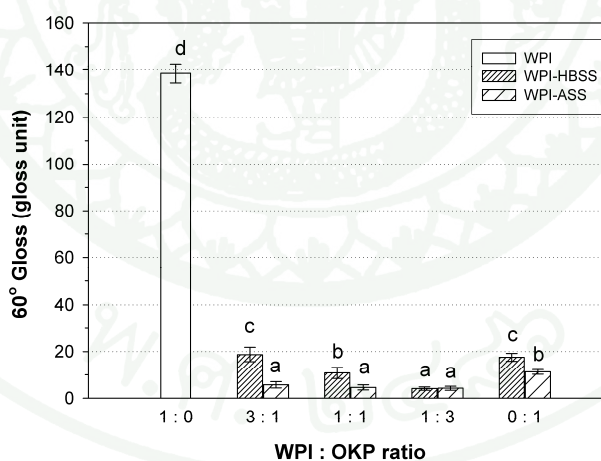
การวัดความเงาของพื้นผิวฟิล์มผสม WPI-OKP ที่มุมตกกระทบที่ 20, 60 และ 85 องศา ได้ผลแตกต่างกันดังภาพที่ 34-36 โดยพบว่าที่มุม 20 และ 60 แยกความแตกต่างของฟิล์มผสมไม่ได้ ขณะที่มุม 85 องศา สามารถแยกความแตกต่างของความเงาของฟิล์มผสมได้ จึงเลือกใช้ค่าความเงาที่มุม 85 องศาเพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นและชนิดของ OKP ต่อความเงาของฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP จากผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นและชนิดของ OKP มีผลต่อความเงาของฟิล์มผสมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังภาคผนวกที่ ข23-ข25

จากภาพที่ 36 แสดงค่าความเงาของฟิล์มต่าง ๆ โดยวัดที่มุมตกกระทบ 85 องศา พบว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีความเงาสูงที่สุด (97.03 ± 2.24 GU) ฟิล์มผสมของ WPI-HBSS มีความเงาตกลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ HBSS ขณะที่ฟิล์มผสมของ WPI-ASS มีความเงาตกลงอยู่ระหว่างค่าความเงาของโปรตีนเวย์และ ASS เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของ OKP พบว่า ฟิล์มจาก HBSS มีความเงา (35.27 ± 1.94 GU) มากกว่าฟิล์มจาก ASS (16.59 ± 2.40 GU)



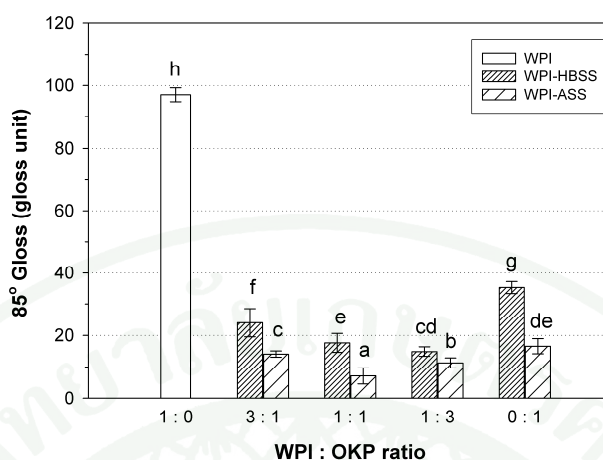
ภาพที่ 34 ความเงาที่มุม 20 องศาของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 35 ความเงาที่มุม 60 องศาของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 36 ความเงาที่มุม 85 องศาของฟิล์มผสม WPI-OKP ชนิด HBSS และ ASS ที่อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และ OKP ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันด้านบนกราฟแท่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

โดยปกติพื้นผิวของฟิล์มที่มีความเงามากกว่า 70 GU โดยวัดที่มุม 60 องศา จัดว่าเป็นฟิล์มที่มีความเงาสูง (high gloss) (Trezza and Krochta, 2000) จากการทดลองพบว่า ที่มุม 60 ฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีความเงามากกว่า 70 GU (138.56 ± 4.03 GU) ดังภาพที่ 35 แสดงว่าจัดอยู่ในกลุ่มที่มีความเงาสูง ขณะที่ฟิล์มจาก OKP ทั้งสองชนิด และฟิล์มผสม WPI-OKP จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความเงาต่ำ

ความเงาของฟิล์มเกี่ยวข้องกับลักษณะพื้นผิวที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำแห้งฟิล์ม (Sanchez-Gonzalez *et al.*, 2009) โดยปกติพื้นผิวที่เรียบมีค่าความเงาสูง (Ward and Nussinovitch, 1996a, 1996b) ดังนั้นการที่ฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีความเงาสูงที่สุด แสดงถึงความเรียบของพื้นผิวของฟิล์มมากที่สุด ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของปริมาณ OKP สามารถอธิบายได้ว่า ทำให้พื้นผิวของฟิล์มผสมมีความขรุขระเพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ค่าความเงาของฟิล์มผสมมีค่าลดลง ซึ่งการที่พื้นผิวฟิล์มมีความขรุขระมากขึ้นอาจเนื่องจากการเกิดการตกตะกอน หรือการเกิด phase separation ของโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งได้กล่าวข้างต้น

จากงานวิจัยหลาย ๆ งานพบว่า ความเงาของพื้นผิวเกิดจาก ความขรุขระ และ องค์ประกอบของฟิล์ม การที่ฟิล์มมีความเงาลดลง อาจเกิดจากความขรุขระของพื้นผิวฟิล์ม (Trezza and Krochta, 2001) โดยเมื่อฟิล์มมีความขรุขระมากค่าความเงามีค่าต่ำ จากการศึกษาของ Ward and Nussinovitch (1996a, 1996b) พบว่าพื้นผิวที่ขรุขระของเปลือกกล้วยมีผลต่อความเงา Ward and Nussinovitch (1997) ศึกษาผลของความเข้มข้นของไฮโดรคอลลอยด์หลาย ๆ ชนิด ได้แก่ เจล แลนแกม อะการ์ อะกาโรส เจลาติน และโซเดียมแอลจินेट ที่มีต่อความเงาของฟิล์ม พบว่า ฟิล์มมีความเงาเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฮโดรคอลลอยด์ ซึ่งเกิดจากความเรียบที่มากขึ้นของพื้นผิวของฟิล์ม ขณะที่ Trezza and Krochta (2000) พบว่า เมื่อปริมาณไขมันและสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น ค่าความเงาของฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีค่าลดลง

3.6.4 การเปรียบเทียบสมบัติด้านสี ความทึบแสง และความเงาของฟิล์มผสม WPI-OKP

สมบัติทางการมองเห็นของฟิล์ม เช่น สี ความทึบแสง และความเงาของฟิล์ม มีความสำคัญอย่างมากต่อการนำไปใช้ประโยชน์เนื่องจากสมบัติเหล่านี้มีผลกระทบต่อลักษณะปรากฏของฟิล์มหรือสารเคลือบที่บริโภคได้ และการเปลี่ยนแปลงระหว่างเก็บรักษาเมื่อนำไปใช้กับอาหาร จากตารางที่ 8 เมื่อเปรียบเทียบสมบัติด้านสี ความทึบแสง และความเงาของฟิล์มผสม WPI-OKP พบว่าฟิล์มผสม WPI-HBSS และ WPI-ASS มีสมบัติดังกล่าวที่แตกต่างกัน ซึ่งการที่ฟิล์มแต่ละชนิดมีสมบัติที่แตกต่างกันนี้ มีผลดีในแง่ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายขึ้น สามารถเลือกฟิล์มที่ต้องการจุดเด่นแต่ละด้านไปใช้ให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ได้ โดยขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์การใช้งาน เช่น ฟิล์มผสมจาก WPI-HBSS มีค่าเฉลี่ยของความทึบแสงสูงกว่าฟิล์มผสมจาก HBSS-ASS โดยที่ฟิล์มที่มีความทึบแสงสูง (WPI-HBSS) อาจนำไปใช้งานในกรณีที่ใช้เพื่อป้องกันผลิตภัณฑ์อาหารจากการเสื่อมเสียเนื่องจากแสง หรือการเกิดออกซิเดชัน ขณะที่ฟิล์มที่มีความทึบแสงน้อยกว่า อาจนำไปใช้งานในอาหารที่เสื่อมเสียจากแสงน้อยกว่า แต่ต้องการให้เห็นลักษณะปรากฏของอาหาร เป็นต้น

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบสมบัติด้านสี ความทึบแสง และความเงาของฟิล์มผสม WPI-HBSS และ ฟิล์มผสม WPI-ASS

WPI:OKP	สี			ความทึบแสง (%)	ความเงาที่ 85° (GU)
	L*	a*	b*		
WPI:HBSS					
1:0	90.8	-1.3	5.0	7.37	97.03
3:1	84.9	-1.5	21.5	65.54	24.02
1:1	82.7	-1.6	25.8	88.45	17.63
1:3	80.7	-1.7	30.7	89.36	14.89
0:1	80.5	-2.8	33.2	40.32	35.27
WPI:ASS					
3:1	82.7	-1.8	27.9	53.37	14.09
1:1	79.2	-3.3	31.0	65.69	7.17
1:3	77.0	-3.7	34.4	82.08	11.31
0:1	71.2	-3.7	39.2	85.73	16.59

3.7 การวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาค (Microstructure analysis)

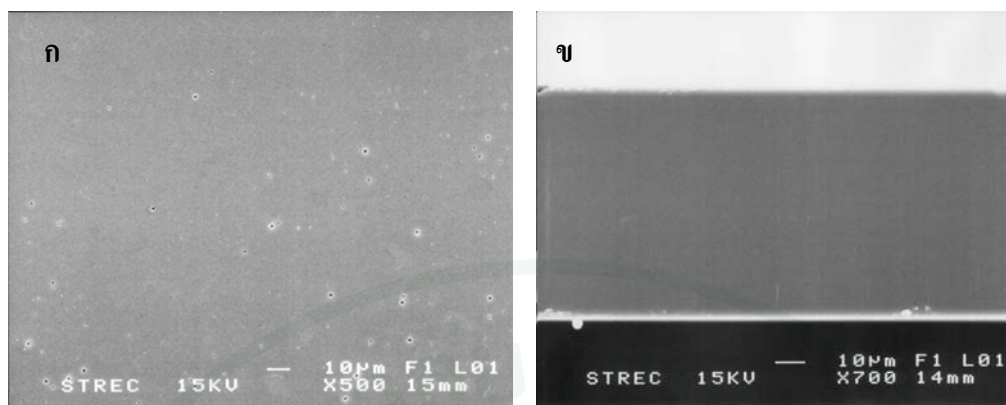
ผลของค่าความทึบแสงและความเงาของฟิล์มในหัวข้อ 3.6 สามารถยืนยันได้จากภาพถ่ายโครงสร้างขนาดอนุภาค โดยใช้กล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) โดยถ่ายภาพพื้นผิวของฟิล์ม และภาพตัดขวาง

3.7.1 ฟิล์มจากโปรตีนเวย์และ OKP

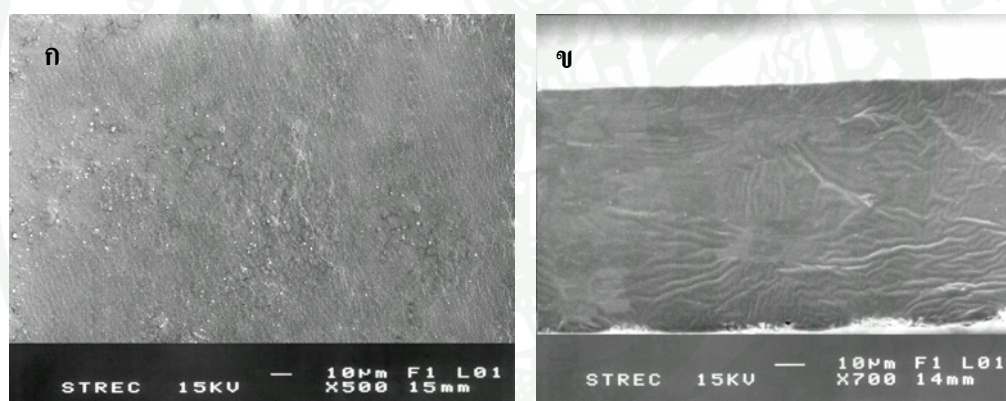
จากภาพที่ 37 แสดงภาพถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ พบว่าพื้นผิวของฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีพื้นผิวที่เรียบ มีรูเข็ม (pinhole) เล็กน้อย (ภาพที่ 37ก) ขณะภาพตัดขวางของฟิล์มจากโปรตีนเวย์แสดงให้เห็นว่าเนื้อฟิล์มมีลักษณะอัดแน่น เรียบสม่ำเสมอ ไม่มีรอยแตก โครงสร้างหนาแน่นและเป็นเนื้อเดียวกัน (ภาพที่ 37ข) ซึ่งบ่งบอกว่า

องค์ประกอบของฟิล์มมีความเข้ากันได้ดี ส่งผลทำให้ฟิล์มมีความโปร่งแสง และมีความเงาสูง (จากผลข้อ 3.6.2 และ 3.6.3)

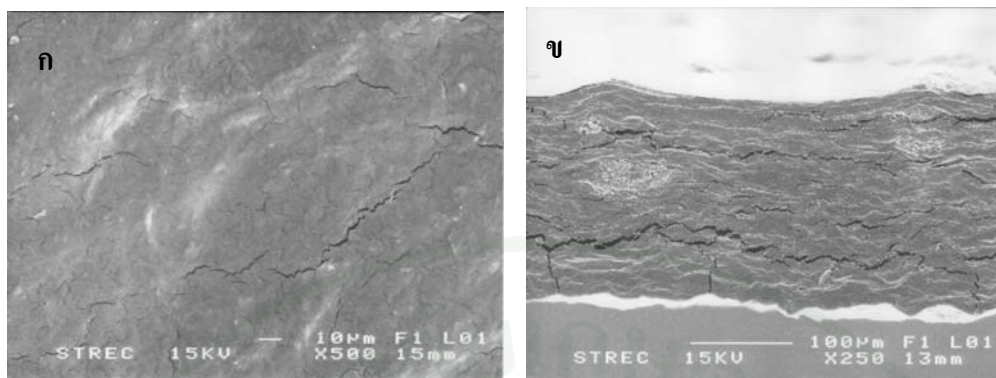
จากภาพที่ 38 และ 39 แสดงภาพจากฟิล์มจากพอลิแซ็กคาไรด์ชนิด HBSS และ ASS ตามลำดับ โดยสังเกตเห็นฟิล์มจาก HBSS และ ASS มีโครงสร้างขนาดอนุภาคของพื้นผิวขรุขระกว่าฟิล์มจากโปรตีนเวย์ พื้นผิวฟิล์มจาก HBSS (ภาพที่ 38) มีลักษณะไม่เรียบมีรอยขรุขระเล็กน้อย ขณะที่ฟิล์มจาก ASS (ภาพที่ 39) มีรอยแตกอย่างชัดเจน ซึ่งอาจเกิดจากโครงสร้างของฟิล์มไม่แข็งแรง หรือไม่มีแรงยึดกันพอที่จะคงโครงสร้างให้เป็นเนื้อเดียวกัน ภาพตัดขวางของฟิล์มจาก ASS (ภาพที่ 39ข) แสดงให้เห็นว่ามีความสม่ำเสมอน้อยกว่า ฟิล์มจาก HBSS (ภาพที่ 38ก) ส่งผลทำให้ฟิล์ม ASS มีค่าการทึบแสงสูง และความเงาดำกว่า ฟิล์มจาก HBSS (จากผลข้อ 3.6.2 และ 3.2.3) และจากภาพที่ 39ข แสดงภาพตัดขวางของฟิล์ม ASS พบว่าฟิล์มมีลักษณะ รอยแตกจำนวนมาก ซึ่งทำให้ค่าความสามารถในการซึมผ่าน (ไอน้ำและก๊าซออกซิเจน) มีค่าสูง เมื่อเทียบกับฟิล์มจากโปรตีนเวย์ และฟิล์มจาก HBSS (จากผลข้อ 3.2 และ 3.3) ซึ่งการที่ฟิล์มโปรตีนเวย์ หรือฟิล์มจาก HBSS มีโครงสร้างที่อัดแน่น มีรอยแตกน้อย เมื่อเทียบกับฟิล์มจาก ASS หรือ ฟิล์มผสม คาดว่าอาจเกิดจากความหนาแน่นของพลังงานที่สามารถยึดติดกัน และมีปริมาตรอิสระในระหว่างสายพอลิเมอร์ต่ำ (Miller and Krochta, 1997) ซึ่งปริมาตรอิสระ (free volume) หมายถึง พื้นที่ว่างซึ่งไม่มีโครงสร้างขนาดอนุภาคของโมเลกุลของพอลิเมอร์ปรากฏอยู่ (Wang *et al.*, 2007)



ภาพที่ 37 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ (ก) พื้นผิวด้านบน
(ข) ภาพตัดขวาง



ภาพที่ 38 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มจาก HBSS (ก) พื้นผิวด้านบน
(ข) ภาพตัดขวาง



ภาพที่ 39 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์ม ASS (ก) พื้นผิวด้านบน
(ข) ภาพตัดขวาง

3.7.2 ฟิล์มผสม WPI-OKP

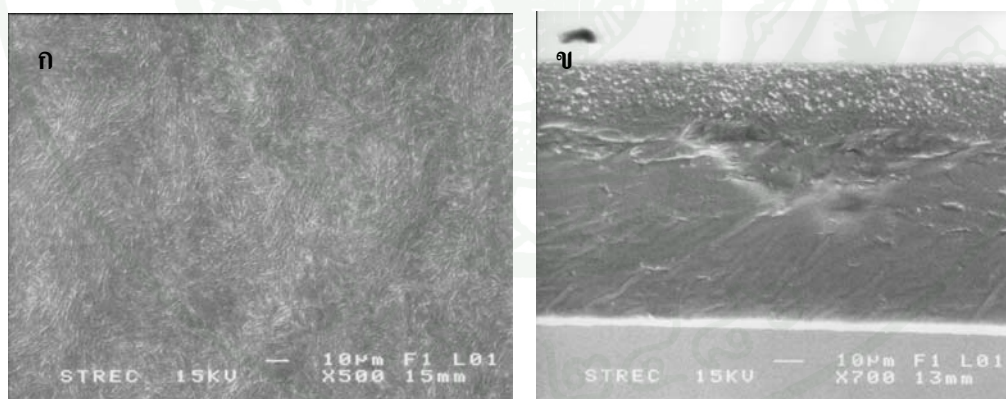
จากผลของความทึบแสงและความเงา พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณ OKP ทั้งสองชนิด (HBSS หรือ ASS) ในการทำฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ทำให้ความทึบแสงและความเงาลดลง นั่นคือ ฟิล์มมีความไม่เป็นเนื้อเดียวกัน และมีความขรุขระเพิ่มขึ้น สามารถยืนยันผลได้จากภาพถ่ายโครงสร้างขนาดอนุภาค โดยใช้กล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ภาพที่ 40-45)

จากภาพที่ 40-45 เมื่อเปรียบระหว่างพื้นผิวของฟิล์มผสม WPI-HBSS (ภาพที่ 40-42) กับพื้นผิวของฟิล์มผสม WPI-ASS (ภาพที่ 43-45) ปรากฏว่า พื้นผิวของฟิล์ม WPI-HBSS มีลักษณะไม่เป็นเนื้อเดียวกัน มีความขรุขระมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับผลของค่าความทึบแสงของฟิล์ม อีกทั้งเมื่อพิจารณาระหว่างภาพตัดขวางของฟิล์มผสม WPI-HBSS (ภาพที่ 40ข-42ข) และฟิล์มผสม WPI-ASS (ภาพที่ 43ข-45ข) พบว่าลักษณะเนื้อฟิล์มผสมของ WPI-HBSS มีโครงสร้างที่อัดแน่น เรียบ ไม่มีรอยแตก เมื่อเทียบพบ ฟิล์มผสม WPI-ASS ซึ่งสอดคล้องผลของความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจน ที่พบว่าฟิล์มจาก WPI-HBSS มีสมบัติในการเป็นตัวป้องกันไอน้ำและออกซิเจนที่ดีกว่า

จากการสังเกตด้วยตาเปล่าในขณะที่เตรียมฟิล์ม พบว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีความโปร่งแสงและเมื่อผสมกับ OKP ทำให้ฟิล์มผสมมีความทึบแสงมากขึ้น ซึ่งแสดงว่าอาจเกิดการแยกเฟสระหว่างสองพอลิเมอร์ จากภาพด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงให้เห็นว่า

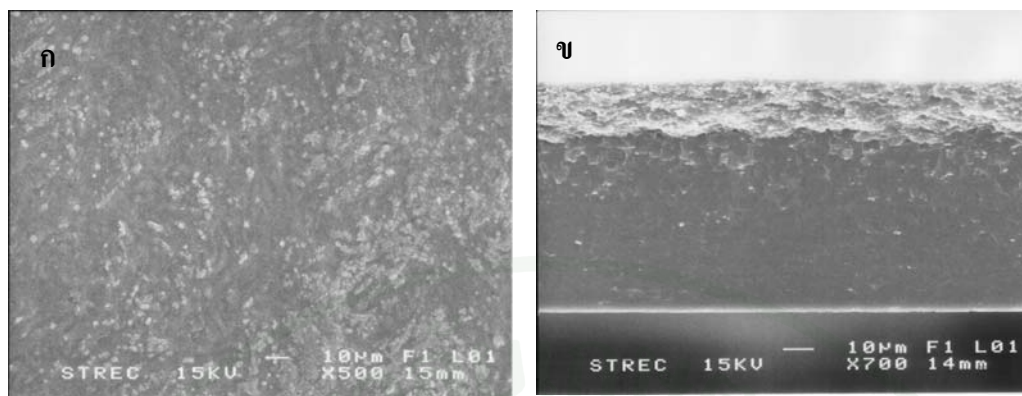
ฟิล์มผสมเป็นฟิล์มที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งอาจเกิด phase separation ระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP คล้ายกับที่พบใน ฟิล์มผสมจากโปรตีนเวย์และไคโตซาน (Ferreira *et al.*, 2009) ซึ่งพบว่าที่ระดับ WPI:Chitosan 1:1 เกิดการแยกชั้นของโปรตีนเวย์และไคโตซาน อะไมโลเพกตินและ เบต้าแล็กโตโกลบูลิน (Quiroga and Bergenstahl, 2007) และไคโตซานและโปรตีนถั่วเหลือง (Sliva *et al.*, 2007)

จากผล ข้อ 3.3 ซึ่งพบว่าฟิล์มผสม WPI-HBSS ที่อัตราส่วน 3 ต่อ 1 มีความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ และฟิล์มจาก HBSS จึงเปรียบเทียบภาพถ่ายของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ (ภาพที่ 37) ฟิล์มจาก HBSS (ภาพที่ 38) และฟิล์มผสม WPI-HBSS 3:1 (ภาพที่ 40) โดยพบว่า ฟิล์มผสมมีพื้นผิวที่ขรุขระเล็กน้อย เนื้อฟิล์มอัดกันแน่น ซึ่งอาจส่งผลทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนมีค่าต่ำกว่าเมื่อเทียบกับฟิล์มผสม WPI-ASS และจากภาพสังเกตเห็นลักษณะของฟิล์มแยกเป็นสองชั้น ซึ่งอาจเกิดจากการตกตะกอนของสารละลายฟิล์มในช่วงการทำแห้ง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 48 ชั่วโมง โดยส่วนที่มีน้ำหนักมากกว่าอยู่ส่วนล่าง ขณะที่ส่วนที่มีฟองอากาศอยู่ด้านบน หรือ อาจเกิด phase separation ของโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์



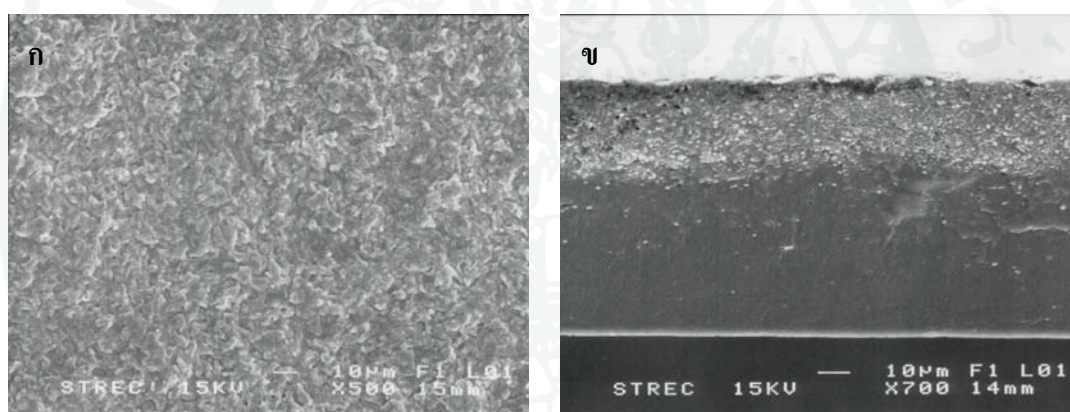
ภาพที่ 40 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: HBSS (3:1)

(ก) พื้นผิวด้านบน (ข) ภาพตัดขวาง



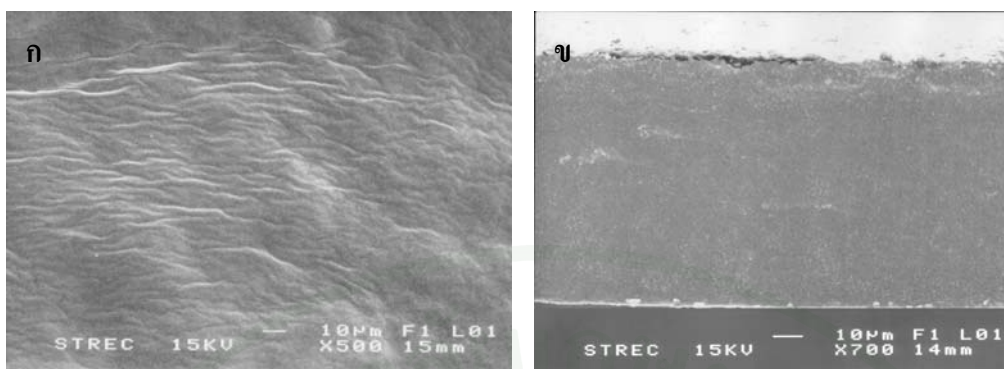
ภาพที่ 41 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: HBSS (1:1)

(ก) พื้นผิวด้านบน (ข) ภาพตัดขวาง



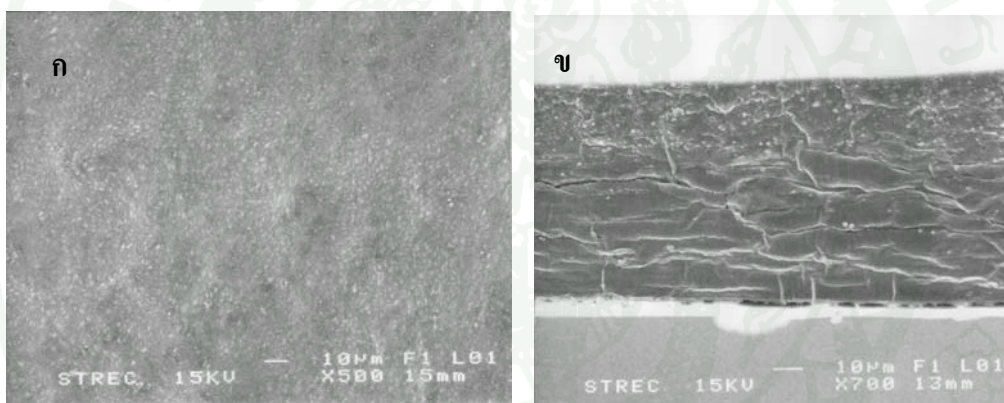
ภาพที่ 42 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: HBSS (1:3)

(ก) พื้นผิวด้านบน (ข) ภาพตัดขวาง



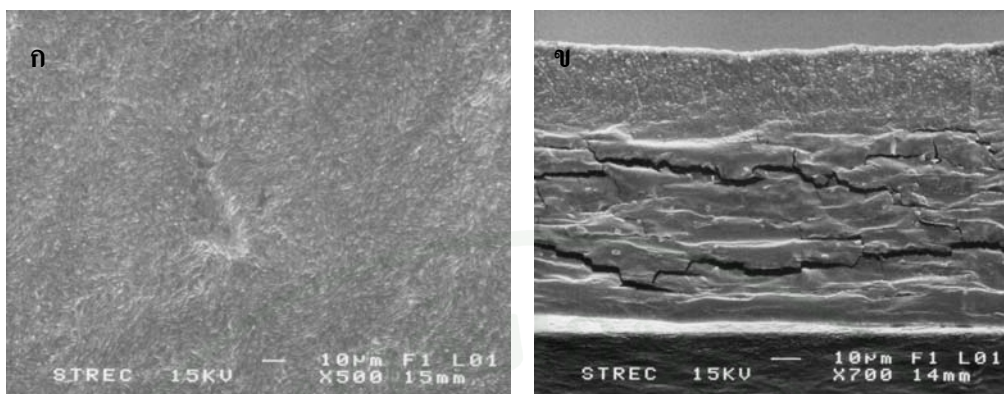
ภาพที่ 43 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: ASS (3:1)

(ก) พื้นผิวด้านบน (ข) ภาพตัดขวาง



ภาพที่ 44 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: ASS (1:1)

(ก) พื้นผิวด้านบน (ข) ภาพตัดขวาง



ภาพที่ 45 ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของฟิล์มผสม WPI: ASS (1:3)

(ก) พื้นผิวด้านบน (ข) ภาพตัดขวาง

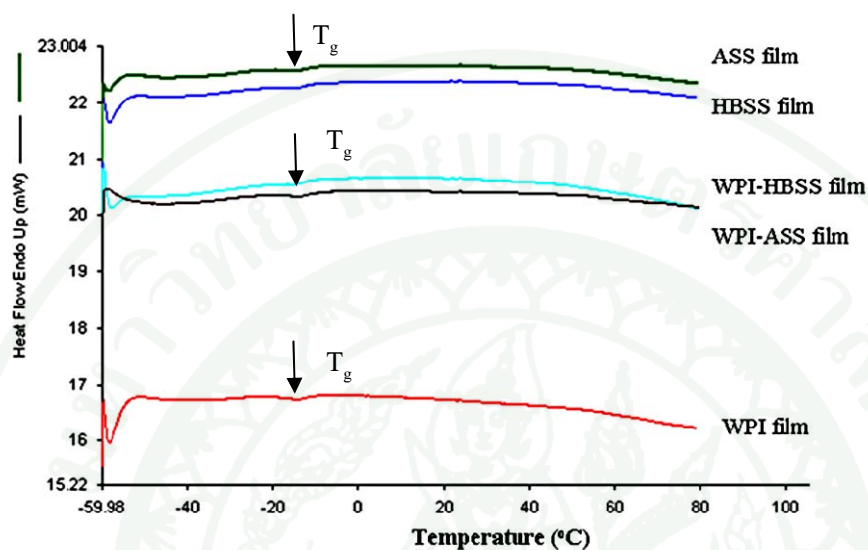
3.8 อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature : T_g)

3.8.1 การหาค่า T_g ด้วย Differential scanning calorimeter (DSC)

การใช้ DSC เพื่อหาค่า T_g ของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ฟิล์มจาก OKP และ ฟิล์มผสม โดยใช้อัตราส่วนของโปรตีนเวย์และฟิล์มจาก OKP เท่ากับ 1 ต่อ 1 และใช้อัตราส่วนของ พอลิเมอร์และกลีเซอรอลเท่ากับ 3 ต่อ 1 (Polymer:Gly = 3:1) โดยอุณหภูมิที่ใช้ศึกษาอยู่ระหว่าง -60°C ถึง 80°C (ภาพที่ 46) ซึ่งพบว่ามีค่า T_g อยู่ระหว่าง -11.8 ถึง -12.6°C โดยที่ไม่สามารถแยก ความแตกต่างของ T_g ของฟิล์มแต่ละชนิดได้อย่างชัดเจน และการเปลี่ยนแปลงของความร้อน จำเพาะจากการคำนวณของเครื่องพบว่ามีค่าน้อยเกินไป (ตารางที่ 9) ทำให้การระบุ ค่า T_g ของฟิล์ม ค่อนข้างยากและไม่แม่นยำ (Roos, 1995) โดยภาพเทอร์โมแกรมของ DSC ของฟิล์มแต่ละชนิด แสดงในภาคผนวก ค

จากงานวิจัยที่ผ่านมาที่มีการใช้ DSC เพื่อหาค่า T_g ของฟิล์มบริโกได้ พบว่า ค่า T_g ของฟิล์มโปรตีนเวย์มีค่าประมาณ -46°C (ใช้อัตราส่วนของ WPI:Gly = 1.5:1) (Sothornvit *et al.*, 2002) ขณะที่ Monahan *et al.* (2002) รายงานว่าค่า T_g ของฟิล์มโปรตีนเวย์มีค่า เท่ากับ -82°C (ใช้อัตราส่วนของ WPI:Gly = 2:1) ส่วน Ghanbarzadeh and Oromiehi (2008) รายงานว่าค่า T_g ของฟิล์มโปรตีนเวย์เข้มข้น (whey protein concentrate, WPC) มีค่าเท่ากับ 43.65°C (ใช้อัตรา ส่วนของ WPC:Gly = 2:1) การที่ฟิล์มโปรตีนเวย์มีค่า T_g ที่แตกต่างกันนั้นส่วนหนึ่งอาจ

เกิดจากส่วนประกอบที่ใช้ในการเตรียมฟิล์ม รวมทั้งองค์ประกอบของไบโอพอลิเมอร์ที่แตกต่างกัน ส่งผลทำให้ค่า T_g ที่วัดได้แตกต่างกัน



ภาพที่ 46 Differential scanning calorimetry (DSC) เทอร์โมแกรมของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ฟิล์มจาก OKP และฟิล์มผสม WPI-OKP ที่อัตราส่วนของ WPI:OKP เท่ากับ 1:1

ตารางที่ 9 Glass transition temperatures (T_g) และการเปลี่ยนแปลงของความจุความร้อนจำเพาะ (ΔC_p) ระหว่าง glass transition จาก DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์ม

Films	T_g ($^{\circ}\text{C}$)			ΔC_p (J/g $^{\circ}\text{C}$)
	Onset	End point	Inflection point	
WPI	-13.7 $\pm$ 0.3 ^a	-9.8 $\pm$ 0.5 ^a	-12.0 $\pm$ 0.5 ^a	0.2 $\pm$ 0.1 ^a
HBSS	-13.6 $\pm$ 0.1 ^a	-10.3 $\pm$ 1.0 ^a	-12.0 $\pm$ 0.4 ^a	0.1 $\pm$ 0.1 ^a
ASS	-13.7 $\pm$ 0.3 ^a	-10.6 $\pm$ 1.0 ^a	-12.6 $\pm$ 0.7 ^a	0.1 $\pm$ 0.0 ^a
WPI-HBSS (1:1)	-12.8 $\pm$ 1.5 ^a	-11.3 $\pm$ 2.1 ^a	-12.6 $\pm$ 0.4 ^a	0.2 $\pm$ 0.1 ^a
WPI-ASS (1:1)	-13.2 $\pm$ 0.5 ^a	-9.4 $\pm$ 1.1 ^a	-11.8 $\pm$ 0.3 ^a	0.1 $\pm$ 0.1 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวดิ่งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.8.2 การหาค่า T_g ด้วย Dynamic Mechanical Analysis (DMA)

มีหลายงานวิจัย ที่ใช้ DSC ในการหาค่า T_g แต่ไม่สามารถระบุค่าได้แม่นยำ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของค่าความร้อนจำเพาะน้อยมาก จึงใช้ DMA ในการหาค่า T_g แทน Li and Chien (2001) กล่าวว่าแม้ว่าโดยปกติมักนิยมใช้ DSC เพื่อหาค่า T_g ของไบโอพอลิเมอร์ แต่การใช้ DMA ให้ผลเป็นที่น่าพอใจมากกว่าเนื่องจากมีความไวต่อการหาค่า T_g มากกว่าการใช้ DSC ถึง 1000 เท่า Vodovotz and Chinachoti (1996) ใช้ DMA เพื่อหาการเปลี่ยนสถานะเนื่องจากความร้อนในสตาร์ชจากข้าวสาลี แทน DSC โดยระบุว่าการใช้ DMA มีความไวในการระบุ T_g กว่า DSC มากกว่า 1,000 เท่า Laaksonen *et al.* (2001) ศึกษาผลของ arabinoxylans ในโคจากแป้งสาลีแข็ง พบว่า DSC ไม่สามารถระบุการเปลี่ยนแปลงของค่า T_g ขณะที่การใช้ DMA สามารถระบุได้แม่นยำกว่า Sun *et al.* (2002) รายงานว่าความไวของ DSC ไม่เพียงพอในการหาค่า T_g ของเมล็ดข้าว เนื่องจากเมล็ดข้าวมีส่วนที่เป็น partially crystalline หรือ partially amorphous จึงใช้ DMA เพื่อหาค่า T_g แทน

การใช้ DMA เพื่อหาค่า T_g ของฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ฟิล์มจาก OKP (HBSS และ ASS) และฟิล์มผสมโดยใช้อัตราส่วนของโปรตีนเวย์ และฟิล์มจาก OKP ระดับต่าง ๆ และใช้

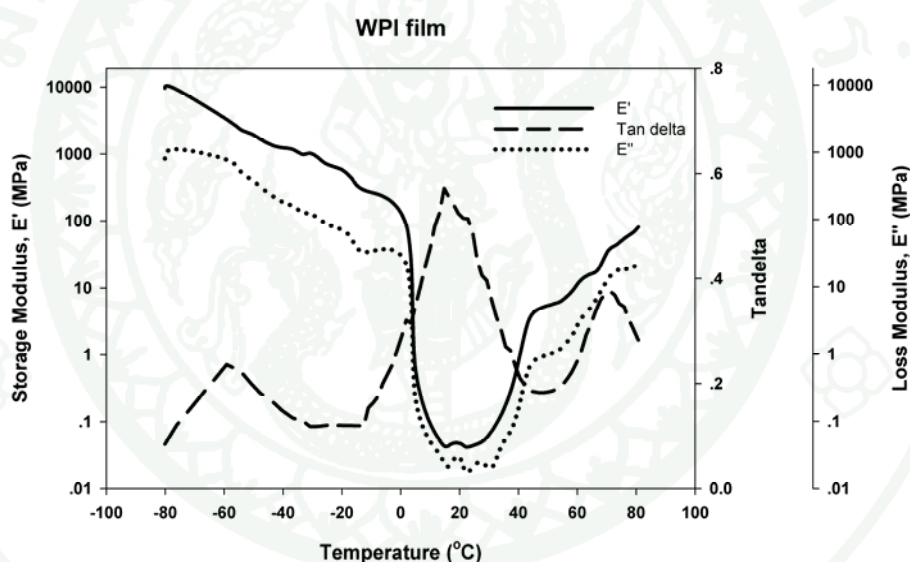
อัตราส่วนของพอลิเมอร์และกลีเซอรอลเท่ากับ 3 ต่อ 1 โดยอุณหภูมิที่ใช้ศึกษาอยู่ระหว่าง -80°C ถึง 80°C ทั้งนี้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 80°C โครงสร้างของไบโอพอลิเมอร์มักเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะค่า E' ที่ได้จึงไม่ใช่สมบัติของวัสดุที่แท้จริง โดยเกิดการเปลี่ยนรูปไม่อยู่ในสถานะคล้ายแก้ว (glassy state) แต่เป็นสถานะคล้ายยาง (rubbery state) แทน ดังนั้นในการทดลองหาค่า T_g จึงไม่นิยมทำที่อุณหภูมิสูงกว่า 80°C (Menard, 2008)

DMA เป็นการวัดการตอบสนองทางกลของพอลิเมอร์ที่สะท้อนออกมาจากค่า พลังงานที่สะสมในวัสดุ (storage modulus, E') และพลังงานที่สูญเสียขณะที่ให้ความร้อน (loss modulus, E'') ในโครงสร้าง ซึ่งแสดงถึงการคลายตัวของโซ่พอลิเมอร์ (chain relaxation) ในส่วนของ amorphous ที่แตกต่างกันก่อนที่จะเปลี่ยนสถานะ ค่า $\tan \delta$ เป็นอัตราส่วนของพลังงานที่สูญเสียต่อพลังงานที่สะสม (E''/E') ในขณะที่ ค่า T_g ของวัสดุคืออุณหภูมิที่มีการลดลงของ E' อย่างรวดเร็ว หรือ ค่าสูงสุดของ E'' และ $\tan \delta$ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Vodovotz and Chinachoti, 1996; Lai *et al.*, 2000; Sperling, 2001) ในการเลือกใช้พารามิเตอร์ใดเป็นตัวบ่งชี้ค่า T_g ระหว่าง E' , E'' หรือ $\tan \delta$ นั้นขึ้นกับการทดลองว่าผลของการใช้ค่าใดง่ายต่อการสังเกต ให้ผลแม่นยำ คลาดเคลื่อนน้อย (Siebenmorgen *et al.*, 2004) ค่า $\tan \delta$ ถูกใช้บ่อยเพื่อหาค่า T_g เนื่องจากรูปร่างของตัวอย่างไม่มีผลต่อค่า $\tan \delta$ (Vodovotz and Chinachoti, 1996) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ค่า $\tan \delta$ ในการหาค่า T_g ของฟิล์มต่าง ๆ

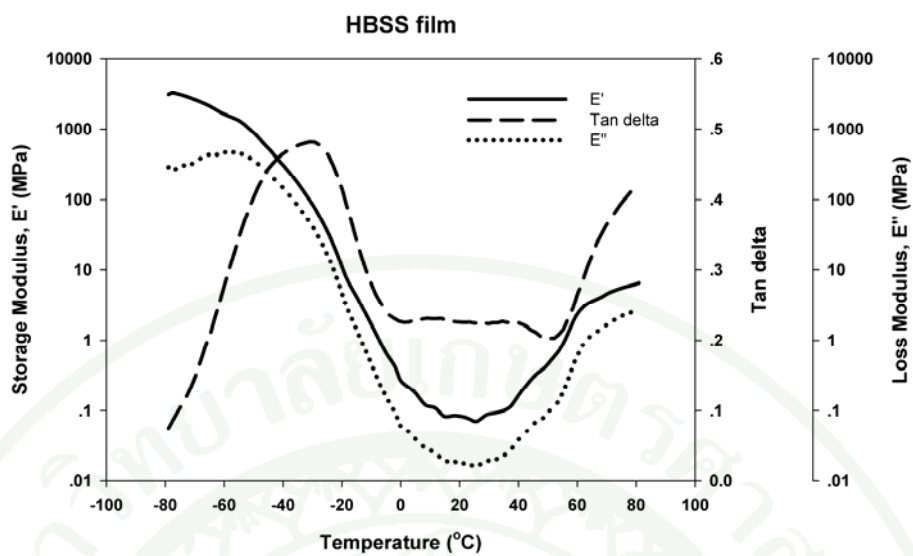
3.8.2.1 ฟิล์มจากโปรตีนเวย์และ OKP

เทอร์โมแกรมจาก DMA ของฟิล์มจากโปรตีนเวย์และ OKP แสดงดังภาพที่ 47-49 ระหว่างค่า E' ค่า E'' และ $\tan \delta$ (E''/E') กับอุณหภูมิ โดยเห็นการเปลี่ยนแปลงของค่า E' , E'' และ $\tan \delta$ ของฟิล์ม เมื่อผ่านการเปลี่ยนสถานะเนื่องจากความร้อน โดยฟิล์มมีการเปลี่ยนสถานะที่อุณหภูมิที่ค่า E' ลดลงอย่างรวดเร็ว และจุดสูงสุดของค่า E'' หรือ $\tan \delta$ ซึ่งอุณหภูมินั้นคือ ค่า T_g นั่นเอง งานวิจัยนี้เลือกใช้จุดสูงสุดของ $\tan \delta$ โดยพบว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ฟิล์ม HBSS และ ASS มีค่า T_g เท่ากับ 18.8, -27.6 และ -47.7°C ตามลำดับ (ตารางที่ 10) การที่ฟิล์มมีค่า T_g อยู่ในช่วงดังกล่าว ซึ่งมีผลทำให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่น ไม่แข็งเปราะจนแตก ที่อุณหภูมิห้อง (Chen and Lai, 2008)

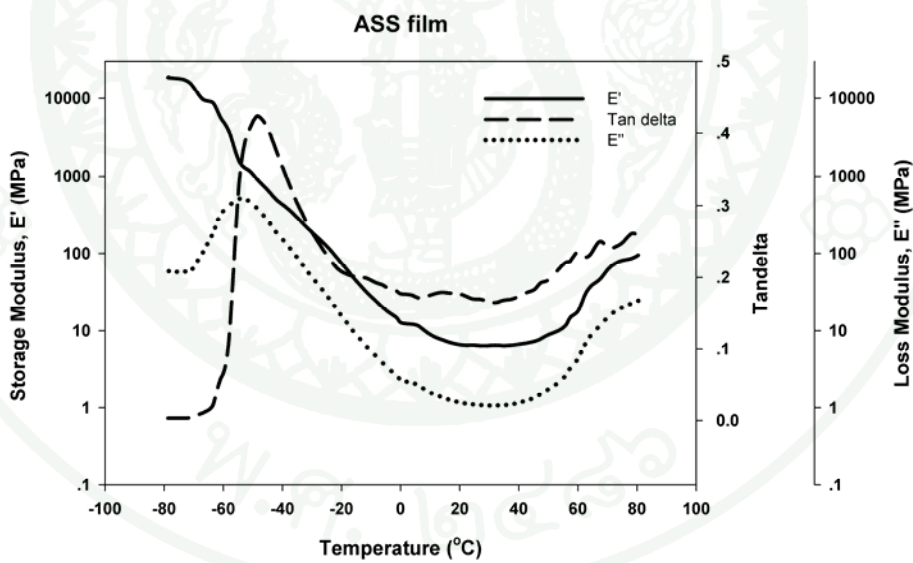
T_g ของฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีค่าสูงที่สุด (18.8 °ซ) ขณะที่เมื่อเปรียบเทียบค่า T_g ของ OKP ทั้งสองชนิด พบว่า ฟิล์ม HBSS (-27.6 °ซ) มี T_g สูงกว่าฟิล์ม ASS (-47.7 °ซ) โดยค่า T_g ของฟิล์มโปรตีนเวย์ ฟิล์ม HBSS และฟิล์ม ASS มีค่าสูงกว่า T_g ของกลีเซอรอล ($T_g = -93$ °ซ, Davies and Jones, 1953) ค่าที่ต่ำกว่านี้อาจเกิดจากส่วนของพอลิเมอร์ผสมเข้ากันได้กับกลีเซอรอล ทำให้ T_g มีค่าลดลง ปกติแล้ว ค่า T_g ของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อเติมกลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ (Labrecque *et al.*, 1999) โดยมีค่าอยู่กึ่งกลางระหว่างพอลิเมอร์และกลีเซอรอล คล้ายกับผลที่พบในการเติมกลีเซอรอลในฟิล์มจากกลูเตน และการศึกษาในระบบที่มีกลีเซอรอล โดยฟิล์ม จากกลูเตนที่เติมกลีเซอรอล มีค่าเท่ากับ -62°C ซึ่งมีค่าสูงกว่า T_g ของกลีเซอรอล (Aklonis and MacKnight 1983; Hallberg and Chinachoti 1992; Kalichevsky *et al.*, 1992)



ภาพที่ 47 DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มจากโปรตีนเวย์



ภาพที่ 48 DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มจากจาก OKP ชนิด HBSS



ภาพที่ 49 DMA เทอร์โมแกรม ของฟิล์มจากจาก OKP ชนิด ASS

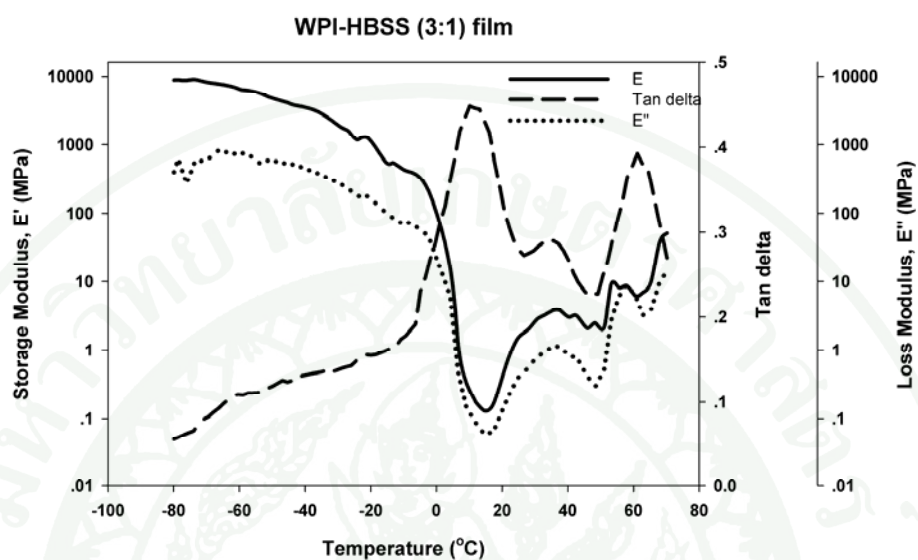
3.8.2.2 ฟิล์มผสม WPI-OKP

อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง เริ่มจาก -80 ถึง 80 °ซ แต่เนื่องจากฟิล์มจาก WPI-ASS เป็นฟิล์มที่มีความแข็งแรงต่ำ ทำให้ขณะให้แรงดึงด้วยเครื่อง DMA เมื่ออุณหภูมิที่สแกนถึง 40 °ซ ฟิล์มได้ขาดออกจากกัน ดังนั้นข้อมูลที่ได้จึงเป็นข้อมูลของอุณหภูมิ -80 ถึง 40 °ซ โดยที่เทอร์โมแกรมจาก DMA ของฟิล์มผสม WPI-OKP ที่อัตราส่วนต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 50-55 ซึ่งพบว่าฟิล์มผสม WPI-HBSS มีค่า T_g อยู่ในช่วง -13.3 ถึง 11.6 °ซ ขณะที่ฟิล์มผสม WPI-ASS มีค่า T_g อยู่ในช่วง -29.8 ถึง -19.4 °ซ โดยค่าสูงสุดของ $\tan \delta$ คือค่า T_g ของฟิล์มแต่ละชนิด นำค่าที่ได้จากแต่ละเทอร์โมแกรมเปรียบเทียบกัน และแสดงในตารางที่ 10 พบว่าค่า T_g ของฟิล์มผสมเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณโปรตีนเวย์ลดลง หรือมีปริมาณ HBSS หรือ ASS เพิ่มขึ้น โดยค่าอยู่กึ่งกลางระหว่างค่า T_g ของฟิล์มจากโปรตีนเวย์และฟิล์มจาก HBSS หรือ ASS ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว ค่า T_g ของพอลิเมอร์ผสม จะมีค่าอยู่กึ่งกลางระหว่าง T_g ของพอลิเมอร์สองชนิดที่ใช้ในการทำฟิล์มผสม (Aklonis and MacKnight 1983; Hallberg and Chinachoti 1992; Kalichevsky *et al.*, 1992)

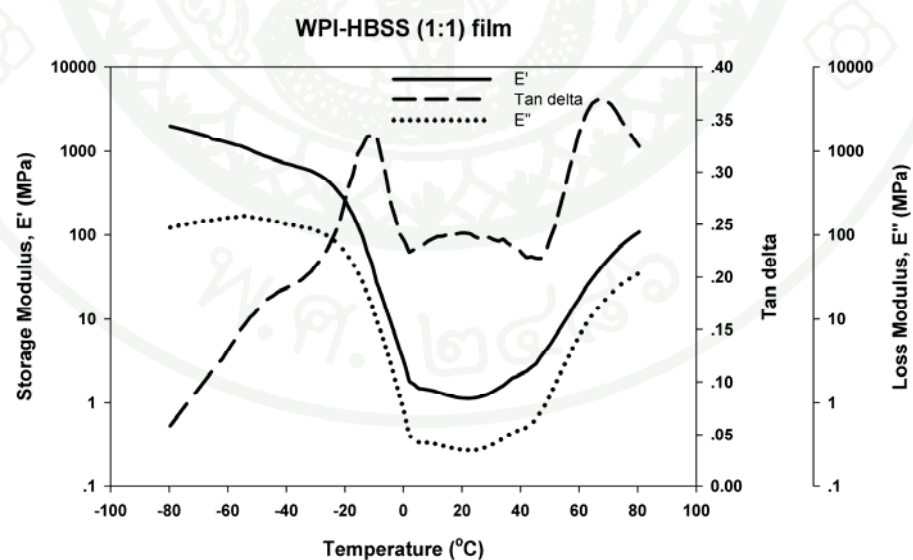
จากภาพที่ 50-52 สังเกตเห็นว่าฟิล์มจาก WPI-HBSS เกิดพีคของ $\tan \delta$ สองแห่ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติม HBSS ลงในโปรตีนเวย์อาจเกิดอันตรกิริยาบางอย่างในฟิล์มผสม และจากตารางที่ 10 พบว่าฟิล์ม WPI-HBSS ที่อัตราส่วนต่าง ๆ มีค่า T_g ค่าที่สองที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่ ฟิล์ม WPI-ASS ก็มีแนวโน้มเกิดค่า T_g ค่าที่สองที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 °ซ แต่เนื่องจากฟิล์มขาดจึงไม่มีข้อมูล (ภาพที่ 53-55)

โดยปกติสารผสมของไบโอพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้ นั้นจะแสดงค่า T_g 1 ค่าโดยค่าอยู่ระหว่าง T_g ของสารทั้งสองชนิด ในทางตรงกันข้ามสารผสมที่เข้ากันไม่ได้ เกิด phase separation จะแสดง T_g 2 ค่า โดยที่แสดง T_g ของแต่ละสาร (Kalichevsky *et al.*, 1992; Cherian *et al.*, 1995; Yuryev *et al.*, 1995) นอกจากนี้พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น (มากกว่า 50 °ซ) มีการเพิ่มขึ้นของค่า E' ซึ่งอาจเกิดจากการสูญเสียความชื้นของตัวอย่างฟิล์ม มีผลทำให้ฟิล์มมีลักษณะเป็นคล้ายแก้ว (glassy) มากขึ้น (Cherian *et al.*, 1995) ซึ่ง Li and Chien (2001) รายงานว่าสตาร์ชจากข้าวและเพกตินที่มีปริมาณเมทอกซิลสูง (high-methoxyl pectin) ปรากฏ T_g 1 ค่า ซึ่งแสดงว่าเป็นสารผสมที่เข้ากันได้ ในขณะที่สตาร์ชจากข้าวและเพกตินที่มีปริมาณเมทอกซิลต่ำ (low-methoxyl pectin) ปรากฏ T_g 2 ค่า ซึ่งแสดงว่าสารผสมเข้ากันไม่ได้ นอกจากนี้จากข้อสังเกตเป็นไปได้ว่าฟิล์มผสม WPI-HBSS ที่ปรากฏค่า T_g 2 ตำแหน่ง ค่า T_{g1} อาจจะมีอิทธิพลมาจากการเติมกลีเซอรอล ขณะที่ T_{g2} น่าจะเป็นค่า T_g ของพอลิเมอร์ ที่อุณหภูมิต่ำเป็นค่า T_g ที่มีอิทธิพลของกลีเซ

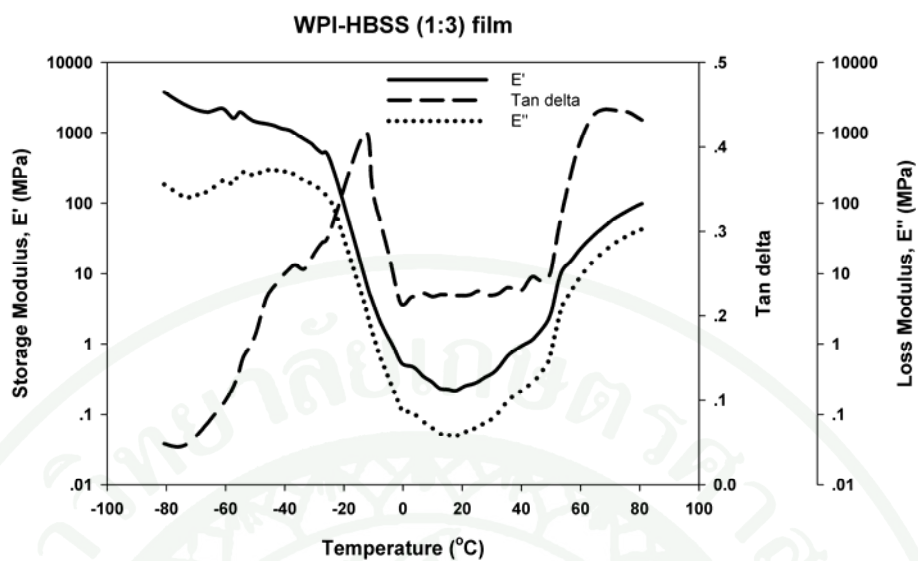
ออรอล (T_g ของกลีเซอรอลเท่ากับ -93°C) ขณะที่ T_g ที่อุณหภูมิสูงเป็นค่า T_g ของพอลิเมอร์ (Ghanbarzadeh and Oromiehi, 2008)



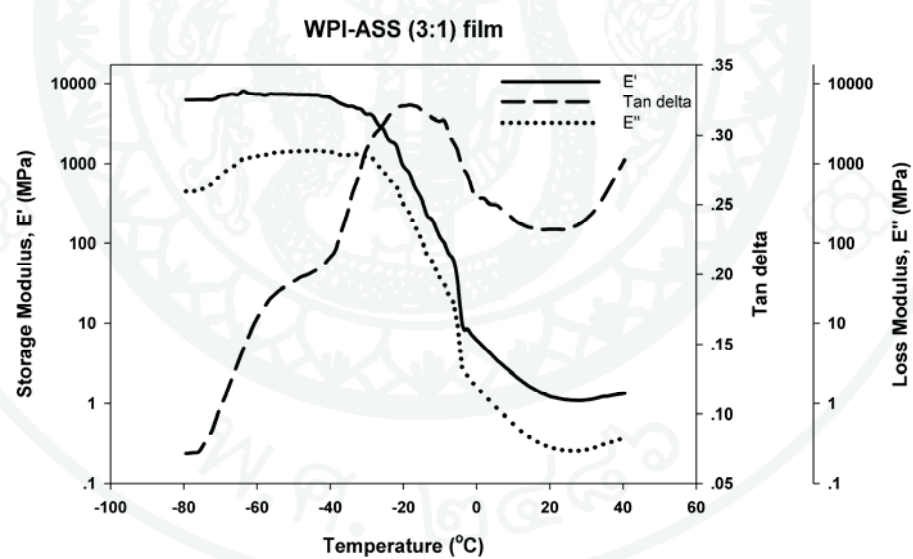
ภาพที่ 50 DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: HBSS (3:1)



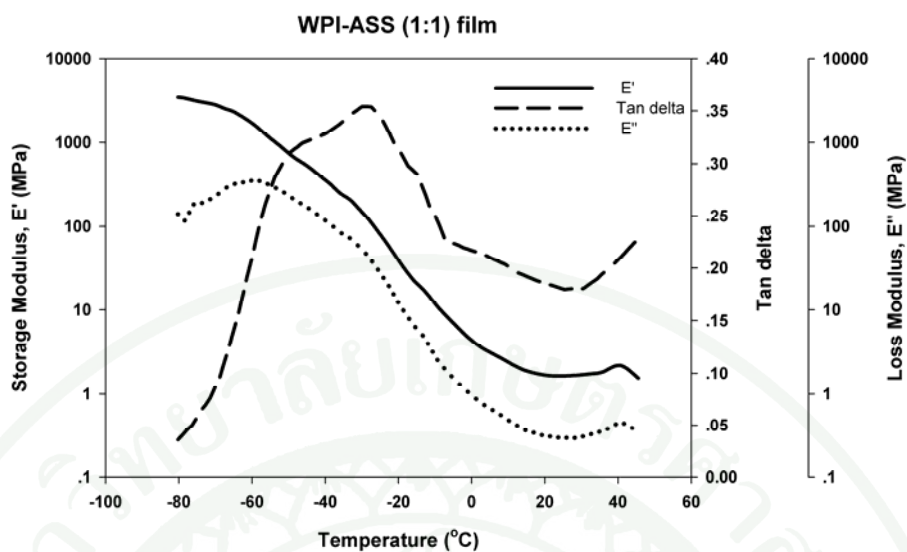
ภาพที่ 51 DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: HBSS (1:1)



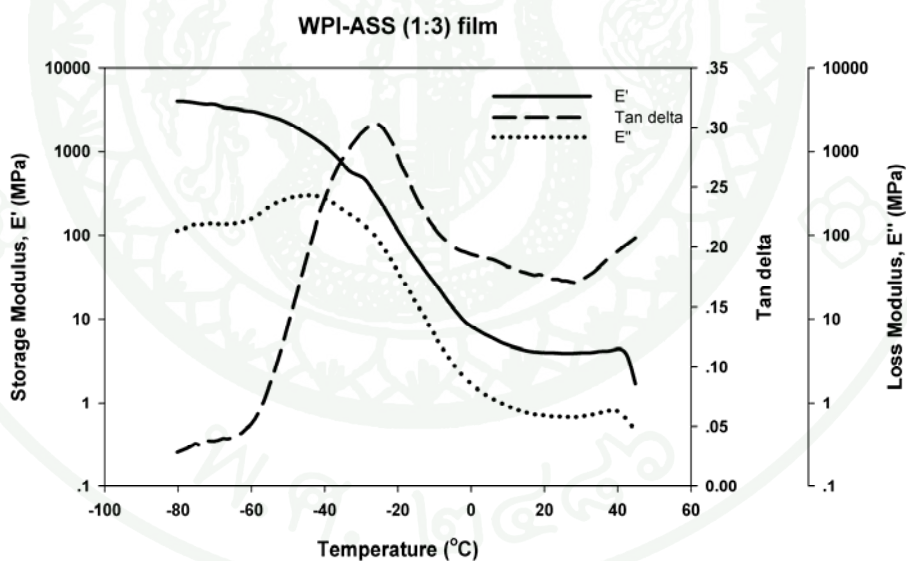
ภาพที่ 52 DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: HBSS (1:3)



ภาพที่ 53 DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: ASS (3:1)



ภาพที่ 54 DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: ASS (1:1)



ภาพที่ 55 DMA เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI: ASS (1:3)

ค่า T_g มีความสำคัญและมีประโยชน์อย่างมากต่อฟิล์มบรรจุภัณฑ์ตลอดจนอาหารทั่วไป โดยใช้ในการทำนายและเข้าใจต่อสมบัติเชิงหน้าและความคงตัวขององค์ประกอบของอาหาร ระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร (Kristo and Biliaderis, 2006) ค่า T_g ของฟิล์มเป็นค่าที่ถูกกำหนดมาจากสองปัจจัยที่สำคัญ ปัจจัยแรก ได้แก่ องค์ประกอบ

ทางเคมี และ พลาสติกไฮเซอรที่เติม ปัจจัยที่สอง ได้แก่ ลักษณะโครงสร้าง เช่น กิ่งก้านของสายพอลิเมอร์ การเชื่อมข้าม และความเป็นผลึกของพอลิเมอร์ (Rogers, 1985) สมบัติเชิงกลและการเป็นตัวป้องกันของพอลิเมอร์ ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ เป็นผลมาจากค่า T_g (Odian, 1991) ยกตัวอย่างเช่น การซึมผ่านของโมเลกุลไอน้ำและก๊าซไปยังฟิล์มมีค่าสูงขึ้นที่อุณหภูมิเหนือค่า T_g เนื่องจากสายของพอลิเมอร์มีการเคลื่อนที่มากขึ้น (Cherian *et al.* 1995; Ghanbarzadeh and Oromiehi, 2008)

ดังนั้นจากตารางที่ 10 พบว่าฟิล์มจาก WPI-HBSS มีค่า T_g สูงกว่าฟิล์มจาก WPI-ASS และการเติม HBSS ลงในฟิล์มโปรตีนเวย์ มีผลทำให้ค่า T_g สูงกว่าการเติม ASS ซึ่งการที่ T_g สูงขึ้นอาจส่งผลที่ดีต่อฟิล์ม โดยที่เมื่อค่า T_g สูงขึ้นทำให้ฟิล์มมีสมบัติในการป้องกันความชื้นและก๊าซออกซิเจนได้ดีขึ้น (จากผลการทดลองหัวข้อ 3.2 และ 3.3) โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kalichevsky *et al.* (1992) พบว่าการแทนที่กลีเซอรอลบางส่วนด้วยซูโครสเพื่อใช้เป็นพลาสติกไฮเซอรในฟิล์มจากกลูเตน พบว่าซูโครสมิผลทำให้ค่า T_g ของฟิล์มสูงขึ้น ส่งผลทำให้ฟิล์มสามารถป้องกันความชื้นได้ดีขึ้น ขณะที่ Ghanbarzadeh and Oromiehi (2008) รายงานว่า การแทนที่กลีเซอรอลด้วยน้ำมันมะกอกมีผลทำให้ค่า T_g ของฟิล์มโปรตีนเวย์สูงขึ้น ทำให้ฟิล์มมีสมบัติป้องกันความชื้นดีขึ้น

ตารางที่ 10 Glass transition temperatures (T_g) และ ค่า Tan δ สูงสุด ณ จุดเกิดการเปลี่ยนสถานะ
คล้ายแก้วของฟิล์ม จาก DMA เทอร์โมแกรม

WPI:OKP	T_{gl} ($^{\circ}\text{C}$)	Max. Tan δ	T_{g2} ($^{\circ}\text{C}$)	Max. Tan δ
WPI:HBSS				
1:0	18.8 ± 3.3^f	0.5 ± 0.1^c	-	-
3:1	11.6 ± 1.3^e	0.5 ± 0.1^{bc}	65.2 ± 3.3^a	0.4 ± 0.1^a
1:1	-10.0 ± 1.8^d	0.4 ± 0.1^{abc}	67.8 ± 1.1^a	0.4 ± 0.0^a
1:3	-13.3 ± 0.4^d	0.5 ± 0.1^{bc}	67.3 ± 2.7^a	0.4 ± 0.0^a
0:1	-27.6 ± 5.1^b	0.4 ± 0.1^{abc}	-	-
WPI:ASS				
3:1	-19.4 ± 0.9^c	0.4 ± 0.1^{abc}	-	-
1:1	-29.8 ± 2.0^b	0.4 ± 0.1^{abc}	-	-
1:3	-25.6 ± 2.4^b	0.3 ± 0.1^{ab}	-	-
0:1	-47.7 ± 0.7^a	0.3 ± 0.1^a	-	-

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความ
เชื่อมั่น 95%

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียว (OKP) ด้วยวิธีแบบตามลำดับ ด้วยบัฟเฟอร์ร้อน (0.05 M acetate buffer pH 5.2 อุณหภูมิ 70 °ซ) ตามด้วยเบสเจือจาง (0.05 M NaOH อุณหภูมิ 5 °ซ) ได้ OKP ชนิดที่ละลายในบัฟเฟอร์ร้อน (hot buffer soluble solid; HBSS) และ ชนิดที่ละลายในเบส (alkaline soluble solid; ASS) ที่มีผลได้เทียบกับน้ำหนักผักสดเท่ากับ 0.96% และ 0.45% ตามลำดับ OKP ชนิด HBSS มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต เมทานอล degree of methylation และ โปรตีน สูงกว่า ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่ ASS มีปริมาณกรดยูโรไนค์สูงกว่า HBSS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. การศึกษาผลของปริมาณกลีเซอรอลที่มีต่อสมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก HBSS และ ASS พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณกลีเซอรอลมีผลทำให้แรงต้านทานการดึงขาดและความแข็งของฟิล์ม HBSS และ ASS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่การยืดตัว และความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนของฟิล์มทั้งสองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ฟิล์ม HBSS มีแรงต้านทานการดึงขาด การยืดตัว มีสมบัติเป็นตัวป้องกันไอน้ำและก๊าซออกซิเจนดีกว่าฟิล์ม ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่ฟิล์ม ASS มีความแข็งกว่าฟิล์มจาก HBSS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. การศึกษาผลของ pH 3, 5, 7 และ 9 ที่มีต่อสมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก HBSS และ ASS พบว่าที่สภาวะเป็นกรดถึงเป็นกลาง (pH 3, 5 และ 7) ค่าแรงต้านทานการดึงขาดและความแข็งของฟิล์มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าสูงสุดที่ pH 7 และลดลงที่ pH 9 ขณะที่การยืดตัวของฟิล์มลดลงที่ pH 3 และ 5 และเมื่อ pH เพิ่มขึ้นจาก 3 เป็น 5 และ 7 ทำให้ค่าความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่าที่ pH 7 เป็น pH เหมาะสมที่สุดในการขึ้นรูปฟิล์ม HBSS เนื่องจากให้ค่าแรงต้านทานการดึงขาด และการยืดตัวสูงสุด และมีการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนต่ำสุด

4. การศึกษาผลของแคลเซียมไอออนที่ระดับ 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ไมโครโมลาร์ที่มีต่อสมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก HBSS และ ASS พบว่า การเติมแคลเซียมไอออนมีผลทำให้แรงต้านทานการดึงขาดและความแข็งของฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่การยืดตัว และการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่า การเติมแคลเซียมไอออนมีผลทำให้ฟิล์ม HBSS มีความแข็งแรงและมีความยืดหยุ่นสูงกว่าฟิล์ม ASS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบว่าการใช้แคลเซียมไอออนที่ระดับ 1,500 ไมโครโมลาร์เหมาะสมที่สุดในการปรับปรุงคุณสมบัติของฟิล์ม เนื่องจากให้ค่าแรงต้านทานการดึงขาด และการยืดตัวสูงสุด และค่าการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนต่ำสุด

5. การศึกษาผลของ OKP ที่มีต่อสมบัติการดึง ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน สมบัติการมองเห็น ลักษณะโครงสร้างขนาดอนุภาค และค่า T_g ของฟิล์มผสมระหว่างโปรตีนเวย์และ OKP พบว่า การเติม HBSS และ ASS ในการขึ้นรูปฟิล์มจากโปรตีนเวย์ (WPI) มีผลทำให้ความแข็งแรง และความแข็งของฟิล์มผสมลดลง ($p < 0.05$) ขณะที่การยืดตัวของฟิล์มผสมระหว่าง OKP-WPI และการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มผสมสูงขึ้น ($p < 0.05$) ฟิล์ม WPI-HBSS มีค่าการซึมผ่านของไอน้ำสูงกว่าฟิล์มจาก WPI หรือ HBSS ($p < 0.05$) ในขณะที่การเติม HBSS มีผลทำให้ฟิล์ม WPI-HBSS มีค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่าฟิล์มจาก WPI หรือ HBSS ($p < 0.05$) และในทางตรงกันข้ามการเติม ASS ทำให้ฟิล์มผสมมีค่าการซึมผ่านของออกซิเจนสูงขึ้น ($p < 0.05$)

การใช้ OKP แทนกลีเซอรอลบางส่วนสามารถทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนของฟิล์มโปรตีนเวย์ต่ำลง เมื่อเทียบกับการเติมกลีเซอรอลเพียงอย่างเดียว โดยที่ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มี HBSS+Gly และ ASS+Gly มีการซึมผ่านของไอน้ำต่ำกว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มี Gly เพียงอย่างเดียวถึง 46% และ 35% ตามลำดับ ในขณะที่ ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มี HBSS+Gly และ ASS+Gly มีการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำกว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ที่มี Gly เพียงอย่างเดียวถึง 84% และ 55% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความแข็งแรงของฟิล์มใกล้เคียงกัน ซึ่งการที่ฟิล์มมีความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนต่ำเป็นสมบัติที่เป็นที่ต้องการของฟิล์มบรรจุได้หลาย ๆ ชนิดที่ใช้กับอาหาร

เมื่อเติม OKP ในฟิล์มผสม WPI-OKP มีผลทำให้ค่าความสว่าง (L^*) และค่าความเงา ลดลง ($p < 0.05$) ขณะที่ค่าสีเหลือง (b^*) และ ค่าความทึบแสงของฟิล์มผสมสูงขึ้น ($p < 0.05$) จาก ภาพถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าสอดคล้องกับผลของค่าความทึบแสงและค่า ความเงาของฟิล์มผสม โดยพบว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์มีเนื้อฟิล์มอัดแน่น เรียบ และสม่ำเสมอ บ่งบอกว่าส่วนผสมของฟิล์มโปรตีนเวย์เข้ากันได้ดี จึงมีความโปร่งแสงและความเงาสูง และเมื่อเติม OKP ในฟิล์มผสม ทำให้พื้นผิวของฟิล์มมีความขรุขระมากขึ้น ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ส่งผลทำให้ค่า ความทึบแสงสูงขึ้น และค่าความเงาลดลง และพบว่าเนื้อฟิล์มผสมของ WPI-HBSS มีโครงสร้างที่ อัดแน่น เรียบ ไม่มีรอยแตก เมื่อเทียบพบ ฟิล์มผสม WPI-ASS ซึ่งสอดคล้องผลของความสามารถ ในการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจน ที่พบว่าฟิล์มจาก WPI-HBSS มีสมบัติในการเป็นตัวป้องกัน ไอน้ำและออกซิเจนที่ดีกว่า

การหาค่า T_g ของฟิล์มผสม WPI-OKP ด้วย DSC พบว่า ค่า T_g อยู่ในช่วง -11.8 ถึง -12.6 °C ส่วนการหาค่า T_g ด้วย DMA พบว่า ฟิล์มจากโปรตีนเวย์ ฟิล์ม HBSS และ ASS มีค่า T_g เท่ากับ 18.8 , -27.6 และ -47.7 °C ตามลำดับ และพบว่าฟิล์มผสม WPI-HBSS ปรากฏค่า T_g 2 ค่าโดย ที่ค่า T_{g1} อยู่ในช่วง -13.3 ถึง 11.6 °C ค่า T_{g2} ไม่แตกต่างกันทางสถิติคือประมาณ 65.2 ถึง 67.8 °C ขณะที่ฟิล์มผสม WPI-ASS มีค่า T_g อยู่ในช่วง -29.8 ถึง -19.4 °C

ข้อเสนอแนะ

1. เพื่อยืนยันผลการเกิด Phase separation ระหว่างฟิล์มโปรตีนเวย์และ HBSS ในฟิล์มผสม ควรทำการย้อมสีและส่องด้วยกล้อง confocal microscope

2. การวัดค่า T_g ด้วยเครื่อง DMA ควรควบคุมความชื้นของเครื่อง เพื่อควบคุมปัจจัยที่อาจ เกิดการการสูญเสียความชื้นของฟิล์มที่อุณหภูมิสูง ซึ่งการวัดที่อุณหภูมิต่ำกว่าศูนย์ค่า T_g ที่ได้อาจมี อิทธิพลมาจากกลีเซอรอลที่เติมลงไปในฟิล์ม ขณะที่ค่า ของพอลิเมอร์จริง ๆ ควรมีค่ามากกว่า 80 แต่เนื่องจากเครื่อง DMA ที่ใช้ไม่สามารถควบคุมความชื้นได้ ทำให้ฟิล์มขาดเมื่อใช้อุณหภูมิสูง หรือ อาจใช้ shear mode เพื่อหาค่า T_g แทนการใช้ tension mode แต่เนื่องจากฟิล์มมีความหนาต่ำ คือ ประมาณ 0.1 มิลลิเมตร ทำให้ไม่สามารถใช้หัววัด shear mode โดยหัววัดดังกล่าวกำหนดค่าความ หนาต่ำสุดของตัวอย่างที่สามารถวัดได้ คือ 5-8 มิลลิเมตร

3. ภาพถ่ายจากกล้องอิเล็กทรอนิกส์แบบส่องกราดเป็นการใช้ที่ 15 กิโลวัตต์ ทำให้ขยายภาพได้สูงสุดที่ 700 เท่า ซึ่งถ้าใช้กำลังขยายสูงกว่านั้นทำให้ตัวอย่างฟิล์มแตก ทำให้เห็นรายละเอียดของภาพไม่ชัดเท่าที่ควร ดังนั้นอาจลดกำลังในการส่อง โดยลดจาก 15 กิโลวัตต์ เป็น 10 กิโลวัตต์



เอกสารและสิ่งอ้างอิง

มณฑาทิพย์ ชุ่มฉลาด. 2535. ฟิล์มและสารเคลือบที่รับประทานได้. **อาหาร**. 22: 1-6.

วชิราภรณ์ หมั่นเพียร. 2549. การดัดแปรพอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจียบเขียวด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และเอทิลเอมีน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Ahmed, E.R.A. and J. M. Labavitch. 1977. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. **J. Food Biochem.** 1: 361-365.

Aklonis, J.J. and W.J. MacKnight. 1983. Transitions and relaxation in amorphous polymers, pp. 57-84. In J.J. Aklonis and W.J. MacKnight, eds. **Introduction to Polymer Viscoelasticity**. John Wiley & Sons, New York.

Aladesanwa, R.D. 2005. Screenhouse evaluation of atrazine for soil residual activity on growth, development and nutritional quality of okra (*Abelmoschus esculentus* Moench) in southwestern Nigeria. **Crop Protection**. 24: 927-931.

Åman , P. and E. Westerlund. 1996. Cell wall polysaccharides: structural, chemical, and analytical aspects, pp. 191-226. In A.C. Eliasson, ed. **Carbohydrates in Food**. Marcel Dekker, New York.

AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed. W, Horwitz ed. **Association of Official Analytical Chemists**. Gaithersburg, MD. USA.

ASTM. 1995. **Annau Book of ASTM**. American Society for testing and Materials, Philadelphia.

_____. 1997. **Annau Book of ASTM**. American Society for testing and Materials, Philadelphia.

- ASTM. 1999. **Annau Book of ASTM**. American Society for testing and Materials, Philadelphia.
- _____. 2000. **Annau Book of ASTM**. American Society for testing and Materials, Philadelphia.
- Avena-Bustillos, R. and J.M. Krochta. 1993. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content. **J Food Sci.** 58: 904-907.
- Ayranci, E., B.S Buyuktas and E.E. Cetin. 1997. The effect of molecular weight of constitues on properties of cellulose-based edible films. **LWT.** 30: 101-104.
- Ayranci, E. and S. Tunc. 2003. A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. **Food Chem.** 80: 423-431.
- Baht, U.S. and R.N. Tharathan. 1987. Functional properties of okra (*Hibiscus esculentus*) mucilage. **Starch/starke** 39: 165-167.
- Banker, G.S. 1966. Film coating theory and practice. **J. Pharmaceutical Sci.** 55: 81-89.
- Beerler, A.D. and D.C. Finney. 1983. Plasticizers. In C.A. Sperati, ed. **Modern Plastics Encyclopedia**. McGraw-Hill, NewYork.
- BeMiller, J.N., R.L. Whistler and D.G. Barbalow. 1993. Aloe, China, flexseed, okra, psyllium seed, quince seed, and tamarind gums. In L.W. Roy and J.N. BeMiller, eds. **Industrial Gums Polysaccharide and their Derivatives**. Academic Press, Inc., San Diago.

- Bosquez-Molina, E., S.A. Tomas and M.E. Rodriguez-Huezo. 2010. Influence of CaCl_2 on the water vapor permeability and the surface morphology of mesquite gum based edible films. **LWT - Food Sci. and Technol.** 43: 1419-1425.
- Brindle, L.P. and J.M. Krochta. 2008. Physical properties of whey protein-hydroxypropylmethylcellulose blend edible films. **J. Food Sci.** 73: E446-E454.
- Brummer, Y. and S.W. Cui. 2005. Understanding carbohydrate analysis. In S.W. Cui. ed. **Food Carbohydrates Chemistry, Physical Properties, and Application**. CRC Press, New York.
- Cao, Y.M. and K.C. Chang. 2002. Edible films prepared from water extract of soybeans. **J. Food Sci.** 67: 1449-1454.
- Carneiro-da-Cunha, M.G., M.A. Cerqueira, B.W.S. Souza, M.P. Souza, J.A. Teixeira and A. A. Vicente. 2009. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **J. Food Eng.** 95: 379-385.
- Carpita, N.C. and D.M. Gibeaut 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: Consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **Plant J.** 3:1-30.
- Center for New Crops and Plant Products, Purdue University. 2010. **Okra**. Available source: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/Crops/okra.html>, Nov 05, 2010.
- Chen, C.H. and L.S. Lai. 2008. Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films in the presence of plasticizer. **Food Hydrocolloids** 22: 1584-1595.

- Cheng, L.H., A.A. Karin and C.C. Seow. 2006. Effect of water-glycerol and water sorbitol interactions on the physical properties of Konjac glucomannan films. *J. Food Sci.* 71: E62-E67.
- Cherian, G., A. Gennadios, C. Weller and P. Chinachoti. 1995. Thermomechanical behavior of wheat gluten films: effect of sucrose, glycerin, and sorbitol. *Cereal Chem.* 72: 1-6.
- Ciesla, K., S. Salmieri and M. Lacroix. 2006. Modification of the properties of milk protein films by gamma radiation and polysaccharide addition. *J. Sci. Food Agric.* 86: 908-914.
- Coughlan, K., N.B. Shaw, J.F. Kerry and J.P. Kerry. 2004. Combined effect of protein and polysaccharides on physical properties of whey protein concentrate-based edible films. *J. Food Sci.* 69: E271-E275.
- Dangaran, K. and J.M. Krochta. 2008. Whey protein films and coatings. In C.I. Onwulata and P. K. Huth, eds. **Whey Processing, Functionality and Health Benefits**. Blackwell Publishing, Iowa.
- Davies, R.O. and G.O. Jones. 1953. Thermodynamic and kinetic properties of glasses. *Adv Phys.* 2: 370-410.
- Debeaufort, F. and A. Voilley. 1994. Aroma compound and water vapor permeability of edible films and polymeric packagings. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2871-2875.
- de Kruif, C.G. and R. Tuinier. 2001. Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloids.* 15: 555-563.
- Deters, A.M., C. Lengsfeld and H. Andreas. 2005. Oligo- and polysaccharides exhibited a structure-dependent bioactivity on human keratinocytes in vitro. *J. Ethnopharm.* 102: 391-399.

- Dickinson, E. 1998. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. **Trends Food Sci. Technol.** 9: 347-354.
- _____. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed system. **Food Hydrocolloids**. 17: 25-39.
- Di Pierro P., B. Chico, R. Villalonga, L. Mariniello, A.E. Damiao, P. Masi and R. Porta. 2006. Chitosan-whey protein edible films produced in the absence or presence of transglutaminase: analysis of their mechanical and barrier properties. **Biomacromolecules** 7: 744-749.
- Donhowe, I.G. and O. Femmema. 1993. The effect of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. **J. Food Processing Preservation** 17: 247-257.
- Fabra, M.J., P. Talens and A. Chiralt. 2010. Influence of calcium on tensile, optical and water vapour permeability properties of sodium caseinate edible films. **J. Food Eng.** 96: 356-364.
- _____, P. Talens and A. Chiralt. 2009. Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. **Food Hydrocolloids** 23: 676-683.
- Fernandez, L, E.D. de Apodaca, M. Cebrian, M.C. Villaran and J.I. Mate. 2007. Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. **European Food Res. Technol.** 224: 415-420.
- Ercelebi, E.A. and E. Ibanoglu. 2007. Influence of hydrocolloids on phase separation and emulsion properties of whey protein isolate. **J. Food Eng.** 80: 454-459.

- Ferreira, C.O., C.A. Nunes, I. Delgadillo and J.A. Lopes-da-Silva. 2009. Characterization of chitosan-whey protein films at acid pH. **Food Res. Inter.** 42: 807-813.
- Fraeye, I., A. De Roeck, T. Duvetter, I. Verlent, M. Hendrickx and A. Van Loey. 2007. Influence of pectin properties and processing conditions on thermal pectin degradation. **Food Chem.** 105: 555-563.
- Fügel, R., R. Carle and A. Schieber. 2004. A novel approach to quality and authenticity control of fruit products using fractionation and characterisation of cell wall polysaccharides. **Food Chem.** 87: 141-150.
- Gennadios, A. 2002. **Protein-Based Films and Coatings**. CRC press LLC, New York.
- _____, A.H. Brandenburg, C.L. Weller and R.F. Testin. 1993. Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. **J. Agric. Food Chem.** 41: 1835-1839.
- _____, C.L. Weller, M.A. Hanna and G.W. Froning. 1996. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **J. Food Sci.** 61: 585-589.
- Ghanbarzadeh, B. and A. R. Oromiehi. 2008. Studies on glass transition temperature of mono and bilayer protein films plasticized by glycerol and olive oil. **J. of Applied Polym Sci.** 109: 2848–2854.
- Giancone, T., E. Torrieri, P. Masi and C. Michon. 2009. Protein-polysaccharide interactions: phase behaviour of pectin-soy flour mixture. **Food Hydrocolloids** 23: 1263-1269.
- Gontard, N. and S. Guilbert. 1994. Biopackaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. *In* M. Mathlouthi, ed. **Food Packaging and Preservation**. Blackie Academic & Professional, London.

- Gontard, N., S. Guilbert and J.L. Cuq. 1993. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **J. Food Sci.** 58: 206-211.
- Gounga, M., S. Xu and Z. Wang. 2007. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. **J. Food Eng.** 83: 521-530.
- Guilbert S. 1986. Technology and application of edible protective films, pp. 371-394. *In* M. Mathlouthi, ed. **Food Packaging and Preservation: Theory and Practice**. Elsevier Applied Science Publishers, New York.
- _____, S. and B. Biquet. 1996. Edible films and coatings, pp. 315-353. *In* G. Bureau and J.L. Multon, eds. **Food Packaging Technology**. VCH Publishers, Inc., New York
- Hallberg, L.M. and P. Chinachoti. 1992. Dynamic mechanical analysis for glass transitions in long shelf-life bread. **J. Food Sci.** 57: 1-5.
- Hamaguchi, P.Y., W. WuYin and M. Tanaka. 2007. Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins of Blue marlin (*Makaira mazara*). **Food Chem.** 100: 914-920.
- Han, J.H. and A. Gennadios. 2005. Edible films and coatings : a review, pp. 239-262. *In* J.H. Han, ed. **Innovations in Food Packaging**. Elsevier academic press, San Diego.
- Hilz, H., E.J. Bakx, H.A. Schols and A.G.J. Voragen. 2005. Cell wall polysaccharides in black currants and bilberries-characterisation in berries, juice, and press cake. **Carbohydrate Polym.** 59: 477-488.

- Hirose, K., K. Endo and K. Hasegawa. 2004. A convenient synthesis of lepidimoides from okra mucilage and its growth-promoting activity in hypocotyls. **Carbohydrate Res.** 339: 9-19.
- Hodge, J.E. and B.T. Hofreiter. 1962. Determination of reducing sugars and carbohydrates, pp. 388-389. *In* R.L. Whistler, M.L. Wolfrom, eds. **Methods in Carbohydrate Chemistry vol. I: Analysis and Preparation of Sugars.** Academic Press, New York.
- Hopkins, W.G. and M.P.A. Hüner. 2004. Cell, tissues, and organs: the architecture of plants. *In* eds. **Introduction to plant physiology.** John Wiley & Sons Inc., Denver.
- Hutchings, J.B. 1999. **Food Colour and Appearance.** Aspen Publisher, Maryland.
- Jagannath, J.H., C. Nanjappa, D.K.D. Gupta and A.S. Bawa. 2003. Mechanical and barrier properties of edible starch-protein-based films. **J. Applied Polym. Sci.** 88: 64-71.
- Jara, F.L. and A.M.R. Pilosof. 2009. Glass transition temperature of protein/polysaccharide co-dried mixtures as affected by the extent and morphology of phase separation. **Thermochim. Acta.** 487: 65-73.
- Kalichevsky, M.T., E.M. Jaroszkiewicz and J.M.V. Blanshard. 1992. Glass transition of gluten. 1. Gluten and gluten-sugar mixtures. **Int. J. Biol. Macromolecules** 14: 257-266.
- Kang, H.J., C. Jo, N.Y. Lee, J.H. Kwon and M.W. Byun. 2005. A combination of gamma irradiation and CaCl_2 immersion for a pectin-based biodegradable film. **Carbohydrate Polym.** 60: 547-551.
- Kigle-Boeckler, G. 1999. Surface smoothness and its influence on paint appearance. How to measure and control it?, pp. 103-111. *In* M.H. Ronald, ed. **Coloring Technology for Plastics.** William Andrew Publishing, New York.

- Kim, K.M., J.H. Son, S.K. Kim, C.L. Weller and M.A. Hanna. 2006. Properties of chitosan films as a function of pH and solvent type. **J. Food Sci.** 71: E119-E124.
- Kim, K.W., C.J. Ko and H.J. Park. 2002. Mechanical properties, water vapor permeabilities and solubilities of highly carboxymethylated starch-based edible films. **J. Food Sci.** 67: 218-222.
- Klavones, J.A. and R.D. Bennett. 1986. Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl ester content of pectins. **J. Agric. Food Chem.** 34: 597-599.
- Kristo, E. and C.G. Biliaderis. 2006. Water sorption and thermo-mechanical properties of water/sorbitol-plasticized composite biopolymer films: Caseinate-pullulan bilayers and blends. **Food Hydrocolloids** 20: 1057-1071.
- Krochta, J.M. 2002. Proteins as raw materials for films and coatings: Definition, current, status, and opportunities, pp. 1-41. In A. Gennadios, ed. **Protein-Based Films and Coatings**. CRC press LLC, New York
- _____, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo. 1994. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. Technomic publishing Co., Inc., Pennsylvania.
- Laaksonen, T.J., T. Kuuva, K. Jouppila and Y.H. Roos. 2002. Effects of arabinoxylans on thermal behavior of frozen wheat doughs as measured by DSC, DMA, and DEA. **J. Food Sci.** 67: 223-229.
- Labrecque, L.V., R.A. Kumar, V. Dave, R.A. Gross and S.P. McCarthy. 1997. Citrate esters as plasticizer for poly (lactic acid). **J. Applied Polym. Sci.** 66: 1507-1513.

- Lacroix, M. 2009. Mechanical and permeability properties of edible films and coatings for food and pharmaceutical applications, pp. 347-366. In M.E. Embuscado and K.C. Huber, eds. **Edible Films and Coatings for Food Applications**. Springer Science, New York.
- _____ and K. Cooksey. 2005. Edible films and coatings from animal-origin protein, pp. 301-317. In J.H. Han, ed. **Innovations in Food Packaging**. Elsevier academic press, San Diego.
- Lai Y.C., P.H. Sung and J.T. Chien. 2000. Evaluation of compatibility of rice starch and pectins by T_g and sub- T_g endotherms and the effect of compatibility on gel viscosity and water loss. **Cereal Chem.** 77: 544-550.
- Lengsfeld, C., F. Titgemeyer, G. Faller and A. Hensel. 2004. Glycosylated compounds from okra inhibit adhesion of helicobacter pylori to human gastric mucosa. **J. Agric. Food Chem.** 52: 1495-1503.
- Letendre, M., G.D. Aprano, M. Lacroix, S. Salmieri and D. St-Gelais. 2002. Physicochemical properties and bacterial resistance of biodegradable milk protein films containing agar and pectin. **J. Agric. Food Chem.** 50: 6017-6022.
- Li, B., J.F. Kennedy, Q.G. Jiang and B.J. Xie. 2006. Quick dissolvable, edible and heatsealable blend films based on konjac-glucomannan-Gelatin. **Food Res. Int.** 39: 544-549.
- Li, T.Y. and J.T. Chien. 2001. Evaluation of rice starch-hydrocolloid compatibility at low-moisture content by glass transitions. **J. Food Sci.** 66: 698-704.
- Lieberman, E.R. and S.G. Gilbert. 1973. Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture, and plasticizer content. **J. polym. Sci. Symposium** 41: 33-43.

- Lim, L., Y. Mine, I.J. Britt and M.A. Tung. 2002. Formation and properties of egg white films and coatings, pp. 233-252. *In* A. Gennadios, ed. **Protein-Based Films and Coatings**. CRC press LLC, New York.
- Lopez-Caballero, M.E., M.C. Gomez-Guillen, M. Perez-Mateos and P. Montero. 2005. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. **Food Hydrocolloids** 19: 303–311.
- Magnin, D. and S. Dumitriu. 2005. Interactions between polysaccharides and polypeptides, *In* P.F. Hans, ed. **Polysaccharides Structural Diversity and Functional Versatility**. Marcel Dekker, New York.
- Manderson G.A., L.K. Creamer and M.J. Hardman. 1999. Effect of heat treatment on the circular dichroism spectra of bovine beta-lactoglobulin a, b and c. **J. Agric. Food Chem.** 47: 4557-4567.
- McHugh, T.H., J.F. Aujard and J.M. Krochta. 1994. Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. **J. Food Sci.** 59: 416-419.
- _____, R. Avena-Bustillos and J.M. Krochta. 1993. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. **J. Food Sci.** 58: 899-903.
- _____ and J.M. Krochta. 1994 Sorbital-versus glycerol-plasticized edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **J. Agric. Food Chem.** 42: 841-845.
- Menard, K.P. 2008. **Dynamic Mechanical Analysis : A Practical Introduction**. 2nd ed. CRC Press, New York.

- Mesbahi, G., J. Jamalain and A. Farahnaky. 2005. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. **Food Hydrocolloids** 19: 731-738.
- Miller, K.S. and J.M. Krochta. 1997. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. **Trends Food Sci. Technol.** 8: 228-237.
- Ndjouenkeu, R., F.M. Goycoolea, E.R. Morrisa and J.O. Akingbala. 1996. Rheology of okra (*Hibiscus esculentus* L.) and dika nut (*Irvingia gabonensis*) polysaccharides. **Carbohydrate Polym.** 29: 263-269.
- Nieto, M.B. 2009. Structure and function of polysaccharide gum-based edible films and coatings, pp. 57-112. In M.E. Embuscado and K.C. Huber, eds. **Edible Films and Coatings for Food Applications**. Springer Science, New York.
- Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coatings and films based on polysaccharides, pp. 305-336. In J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo, eds. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. Technomic publishing Co., Inc., Pennsylvania.
- Odian, G. 1991. **Principles of Polymerization**. John Wiley & Sons, New York.
- Olivas, G.I. and G.V. Barbosa-Canovas. 2008. Alginate-calcium films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. **LWT. - Food Sci. Technol.** 41: 359-366.
- O'Neill, M.A., S. Eberhard, P. Albersheim and A.G. Darvill. 2001. Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth. **Science** 294: 846-849.

- O'Neill, M.A., T. Ishii, P. Albersheim and A.G. Darvill. 2004. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectin polysaccharide. **Annu. Rev. Plant Bio.** 55: 109-139.
- Oses, J., M. Fabregat-Vazquez, R. Pedroza-Islas, S.A. Tomas, A. Cruz-Orea and J.I. Mate. 2009. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. **J. Food Eng.** 92: 56-62.
- Park, H.J., C.L. Weller, P.J. Vergano and R.F. Testin. 1993. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. **J. food Sci.** 58: 1361-1364.
- Park, S.K., C.O. Rhee, D.H. Bae and N.S. Hettiarachchy. 2001. Mechanical properties and water-vapor permeability of soy-protein films affected by calcium salts and glucono- δ -lactone. **J. Agric. Food Chem.** 49: 2308-2312.
- Park, S.Y., K.S. Marsh and J.W. Rhim. 2002. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. **J. Food Sci.** 67: 194-197.
- Parris, N. and D.R. Coffin. 1997. Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic zein films. **J. Agric. Food Chem.** 45: 1596-1599.
- Pérez-Gago, M.B and J.M. Krochta. 1999. Water vapor permeability of whey protein emulsion films as affected by pH. **J. Food Sci.** 64: 695-698.
- _____ and _____. 2002. Formation and properties of whey protein films and coatings. In Gennadios, A., eds. **Protein-Based Films and Coatings**. CRC press LLC, New York.

- Pérez-Gago, M.B and J.M. Krochta. 2001a. Denaturation time and temperature effects on oxygen permeability, film solubility and tensile properties of whey protein edible films. **J. Food Sci.** 66: 705-710.
- _____ and _____. 2001b. Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein-beeswax emulsion films. **J. Agric. Food Chem.** 49: 996-1002.
- Quiroga, C. and B. Bergenståhl. 2007. Characterization of the microstructure of phase segregated amylopectin and β -lactoglobulin dry mixtures. **Food Biophysics** 2: 172-182.
- Ramsden, L. 2004. Plant and algal gums and mucilages. *In* P. Tomasik, ed. **Chemical and Functional Properties of Food Saccharides**. CRC press LLC, New York.
- Rivero, S., M.A. Garcia and A. Pinotti. 2009. Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. **J. Food Eng.** 90: 531-539.
- Rogers, C.E. 1985. Permeation of gases and vapors in polymers. pp. 11-73. *In* J. Comyn, ed. **Polymer Permeability**. Elsevier Applied Science, London.
- Rolin, C., B.U. Nielsen and P.E. Glahn. 1998. Pectin. pp. 377-431. *In* D. Severian, ed **Polysaccharides Structural Diversity and Functional Versatility**. Marcel Dekker Inc, New York.
- Romanchik-Cerpovicz, J.E., A.C. Costantino and L.H. Gunn. 2006. Sensory evaluation rating and melting characteristics show that okra gum is an acceptable milk-fat ingredient substitute in chocolate frozen dairy dessert. **J. Am Diet Assoc.** 106: 594-597.

- Romanchik-Cerpovicz, J.E., R.W. Tilmon and K.A. Baldree. 2002. Moisture retention and consumer acceptability of chocolate bar cookies prepared with okra gum as a fat ingredient substitute. **J. Am Diet Assoc.** 102: 1301-1303.
- Roos, Y.H. 1995. **Phase Transition in Foods**. Academic Press Inc., San Diego.
- Rossi-Marquez, G., J.H. Han, B. Garcia-Almendarez, E. Castano-Tostadoa and C. Regalado-Gonzaleza. 2009. Effect of temperature, pH and film thickness on nisin release from antimicrobial whey protein isolate edible films. **J. Sci. Food Agric.** 89: 2492-2497.
- Sajjaanantakul, T., J.P. Van Buren and D.L. Downing. 1989. Effect of methyl ester content on heat degradation of chelator-soluble carrot pectin. **J. Food Sci.** 54: 1272-1277.
- Salame, M. 1986. Barrier polymer, pp. 48-54. In M. Bakker, ed. **The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology**. John Wiley & Son, New York
- Sánchez-González, L., M. Vargas, C. González-Martínez, A. Chiralt and M. Cháfer. 2009. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. **Food Hydrocolloids** 23: 2102-2109.
- Schols, H.A. and A.G.J. Voragen. 2002. The chemical structure of pectins, pp. 1-29. In G.B. Seymour and J.P. Knox, eds. **Pectin and their Manipulation Sheffield biological Sciences**. Blackwell Publishing, Oxford.
- Schultz, T.H. 1965. Determination of the degree of esterification of pectin, pp. 189-194. In R.V. Whistler, ed. **Method in Carbohydrate Chemistry**. ACP Inc., New York.
- Sengkhampan, N. 2009. **Chemical, Physical and Biological Features of Okra Pectin**. Ph.D. Thesis, Wageningen University.

Sengkhamparn, N., E.J. Bakx, R. Verhoef, H.A. Schols, T. Sajjaanantakul and A.G.J. Voragen.

2009a. Okra pectin contains an unusual substitution of its rhamnosyl residues with acetyl and alpha-linked galactosyl groups. **Carbohydrate Res.** 344: 1842-1851.

_____, L.M.C. Sagis, R. de Vries, H.A. Schols, T. Sajjaanantakul and A.G.J. Voragen.

2010. Physicochemical properties of pectins from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Food Hydrocolloids.** 24: 35-41.

_____, R. Verhoef, H.A. Schols, T. Sajjaanantakul and A.G.J. Voragen. 2009b.

Characterisation of cell wall polysaccharides from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Carbohydrate Res.** 344: 1824-1832.

Shaw, N.B., F.J. Monahan, E.D. O’Riordan and M. O’Sullivan. 2002. Effect of soya oil and glycerol on physical properties of composite WPI films. **J. Food Eng.** 51: 299-304.

Siebenmorgen, T.J. and Z.S.W. Yang. 2004. Glass transition temperature of rice kernels determined by Dynamic Mechanical Thermal Analysis. **Transactions of the ASAE** 47: 835-839.

Silva, S.S., B.J. Goodfellow, J. Benesch, J. Rocha, J.F. Mano and R.L. Reis. 2007. Morphology and miscibility of chitosan/soy protein blended membranes. **Carbohydrate Polym.** 70: 25-31.

Sothornvit, R. and J.M. Krochta. 2000. Water vapor permeability and solubility of films from hydrolyzed whey protein. **J. Food Sci.** 65: 700-703.

_____ and _____. 2001. Plasticizer effect on mechanical properties of beta-lactoglobulin films. **J. Food Eng.** 50: 149-155.

- Sothornvit, R. and J.M. Krochta. 2005. Plasticizers in edible films and coatings, pp. 403-433. *In* J.H. Han, ed. **Innovations in Food Packaging**. Academic Press, London.
- _____, D.S. Reid and J.M. Krochta. 2002. Plasticizer effect on the glass transition temperature of beta-lactoglobulin films. **Trans. Amer. Soc. Ag. Eng.** 45: 1479-1484.
- Sperling, L.H. 2001. **Introduction to Physical Polymer Science**. Wiley, New York.
- Sun, Z., W. Yang, T.J. Siebenmorgen, A.M. Stelwagen and A.G. Cnossen. 2002. Thermomechanical transitions of rice kernels. **Cereal Chem.** 79: 349-353.
- Tang, J., J. Lelievre, M.A. Tung and Y. Zeng. 1994. Polymer and ion concentration effects on gellan gel strength and strain. **J. Food Sci.** 59: 216-220.
- _____, M.A. Tung and Y. Zeng. 1995. Mechanical properties of gellan gel in relation to divalent cations. **J. Food Sci.** 60: 748-752.
- _____, _____ and _____. 1996. Compression strength and deformation of gellan gels formed with mono- and divalent cations. **Carbohydrate Polym.** 29: 11-16.
- Tharanatha, R.N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends Food Sci. Technol.** 14: 71-78.
- Tomada, M., K. Shimada, Y. Saito and M. Sugi. 1980. Plant mucilages. XXVI. Isolation and structural Features of a mucilage, "Okra mucilage", from the immature fruit of *Abelmoschus esculentus*. **Chem Pharm Bull.** 28: 2933-2940.
- Trezza, T.A. and J.M. Krochta. 2000. The gloss of edible coatings as affected by surfactants, lipids, relative humidity, and time. **J. Food Sci.** 65: 658-662.

- Trezza, T.A. and J.M. Krochta. 2001. Specular reflection, gloss, roughness and surface heterogeneity of biopolymer coatings. **J. Applied Polym. Sci.** 79: 2221-2229.
- Turhan K.N., Z.O. Erdohan-Sancak, B. Ayana and F. Erdogan. 2007. Optimization of glycerol effect on the mechanical properties and water vapor permeability of whey protein-methylcellulose films. **J. Food Process Eng.** 30: 485-500.
- Villalobos, R., J. Chanona, P. Hernandez, G. Gutierrez and A. Chiralt. 2005. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. **Food Hydrocolloids** 19: 53-61.
- Vodovotz, Y. and P. Chinachoti. 1996. Thermal transitions in gelatinized wheat starch at different moisture contents by Dynamic Mechanical Analysis. **J. Food Sci.** 61: 932-938.
- Voragen, A.G.J., W. Pilnik, J. Thibault, M.A.V. Axelos and M.G. Catherine. 1995. Pectins, pp. 287-323. In A.M. Stephen, ed. **Food Polysaccharide and their Application.** Marcel Dekker Inc., New York.
- Wang, L.Z., L. Liu, J. Holmes, J.F. Kerry and J.P. Kerry. 2007. Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. **Int. J. Food Sci. Techn.** 42: 1128-1138.
- Ward, G. and A. Nussinovitch. 1996a. Gloss Properties and surface morphology relationships of fruits. **J. Food Sci.** 61: 973-977.
- _____ and _____. 1996b. Peel gloss as a potential indicator of banana ripeness. **LWT.** 29: 289-294.
- _____ and _____. 1997. Characterizing the gloss properties of hydrocolloid films. **Food Hydrocolloids.** 11: 357-365.

Woolfe, M.L., M.F. Chaplin and G. Otchere. 1977. Studies on the mucilages extracted from Okra fruits (*Hibiscus esculentus* L.) and Baobab Leaves (*Adansonia digitata* L.). **J. Sci. Food Agric.** 28: 519-529.

Yang, L. and A. T. Paulson. 2000. Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. **Food Res. Int.** 33: 563-570.

_____, A.T. Paulson and M.T. Nickerson. 2010. Mechanical and physical properties of calcium-treated gellan films. **Food Res. Int.** 43: 1439-1443.



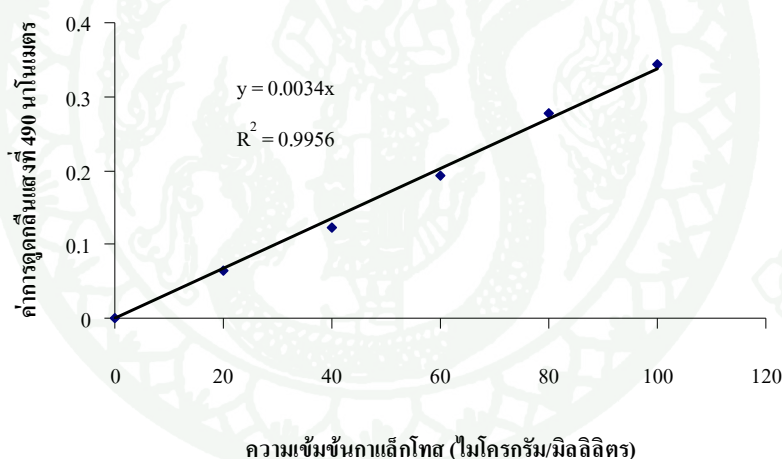
ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ

1. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (total carbohydrate) วิเคราะห์ตามวิธี phenolsulfuric acid colorimetric method (Hodge and Hofreiter, 1962; Brummer and Cui, 2005)

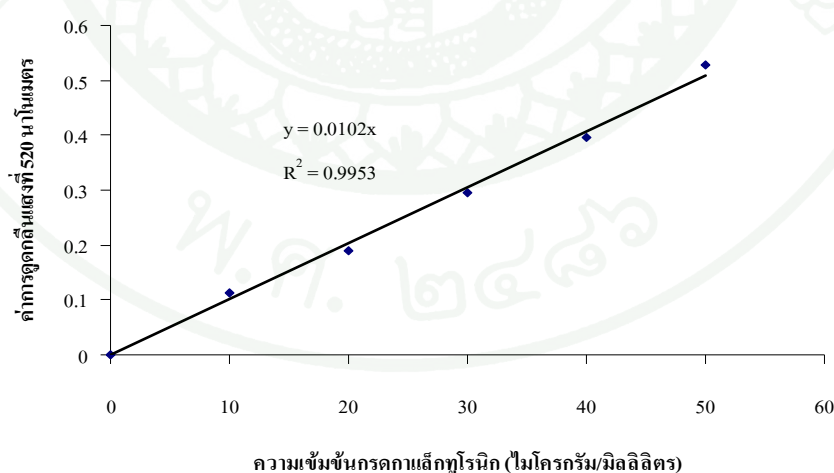
ปีเปตสารละลาย OKP ความเข้มข้น 0.01% (วิธีเตรียมแสดงในข้อ 6) 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 1, 2 และ 3 และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 4 (blank) เติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้น 5% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบทั้ง 4 หลอด เขย่าให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็ว เขย่า(vortex) ให้เข้ากัน ปล่อยให้เย็นเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการเขย่าอีกครั้ง จากนั้นปล่อยให้ไว้อีก 20 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

2. ปริมาณน้ำตาลยูโรไนด์ทั้งหมด (Total uronide) (ดัดแปลงจาก Ahmed and Labavitch, 1977)

ชั่ง OKP ที่อยู่ในรูปผงแห้ง 0.005 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 20 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร วางบีกเกอร์ในอ่างน้ำแข็งที่วางอยู่บนเครื่องกวน (stirring mortar) กวนเบาๆ พร้อมกับค่อยๆ หยดน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ลงไปจนพอลิแซ็กคาไรด์ละลาย รินสารละลายลงในขวดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ชะล้างบีกเกอร์แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลาย OKP ความเข้มข้น 0.01% นำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก โดย ปิเปตสารละลาย OKP ความเข้มข้น 0.01% ใส่ในหลอดทดสอบที่แห้งและสะอาด 4 หลอดหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นโซเดียมเตตระโบเรต 0.0125 โมลาร์ในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตร ในทุกหลอดทดสอบ เขย่า (vortex) ให้เข้ากันแล้วลดอุณหภูมิทันที โดยแช่หลอดทดสอบในอ่างน้ำแข็ง เมื่อเย็นแล้ว นำมาให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 10 นาที ลดอุณหภูมิทันทีอีกครั้งในอ่างน้ำแข็ง เติมน้ำกลั่นเมตาไฮดรอกซีไดเฟนิล (0.15% *m*-hydroxydiphenyl ใน 0.5% NaOH) 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 1, 2 และ 3 และเติมน้ำกลั่นโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 % ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดสอบที่ 4 (blank) เขย่าหลอดทดสอบทั้ง 4 หลอด ปล่อยให้ไว้ 15 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิกเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จากกราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิก



ภาพผนวกที่ ก2 กราฟมาตรฐานของกรดกาแล็กทูโรนิกสำหรับการวิเคราะห์น้ำตาลยูโรไนด์ทั้งหมด

3. ปริมาณเมทอกซิล และค่า degree of esterification (Schultz, 1965; Klavones and Bennett, 1986)

3.1 การย่อยหมู่เมทิลเอสเทอร์

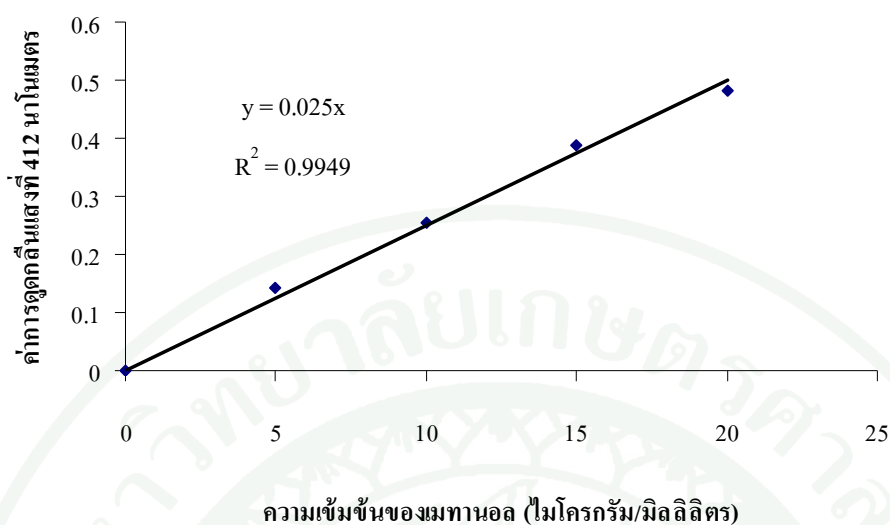
ปิเปตสารละลายกระเจียบเขียวความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล 25 มิลลิลิตร ได้สารละลายกระเจียบเขียวความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 นอร์มัล บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ด้วยสารละลายกรดฟอสฟอริกให้ได้ pH 7.5 นำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเมทอกซิลต่อไป

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณเมทอกซิล

เติมสารละลายเอนไซม์แอลกอฮอล์ออกซิเดส 1 หน่วย ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายกระเจียบเขียวที่ผ่านการย่อยด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า (vortex) เบาๆ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ นาน 15 นาที เติมสารละลายเพนเทนไดโอนความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณปริมาณเมทอกซิลเป็น เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จากกราฟมาตรฐานของเมทานอล

3.3 การคำนวณค่า degree of esterification

$$\text{degree of esterification} = \frac{176 \times \text{ปริมาณเมทอกซิล (\%w/w)} \times 100}{31 \times \text{ปริมาณกรดกาแล็กทูโรนิก (\%w/w)}}$$



ภาพผนวกที่ ก3 กราฟมาตรฐานของเมทานอล

4. การวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Micro Kjeldahl (AOAC, 2000)

ชั่งตัวอย่างผง OKP 0.1 กรัมลงในพลาสติกย่อย เติมนิโตรเจนเข้มข้น 2.0 กรัม เติมนิโตรเจนเข้มข้น 0.5 กรัมและเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 4 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนจนได้เป็นสารละลายสีเขียวใส (ระหว่างให้ความร้อนทำการนวดน้ำกลั่น เพื่อล้างส่วนที่ติดขอบเครื่องแก้วเป็นระยะ) ทิ้งให้เย็นทำการเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ได้สารละลายสีใส จากนั้นจึงทำการเติมสารละลายเบส ซึ่งประกอบด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไทโอซัลเฟต 15 มิลลิลิตรลงในพลาสติกตัวอย่าง (ต้องเติมน้ำก่อนเติมเบสเสมอ มิฉะนั้นสารละลายที่ผ่านการย่อยจะพุ่งหกออกมาได้) นำพลาสติกตัวอย่างไปกลั่น รองรับสิ่งกลั่นด้วยกรดบอริก 4% จำนวน 10 มิลลิลิตรที่เติมอินดิเคเตอร์ เมทิลเรดร่วมกับโบรโมครีซอลกรีน กลั่นจนได้สิ่งกลั่น 50 มิลลิลิตร นำสิ่งกลั่นมาไทเทรตด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 โมลาร์ แล้วทำการคำนวณดังสูตร

$$\% \text{ ของไนโตรเจน} = \frac{(\text{mL. of HCl} - \text{mL. of HCl Blank}) \times \text{molarity} \times 14.007 \times 100}{\text{mg. of sample}}$$

$$\% \text{ ของโปรตีนในตัวอย่าง} = \% \text{ ของไนโตรเจน} \times 6.25$$

5. สูตรการเตรียมสารละลายฟิล์มและการคำนวณเปอร์เซ็นต์พลาสติกไซเซอร์

ตารางผนวกที่ ก1 สูตรการเตรียมสารละลายฟิล์ม

อัตราส่วนของ WPI:OKP	น้ำหนัก โปรตีนเวย์ (g)	น้ำหนัก OKP (g)	น้ำหนัก กลีเซอรอล* (g)	น้ำหนัก น้ำ (g)	น้ำหนักทั้งหมด ของสารละลาย ฟิล์ม (g)
1:0	3.5	0	1.17	195.33	200
1:1	1.75	1.75	1.17	195.33	200
3:1	2.62	0.88	1.17	195.33	200
1:3 (0.33:1)	0.88	2.62	1.17	195.33	200
0:1	0	3.5	1.17	195.33	200
0.6 : 1	1.31	2.19	0	195.33	200
0.23:1	0.65	2.85	0	196.33	200

หมายเหตุ * อัตราส่วนของไบโอพอลิเมอร์ต่อกลีเซอรอลเท่ากับ 3:1

ตารางผนวกที่ ก2 อัตราส่วนของส่วนผสมในการเตรียมสารละลายฟิล์ม

อัตราส่วน WPI:OKP	สัดส่วน			อัตราส่วน	%พลาสติกไซเซอร์ (Gly+OKP)
	WPI	Gly	OKP	WPI:Gly:OKP*	
1:0	75	25	0	77:25:0	25
3:1	56	25	19	56:25:19	44
1:1	37.5	25	37.5	37.5:25:37.5	62.5
1:3	19	25	56	19:25:56	81
0:1	0	25	75	0:25:75	100

หมายเหตุ * หมายถึง กรณีที่พลาสติกไซเซอร์เป็นกลีเซอรอลอย่างเดียวให้รวมสัดส่วนของกลีเซอรอล เข้ากับ OKP

วิธีการคำนวณ %plasticizer

$$\% \text{พลาสติกไซเซอร์} = \frac{(\text{Gly} + \text{OKP})}{\text{WPI} + \text{Gly} + \text{OKP}} \times 100$$

ตัวอย่าง การคำนวณพลาสติกไซเซอร์ เท่ากับ 44%

$$\% \text{พลาสติกไซเซอร์} = \frac{(25 + 19)}{56 + 25 + 19} \times 100 = 44$$



ตารางผนวกที่ ข1 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอลต่อแรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	53.9167	53.9167	541.2489	0.0000
Gly	3	257.4975	85.8325	861.6387	0.0000
OKP*Gly	3	69.0807	23.0269	231.1580	0.0000
Error	112	11.1569	0.0996		
Total	120	1110.9369			

ตารางผนวกที่ ข2 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอลต่อมอดูลัสยืดหยุ่นของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	22490.9837	22490.9837	116.9652	0.000
Gly	3	465513.0569	155171.0190	806.9724	0.000
OKP*Gly	3	8831.2250	2943.7417	15.3090	0.000
Error	112	21536.2433	192.2879		
Total	120	880279.9152			

ตารางผนวกที่ ข3 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอลต่อการยึดตัวของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	23430.0661	23430.0661	660.4170	0.000
Gly	3	64239.9494	21413.3165	603.5714	0.000
OKP*Gly	3	4723.9463	1574.6488	44.3842	0.000
Error	112	3973.5009	35.4777		
Total	120	356673.7778			

ตารางผนวกที่ ข4 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอลต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	31.2668	31.2668	1551.4664	0.0000
Gly	3	13.0511	4.3504	215.8661	0.0000
OKP*Gly	3	0.0662	0.0221	1.0944	0.3580
Error	64	1.2898	0.0202		
Total	72	734.7503			

ตารางผนวกที่ ข5 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และปริมาณกลีเซอรอลต่อความสามารถในการซึมผ่านของก้ำชออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	88443.9406	88443.9406	1931.8334	0.0000
Gly	3	56817.7407	18939.2469	413.6798	0.0000
OKP*Gly	3	10718.2759	3572.7586	78.0378	0.0000
Error	40	1831.2954	45.7824		
Total	48	381449.3884			

ตารางผนวกที่ ข6 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อแรงต้านทานการคั่งขาดของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	8.4026	8.4026	163.0734	0.0000
pH	3	35.5145	11.8382	229.7481	0.0000
OKP*pH	3	3.6186	1.2062	23.4089	0.0000
Error	112	5.7710	0.0515		
Total	120	223.1744			

ตารางผนวกที่ ข7 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อมอดุลลีสีดหุ่่น
ในฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	464929.5881	464929.5881	556.8881	0.0000
pH	3	738778.8099	246259.6033	294.9673	0.0000
OKP*pH	3	776544.6701	258848.2234	310.0458	0.0000
Error	112	93505.5287	834.8708		
Total	120	2795986.3834			

ตารางผนวกที่ ข8 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อการยึดตัวของ
ฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	32932.3287	32932.3287	1330.1072	0.0000
pH	3	4838.1600	1612.7200	65.1363	0.0000
OKP*pH	3	9895.2748	3298.4249	133.2204	0.0000
Error	112	2773.0251	24.7592		
Total	120	142255.8635			

ตารางผนวกที่ ๙ การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	113.4932	113.4932	1329.7397	0.0000
pH	3	33.0336	11.0112	129.0123	0.0000
OKP*pH	3	45.4924	15.1641	177.6700	0.0000
Error	64	5.4624	0.0853		
Total	72	1092.8486			

ตารางผนวกที่ ๑๐ การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และค่า pH ต่อความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	45905.15694	45905.1569	2818.7129	0.0000
pH	3	14770.84909	4923.6164	302.3247	0.0000
OKP*pH	1	984.7879763	984.7880	60.4689	0.0000
Error	30	488.5757344	16.2859		
Total	36	175503.5952			

ตารางผนวกที่ ข11 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออนต่อแรงต้านทานการดึงขาดของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	14.9785	14.9785	216.8878	0.0000
ion	4	7.6278	1.9069	27.6124	0.0000
OKP*ion	4	1.1701	0.2925	4.2357	0.0029
Error	140	9.6685	0.0691		
Total	150	712.6339			

ตารางผนวกที่ ข12 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออนต่อมอดุลัสยืดหยุ่นในฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	563994.2790	563994.2790	1890.1234	0.0000
ion	4	69255.9920	17313.9980	58.0247	0.0000
OKP*ion	4	51948.1143	12987.0286	43.5236	0.0000
Error	140	41774.6267	298.3902		
Total	150	1419254.4964			

ตารางผนวกที่ ข13 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออนต่อการยึดตัวของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	48113.0024	48113.0024	2313.4913	0.0000
ion	4	5353.9258	1338.4815	64.3603	0.0000
OKP*ion	4	2845.6170	711.4043	34.2075	0.0000
Error	140	2911.5391	20.7967		
Total	150	128314.9226			

ตารางผนวกที่ ข14 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออนต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	27.7424	27.7424	572.4357	0.0000
ion	4	25.3384	6.3346	130.7079	0.0000
OKP*ion	4	6.7794	1.6948	34.9714	0.0000
Error	80	3.8771	0.0485		
Total	90	580.9695			

ตารางผนวกที่ ข15 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของชนิดของ OKP และแคลเซียมไอออนต่อ
ความสามารถในการซึมผ่านของก้ำชออกซิเจนของฟิล์มจาก OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
OKP	1	4232.7326	4232.7326	390.1147	0.0000
ion	4	15666.7662	3916.6916	360.9864	0.0000
OKP*ion	4	11343.7425	2835.9356	261.3773	0.0000
Error	50	542.4985	10.8500		
Total	60	48483.2406			

ตารางผนวกที่ ข16 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อแรงต้านทาน
การดึงขาดของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	0.7266	0.7266	3.5185	0.0628
Amount of OKP	4	1102.3660	275.5915	1334.6229	0.0000
Type*Amount	4	6.1503	1.5376	7.4462	0.0000
Error	140	28.9091	0.2065		
Total	150	3067.8913			

ตารางผนวกที่ ข17 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อมอดูลัส
ยึดหยุ่นในฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	31.3337	31.3337	0.2964	0.5870
Amount of OKP	4	1509895.2864	377473.8216	3570.5667	0.0000
Type*Amount	4	13680.5839	3420.1460	32.3515	0.0000
Error	140	14800.5455	105.7182		
Total	150	2774301.4074			

ตารางผนวกที่ ข18 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อการยึดตัว
ของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	16518.1898	16518.1898	802.9129	0.0000
Amount of OKP	4	51018.8805	12754.7201	619.9789	0.0000
Type*Amount	4	15205.3607	3801.3402	184.7748	0.0000
Error	140	2880.1960	20.5728		
Total	150	301388.1922			

ตารางผนวกที่ ข19 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	11.1314	11.1314	258.4083	0.0000
Amount of OKP	4	12.5986	3.1496	73.1166	0.0000
Type*Amount	4	5.7045	1.4261	33.1062	0.0000
Error	80	3.4462	0.0431		
Total	90	1012.3570			

ตารางผนวกที่ ข20 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจนของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	69242.0029	69242.0029	1166.3468	0.0000
Amount of OKP	4	39908.5921	9977.1480	168.0600	0.0000
Type*Amount	4	24709.8320	6177.4580	104.0562	0.0000
Error	50	2968.3283	59.3666		
Total	60	444172.7526			

ตารางผนวกที่ ข21 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อค่าสีของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Dependent Variable	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	L*	1	522.4427	522.4427	573.6161	0.0000
	a*	1	32.5454	32.5454	268.7293	0.0000
	b*	1	692.2145	692.2145	1014.1268	0.0000
Amount of OKP	L*	4	3908.3272	977.0818	1072.7873	0.0000
	a*	4	73.2652	18.3163	151.2385	0.0000
	b*	4	17827.6779	4456.9195	6529.5970	0.0000
Type*Amount	L*	4	356.7068	89.1767	97.9116	0.0000
	a*	4	20.8347	5.2087	43.0083	0.0000
	b*	4	204.7968	51.1992	75.0092	0.0000
Error	L*	140	127.5103	0.9108		
	a*	140	16.9552	0.1211		
	b*	140	95.5601	0.6826		
Total	L*	150	1014561.5784			
	a*	150	921.3099			
	b*	150	115294.2541			

ตารางผนวกที่ ข22 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อค่าความทึบแสงของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	9.2416	9.2416	0.6840	0.4107
Amount of OKP	4	66979.7204	16744.9301	1239.3975	0.0000
Type*Amount	4	12508.7176	3127.1794	231.4622	0.0000
Error	80	1080.8432	13.5105		
Total	90	388871.2512			

ตารางผนวกที่ ข23 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อค่าความเงาที่มุม 20 องศา ของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	15.6250	15.6250	1.6165	0.2073
Amount of OKP	4	45445.0540	11361.2635	1175.4247	0.0000
Type*Amount	4	14.9056	3.7264	0.3855	0.8184
Error	80	773.2533	9.6657		
Total	90	60045.1100			

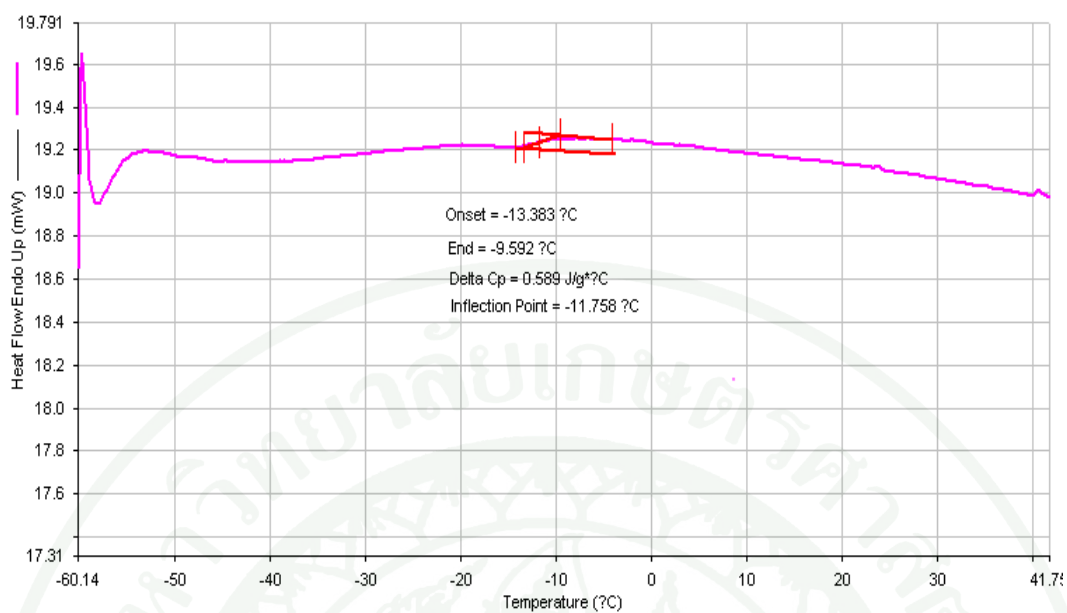
ตารางผนวกที่ ข24 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อค่าความเงาที่
มุม 60 องศา ของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	576.5871	576.5871	103.4624	0.0000
Amount of OKP	4	240448.9533	60112.2383	10786.4951	0.0000
Type*Amount	4	532.4018	133.1004	23.8834	0.0000
Error	80	445.8333	5.5729		
Total	90	354929.8200			

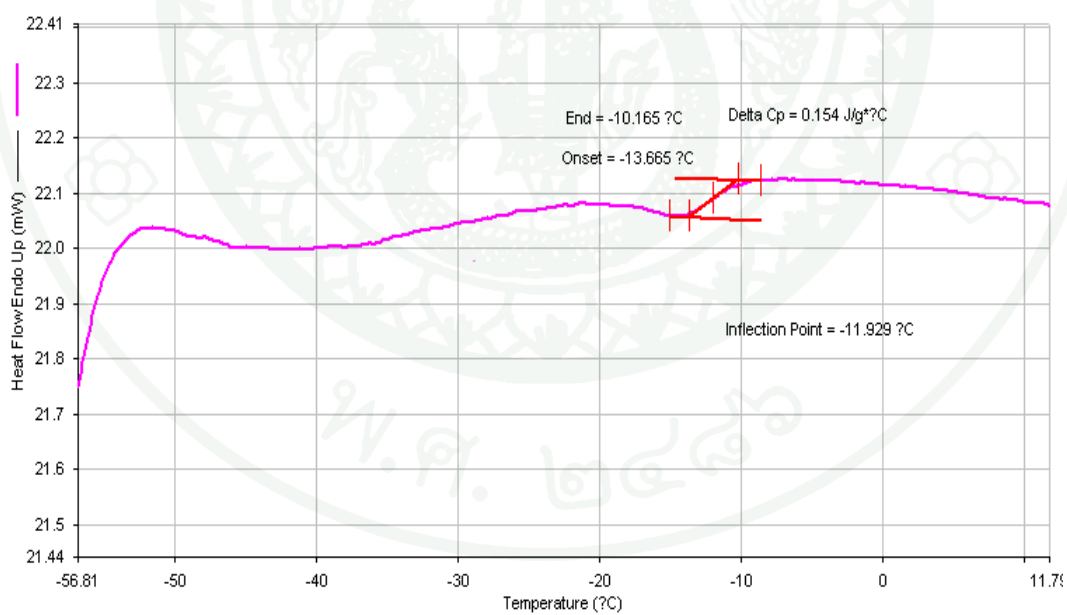
ตารางผนวกที่ ข25 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของปริมาณและชนิดของ OKP ต่อค่าความเงาที่
มุม 85 องศา ของฟิล์มผสม WPI-OKP

Source	Degree of Freedom (df)	Sum of Squares (SS)	Mean Square (MS)	F value	Sig (p<0.05)
Type of OKP	1	1637.5468	1637.5468	268.9402	0.0000
Amount of OKP	4	92949.0284	23237.2571	3816.3378	0.0000
Type*Amount	4	926.9227	231.7307	38.0580	0.0000
Error	80	487.1111	6.0889		
Total	90	197023.2100			

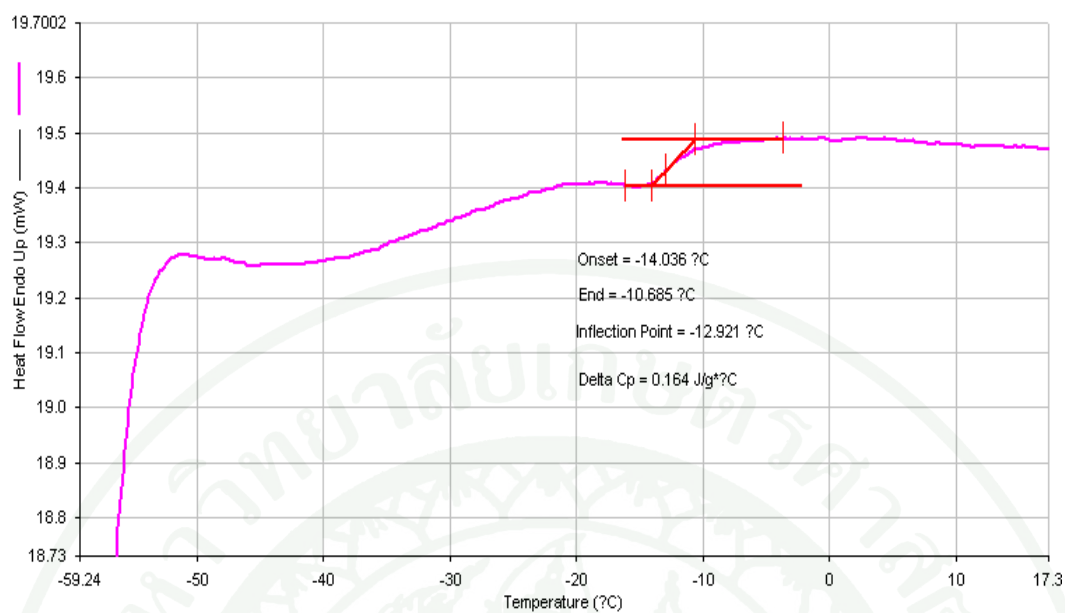




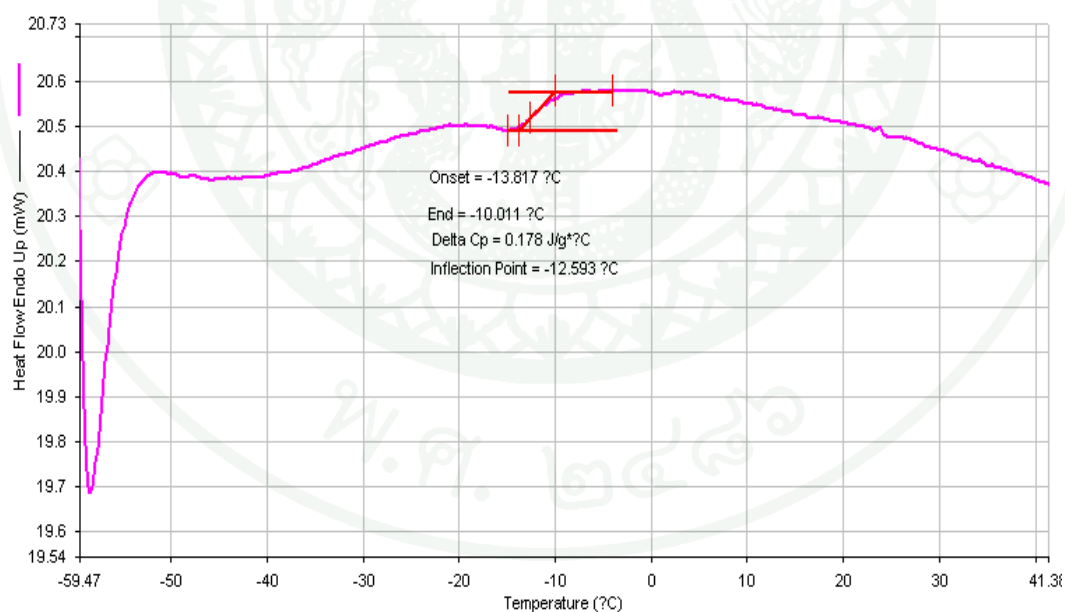
ภาพผนวกที่ ค1 DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มจากโปรตีนเวย์



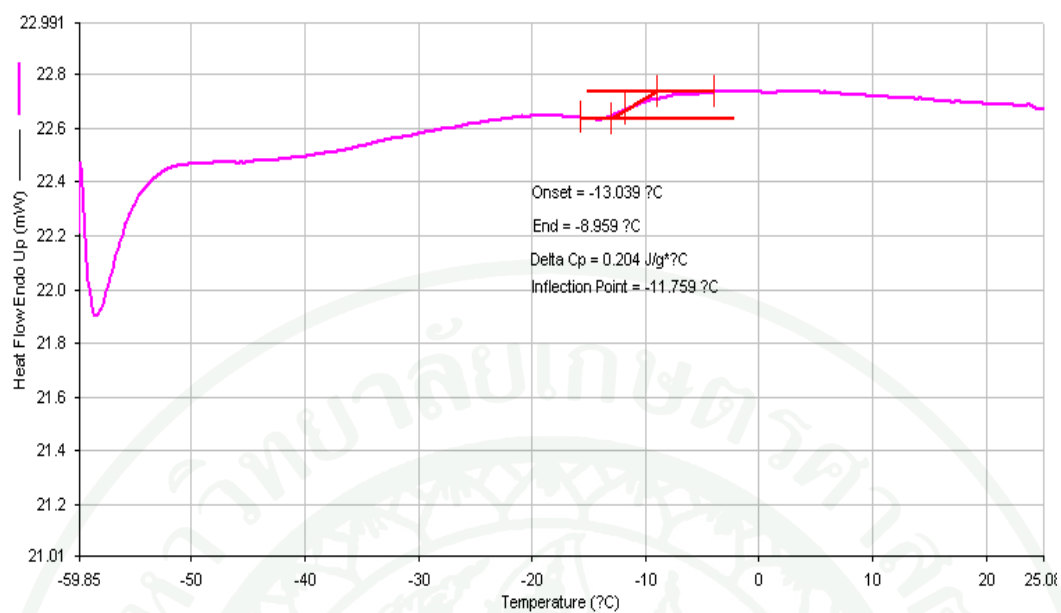
ภาพผนวกที่ ค2 DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มจาก HBSS



ภาพผนวกที่ ค3 DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มจาก ASS



ภาพผนวกที่ ค4 DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI-HBSS



ภาพผนวกที่ ค5 DSC เทอร์โมแกรมของฟิล์มผสม WPI-ASS

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวอรุณญา พรหมกุล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	9 มิถุนายน 2515
สถานที่เกิด	จังหวัดหนองคาย
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	อาจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนพัฒนาอาจารย์สาขาขาดแคลน สำนักงาน คณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) ทุนอุดหนุนการทำวิจัย บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์