

โครงการวิจัยย่อยที่ 1

เรื่อง ฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลือง: การปรับปรุงสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและสมบัติเชิงกล
Soy protein-based films: improvement of water vapor barrier and mechanical properties

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2555 จำนวนเงิน 540,000.00 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 21 เดือน ตั้งแต่ 14 สิงหาคม 2555 ถึง 15 พฤษภาคม 2557

ชื่อผู้วิจัย

1. อ.ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท ปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0 2218 5535 โทรสาร 0 2254 4314
2. ผศ.ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท ปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0 2218 5530 โทรสาร 0 2254 4314
3. ผศ.ดร.ละมุล วิเศษ
คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม
โทรศัพท์ 0 4375 4316 โทรสาร 0 4375 4316

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมลิพิดและการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนที่มีต่อสมบัติของฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดในขั้นตอนแรกเป็นการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มลิพิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ น้ำมันเมล็ดในปาล์ม น้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนต น้ำมันปาล์ม น้ำมันปาล์มไฮโดรจีเนตน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันถั่วเหลืองไฮโดรจีเนต แปรความเข้มข้นของลิพิดเป็น 2 ระดับ ได้แก่ 10 และ 20% ของน้ำหนักโปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่าฟิล์มอิมัลชันมีความหนาสูงกว่าและมีความโปร่งแสงต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด (ตัวอย่างควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ด้านสมบัติเชิงกลพบว่าการเติมลิพิดส่งผลให้ความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) มีค่าลดลง อย่างไรก็ตามการเติมลิพิดไม่ส่งผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) ของฟิล์มอิมัลชันมากนัก การเติมลิพิดสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองโดยฟิล์มอิมัลชันมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) และความสามารถในการละลายน้ำที่ลดลงรวมทั้งมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับความเข้มข้นของลิพิดพบว่าการเติมลิพิดเข้มข้น 10 หรือ 20% มีผลค่อนข้างน้อยต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชัน ในด้านผลของชนิดของลิพิดพบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดไฮโดรจีเนตมีความ

ต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำกว่าและมีสมบัติความไม่ชอบน้ำสูงกว่าฟิล์มที่เติมลิพิดที่ไม่ไฮโดรจีเนต จากงานวิจัยนี้พบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนตเข้มข้น 20% มีสมบัติความไม่ชอบน้ำที่สูงที่สุด แต่มีข้อจำกัดในสมบัติเชิงกล ในขั้นตอนต่อไปเป็นการศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนโดยใช้ตัวอย่างฟิล์มที่เติมน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนตเข้มข้น 20% แปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 70, 80 และ 85 °C และแปรระยะเวลาการบ่มเป็น 30, 45 และ 60 นาทีพบว่า การบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดสูงที่สุด แต่มีผลให้สมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มด้อยลง ซึ่งเห็นได้จากสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและความสามารถในการละลายน้ำที่สูงขึ้น รวมทั้งมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มที่ลดลง

Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of lipid incorporation and heats curing of film-forming solution on properties of soy protein isolate film. In the first part of the study, the effect of type and concentration of lipid on film properties was examined. The lipids used in this study were palm kernel oil, hydrogenated palm kernel oil, palm oil, hydrogenated palm oil, soybean oil and hydrogenated soybean oil. Lipid concentration was varied at 10 and 20% by weight of soy protein isolate. The emulsion films were found to exhibit higher thickness and lower transparency, as compared to the film with no added lipid (control) ($p \leq 0.05$). In terms of mechanical property, lipid incorporation resulted in an emulsion film with lower tensile strength than the control while elongation at break was affected only slightly by lipid addition. Adding lipid was shown to help improve the film hydrophobicity, as shown through a decrease in water vapor permeability and water solubility and an increase in contact angle with a water droplet ($p \leq 0.05$). Lipid concentration, on the other hand, did not pose an important effect on properties of the emulsion film. The films added with 10 and 20% lipid possessed similar properties. Hydrogenation of lipid, in contrast, significantly affected the emulsion film properties. The films containing hydrogenated lipid demonstrated lower tensile strength and elongation at break, and higher hydrophobicity than those containing non-hydrogenated lipid. From this study, greatest hydrophobicity was demonstrated in the film containing 20% hydrogenated palm kernel oil. However, this film sample was inferior concerning the mechanical property. In the next part, the study of the effect of heat curing of film-forming solution was carried out. The film containing 20% hydrogenated palm kernel oil was used. The curing was done at 70, 80 and 85 °C for 30, 45 and 60 min. Curing of film-forming solution at 70 °C for 60 min resulted in a film with greatest tensile strength and elongation at break. However, heat curing of film-forming solution caused a decrease in the film hydrophobicity, as evidenced by the increased water vapor permeability and water solubility, and the decreased contact angle.

บทนำ

จากความตระหนักในการรักษาสีสิ่งแวดล้อมและความต้องการในการลดปริมาณขยะโดยเฉพาะอย่างยิ่งขยะที่ย่อยสลายไม่ได้ ในปัจจุบันจึงมีความสนใจพัฒนาวัสดุบรรจุภัณฑ์จากพอลิเมอร์ชีวภาพเพื่อทดแทนวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ผลิตจากวัสดุปิโตรเลียม โปรตีนถั่วเหลืองเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาผลิตเป็นฟิล์มได้ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีสมบัติป้องกันการซึมผ่านของแก๊ส ไอสารอินทรีย์ และน้ำมันค่อนข้างดี แต่มีข้อจำกัดสำคัญในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและสมบัติเชิงกล ข้อจำกัดดังกล่าวเป็นเหตุผลสำคัญที่จำกัดการนำไปใช้ประโยชน์ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองในปัจจุบัน เนื่องจากฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำ การผลิตเป็นฟิล์มอิมัลชันร่วมกับลิจินสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มโปรตีน โดยชนิดและความเข้มข้นของลิจินมีผลต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันที่ได้ นอกจากนี้การบ่มด้วยความร้อน (heat curing) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นอกจากจะช่วยปรับปรุงสมบัติป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนแล้วยังสามารถปรับปรุงสมบัติเชิงกลได้ด้วย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) ปรับปรุงสมบัติป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองโดยการผลิตเป็นฟิล์มอิมัลชันร่วมกับลิจินชนิดต่างๆ (2) ศึกษาผลของการบ่มด้วยความร้อนต่อสมบัติป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและสมบัติเชิงกลของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลือง และ (3) พัฒนาฟิล์มจากโปรตีนถั่วเหลืองที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ฟิล์มประกอบ (composite film)

เนื่องจากพอลิเมอร์แต่ละชนิดที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฟิล์มมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน จึงมีการพัฒนาฟิล์มประกอบขึ้นเพื่อให้ได้ฟิล์มตามสมบัติที่ต้องการ สำหรับฟิล์มโปรตีนซึ่งมีข้อจำกัดในด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ การผลิตเป็นฟิล์มประกอบร่วมกับลิจินที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำจึงอาจช่วยปรับปรุงสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำให้ดีขึ้น (Greener and Fennema, 1989)

สำหรับเทคนิคการผลิตฟิล์มประกอบของโปรตีนกับลิจินมี 2 เทคนิคหลัก คือ เทคนิคการผลิตเป็นอิมัลชัน (emulsion technique) และเทคนิคการเคลือบ (coating technique) โดยเทคนิคการผลิตเป็นอิมัลชันเป็นการเติมลิจินลงในสารละลายฟิล์มโปรตีนและทำให้เป็นอิมัลชัน ซึ่งฟิล์มที่ได้จะมีโปรตีนทำหน้าที่ให้โครงสร้างที่เป็นร่างแหต่อเนื่อง (continuous network) และมีลิจินเป็นวัฏภาคกระจาย (dispersed phase) อยู่ในร่างแหนั้น (Quezada Gallo *et al.*, 2000) ส่วนเทคนิคการเคลือบคือการเคลือบลิจินที่ห่อหุ้มเคลือบลงบนแผ่นฟิล์มโปรตีนที่ขึ้นรูปแล้ว ซึ่งฟิล์มที่ได้จะมีลักษณะเป็นฟิล์มสองชั้น (bilayer film) (Kamper and Fennema, 1984; Kester and Fennema, 1989)

โปรตีนถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองประกอบไปด้วยโปรตีนประมาณ 40% โดยน้ำหนักแห้ง สามารถจำแนกโปรตีนถั่วเหลืองเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกคือโกลบูลินซึ่งสามารถละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจาง โปรตีนโกลบูลินมีปริมาณมากถึง 90% ของโปรตีนทั้งหมดของถั่วเหลือง ส่วนที่เหลืออีก 10% คืออัลบูมินซึ่งสามารถละลายได้ในน้ำ (Fukushima, 1991)

โปรตีนโกลบูลินในถั่วเหลืองประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด ได้แก่ เบต้า-คอนโกลูบินินและโกลูบินิน หรือโกลบูลินชนิด 7S และ 11S ตามลำดับ เบต้า-คอนโกลูบินินสามารถทนความร้อนได้น้อยกว่าโกลูบินิน โดยจะเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิประมาณ 70 °C ส่วนโกลูบินินจะเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิประมาณ 80 °C เมื่ออยู่ในภาวะที่เป็นกลางและไม่มีเกลือ (Hermansson, 1978; Utsumi *et al.*, 1997) การเสียสภาพธรรมชาติดังกล่าวเป็นสิ่งสำคัญในการเกิดเป็นเจลและฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (Renkema and van Vliet, 2002)

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate)

โปรตีนถั่วเหลืองสกัดเป็นผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกหมดและผ่านกระบวนการแยกโปรตีนถั่วเหลืองออกจากส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรตทั้งส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ จึงได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มีโปรตีนสูงถึง 90% มีสีและกลิ่นเฉพาะตัวและมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วนเช่นเดียวกับโปรตีนจากเนื้อสัตว์หรือไข่ มีปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตต่ำ โปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่หลากหลาย เช่น ความสามารถในการอุ้มน้ำ การเป็นอิมัลซิไฟเออร์ การเกิดโฟม การเกิดเจล รวมถึงการเกิดเป็นฟิล์ม (Zayas, 1997; United Soybean Board, 2004)

การเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง

เบต้า-คอนโกลูบินินและโกลูบินินของถั่วเหลืองมีโครงสร้างถึงระดับจตุรภูมิ ในการเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลืองจำเป็นจะต้องทำให้โปรตีนเหล่านี้เสียสภาพธรรมชาติบางส่วน (partial denaturation) โดยให้ความร้อนแก่สารละลายโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 °C ทำให้โมเลกุลของโปรตีนเกิดการคลายตัว ส่งผลให้หมู่ซัลไฟด์และหมู่ไฮโดรโฟบิกที่อยู่ภายในปรากฏขึ้นที่ด้านนอกของโมเลกุล ในระหว่างที่ทำให้สารละลายฟิล์มแห้งตัวลง สายพอลิเพปไทด์ที่คลายตัวจะเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กัน และเกิดการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ทำให้เกิดโครงสร้างของฟิล์มขึ้น (Anonymous, 1997)

ลิพิดที่ใช้ในการผลิตฟิล์มและสารเคลือบ (coating)

ลิพิดเป็นกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่มีสมบัติไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้จำกัด แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ ลิพิดไม่นิยมนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มโดยตรง โดยส่วนใหญ่มักใช้ในรูปสารเคลือบ ลิพิดที่นิยมใช้เป็นสารเคลือบ ได้แก่ ไขผึ้งและคาร์นูบาแว็กซ์ เนื่องจากลิพิดมีสมบัติไม่ชอบน้ำจึงมีสมบัติสำคัญในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ ลิพิดสามารถนำมาผลิตเป็นฟิล์มประกอบร่วมกับโปรตีนหรือพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อปรับปรุงสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มทั้งสองชนิดได้ ตัวอย่างของลิพิดที่มีการนำมาใช้ในการผลิตฟิล์มและสารเคลือบแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลิพิดและอิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ในการผลิตฟิล์มและสารเคลือบ

ประเภทของลิพิด	ตัวอย่าง
น้ำมัน ไขมัน ซอร์ทเทนนิ่ง และมาการีน	น้ำมันและไขมันจากพืชและสัตว์ เช่น น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม โกโก้บัตเตอร์ เนย น้ำมันที่ดัดแปรโดยกระบวนการไฮโดรจีเนชันหรือทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชัน เช่น มาการีน ซอร์ทเทนนิ่ง
แว็กซ์	แว็กซ์จากพืช เช่น คาร์นูบาแว็กซ์ โจโจบาแว็กซ์ แคนเดลิลาแว็กซ์ แว็กซ์จากสัตว์ เช่น ไขผึ้ง ไขวาฬ แว็กซ์สังเคราะห์ เช่น พาราฟิน มินเนอรัลแว็กซ์
แอลกอฮอล์	เซลแอลกอฮอล์ กัมแอลกอฮอล์
น้ำมันหอมระเหย	น้ำมันจากการบูร สะระแหน่ ผลไม้ตระกูลส้ม
อิมัลซิไฟเออร์	เลซิทีน โมโนกลีเซอไรด์และไดกลีเซอไรด์ และอนุพันธ์เอสเทอร์ กรดไขมัน

(ที่มา: ดัดแปลงจาก Morillon *et al.*, 2002)

งานวิจัยนี้จะศึกษาน้ำมันจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ น้ำมันปาล์ม (palm oil) น้ำมันเมล็ดในปาล์ม (palm kernel oil) และน้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil) รวมทั้งน้ำมันไฮโดรจีเนตของน้ำมันทั้ง 3 ชนิดนี้

น้ำมันปาล์มคือน้ำมันที่ได้จากส่วนเปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นกลาง (exocarp and mesocarp) ของผลปาล์มน้ำมันประกอบด้วยกรดไขมันหลัก ได้แก่ กรดพาล์มมิก กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก ในปริมาณ 45, 40 และ 10% ของกรดไขมันทั้งหมดตามลำดับ

น้ำมันเมล็ดในปาล์ม หมายถึง น้ำมันที่ได้จากเมล็ดใน (kernel) ของผลปาล์มน้ำมัน กรดไขมันหลักของน้ำมันเมล็ดในปาล์ม ได้แก่ กรดลอริก กรดไมริสติก และกรดโอเลอิก ในปริมาณ 48, 16 และ 15% ของกรดไขมันทั้งหมดตามลำดับ

น้ำมันถั่วเหลืองสกัดได้จากเมล็ดถั่วเหลือง ประกอบด้วยกรดไขมันหลัก ได้แก่ กรดลิโนเลอิก กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลนิก ในปริมาณ 53, 23 และ 8% ของกรดไขมันทั้งหมดตามลำดับ

การปรับปรุงสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มโดยการเติมลิพิด

เนื่องจากธรรมชาติของโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ประกอบด้วยหมู่เคมีที่มีสมบัติชอบน้ำอยู่เป็นจำนวนมาก ฟิล์มโปรตีนและฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์โดยทั่วไปจึงมีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำต่ำ วิธีหนึ่งที่สามารถใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนและฟิล์มพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ การเติมองค์ประกอบที่มีสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ลิพิด (Avena-Bustillos and Krochta, 1993)

Kamper and Fennema (1984) ศึกษาสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability, WVP) ของฟิล์มจากไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสและลิพิดชนิดต่างๆ ได้แก่ ไขผึ้ง พาราฟิน และน้ำมันปาล์ม

ไฮโดรจีเนต พบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดทุกชนิดมีค่า WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด นอกจากนี้ผู้วิจัยยังศึกษาผลของระดับความไม่อิ่มตัวและความยาวของสายโซ่คาร์บอนของกรดไขมันที่มีต่อสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส กรดไขมันที่ศึกษา ได้แก่ กรดสเตียริกผสมกับกรดพาล์มมิก กรดลอริก กรดสเตียริก และกรดโอเลอิก พบว่าฟิล์มที่เติมกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมีค่า WVP ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เติมกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มที่เติมกรดไขมันที่มีความยาวของสายโซ่คาร์บอนสูงมีค่า WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมกรดไขมันที่มีความยาวของสายโซ่คาร์บอนต่ำกว่า

McHugh and Krochta (1994) ศึกษาผลของชนิดลิพิดที่มีต่อ WVP ของฟิล์มอิมัลชันของเวย์โปรตีนและลิพิด แปรชนิดของลิพิด ได้แก่ กรดพาล์มมิก กรดไมริสติก ไขมัน สเตียริลแอลกอฮอล์ เฮกซาเดคานอล และเตตระเดคานอล พบว่าเมื่อความยาวสายโซ่คาร์บอนของลิพิดเพิ่มสูงขึ้น ฟิล์มที่ได้มีค่า WVP ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อความยาวสายโซ่คาร์บอนที่เพิ่มขึ้น ความมีขั้ว (polarity) ของโมเลกุลของลิพิดมีค่าลดลง นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังศึกษาผลของความเข้มข้นของลิพิด ได้แก่ ไขมัน กรดพาล์มมิก และสเตียริลแอลกอฮอล์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น WVP ของฟิล์มอิมัลชันมีค่าลดลง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของลิพิดพบว่าฟิล์มที่เติมกรดพาล์มมิกหรือกรดไมริสติกมีค่า WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไขมัน สเตียริลแอลกอฮอล์ เฮกซาเดคานอล หรือเตตระเดคานอล โดยผู้วิจัยเสนอว่าค่า WVP มีความสัมพันธ์กับจุดหลอมเหลวของลิพิด

Shellhammer and Krochta (1997) ศึกษาผลของชนิดลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันจากเวย์โปรตีน โดยแปรชนิดของลิพิด ได้แก่ ไขมัน คาร์บูบาแว็กซ์ แคนเดิลลาลาแว็กซ์ และไขมันนมปราศจากน้ำ (anhydrous milk fat) พบว่าฟิล์มที่เติมไขมันและฟิล์มที่เติมไขมันนมปราศจากน้ำมีค่า WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมคาร์บูบาแว็กซ์และฟิล์มที่เติมแคนเดิลลาลาแว็กซ์

Yang and Paulson (2000) ศึกษาผลของลิพิดต่อสมบัติเชิงกลและ WVP ของฟิล์มจากเจลแลนกันลิพิดที่ศึกษา ได้แก่ ไขมัน และกรดพาล์มมิกผสมกับกรดสเตียริก แปรความเข้มข้นของลิพิดตั้งแต่ 0-20% พบว่าที่ความเข้มข้นของลิพิดเท่ากับ 20% ฟิล์มมีค่า WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างลิพิดต่างชนิดพบว่าฟิล์มที่เติมไขมันมีค่า WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมกรดพาล์มมิกผสมกับกรดสเตียริก อย่างไรก็ตามการเติมลิพิดยังส่งผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มด้วย โดยพบว่าความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength, TS) ของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มสูงขึ้น และฟิล์มที่เติมไขมันมีค่า TS สูงกว่าฟิล์มที่เติมกรดพาล์มมิกผสมกับกรดสเตียริก

Peroval *et al.* (2002) ศึกษาผลของชนิดลิพิดต่อสมบัติความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) และสมบัติเชิงกลของฟิล์มจากอะราบินโนไซแลน โดยลิพิดที่ศึกษา ได้แก่ กรดพาล์มมิก กรดสเตียริก ไตรโอเลอีน และน้ำมันปาล์มไฮโดรจีเนต พบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันปาล์มไฮโดรจีเนตมี WVP ต่ำที่สุดและมุมสัมผัส (contact angle) ระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เติมลิพิดชนิดอื่นๆ สำหรับด้านสมบัติเชิงกลพบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดส่งผลให้ฟิล์มมีค่า TS ลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด และฟิล์มที่เติมไตรโอเลอีนมีการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break, EB) สูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด

Fernandez *et al.* (2006) ศึกษาผลของความเข้มข้นและระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันต่อความชุ่มชื้น สมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ และสมบัติเชิงกลของฟิล์มเวย์โปรตีน กรดไขมันที่ศึกษา ได้แก่ กรดสเตียริก กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30 และ 40% เมื่อเปรียบเทียบ

ระหว่างกรดไขมันต่างชนิด พบว่าฟิล์มที่เติมกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (กรดสเตียริก) มีค่าความชุ่มชื้นสูงกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (กรดโอเลอิกและกรดลิโนเลอิก) และสำหรับฟิล์มที่เติมกรดสเตียริกพบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดไขมันเพิ่มสูงขึ้น ความชุ่มชื้นของฟิล์มมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะเดียวกันพบว่าความเข้มข้นของกรดไขมันที่สูงขึ้นมีผลให้ค่า WVP ของฟิล์มมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมกรดสเตียริกมีค่า WVP ต่ำกว่ากรดโอเลอิกและกรดลิโนเลอิก ส่วนด้านสมบัติเชิงกลพบว่าสำหรับฟิล์มที่เติมกรดสเตียริก เมื่อความเข้มข้นของกรดไขมันเพิ่มสูงขึ้น TS ของฟิล์มมีค่าเพิ่มสูงขึ้นในขณะที่ EB มีค่าลดต่ำลง

Han *et al.* (2006) ศึกษาสมบัติเชิงกลและสมบัติด้านการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากสตาร์ชจาก Canadian yellow field pea โดยแปรความเข้มข้นของไขมันเป็น 0, 10, 20, 30 และ 40% พบว่าเมื่อปริมาณไขมันเพิ่มสูงขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความหนาเพิ่มขึ้น ในขณะที่ TS และ EB ของฟิล์มมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมไขมันเข้มข้น 40% มีค่า TS ต่ำที่สุด นอกจากนี้ผู้วิจัยยังรายงานว่เมื่อความเข้มข้นของไขมันเพิ่มสูงขึ้น WVP ของฟิล์มมีค่าลดต่ำลง

Perez-Matero and Gomez-Guillen (2007) ศึกษาผลของการเติมน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันในฟิล์มเจลาตินที่ผลิตจากปลาเค็ม แปรความเข้มข้นของน้ำมันเป็น 0, 0.3, 0.6 และ 1% พบว่าฟิล์มที่ไม่เติมน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันมีความสามารถในการละลายน้ำสูงกว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และฟิล์มมีความสามารถในการละลายน้ำลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสูงขึ้น

Monedero *et al.* (2009) ศึกษาผลของการทดแทนกรดโอเลอิกด้วยไขมันอิ่มตัวและผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อลิพิดที่มีต่อสมบัติของฟิล์ม โดยแปรปริมาณไขมันที่ทดแทนเป็น 5, 15, 30, 50, 70 และ 100% โดยน้ำหนักของกรดโอเลอิก และแปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อลิพิดเป็น 1:0.25 และ 1:0.50 พบว่าปริมาณของไขมันที่ทดแทนกรดโอเลอิกไม่มีผลต่อ TS, EB และ WVP ของฟิล์ม ในด้านผลของอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อลิพิด พบว่าฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อลิพิดเท่ากับ 1:0.25 มีค่า TS และ EB สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อลิพิดเท่ากับ 1:0.50 ในขณะที่ฟิล์มที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดต่อลิพิดต่างกันมีค่า WVP ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามฟิล์มที่เติมลิพิดมี WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด

Kokoszka *et al.* (2010) ศึกษาการเติมน้ำมันเรพซิดในฟิล์มเวย์โปรตีน โดยแปรความเข้มข้นของน้ำมันเรพซิดเป็น 0, 1, 2, 3, และ 4% โดยน้ำหนักของเวย์โปรตีน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเรพซิดเพิ่มสูงขึ้น มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าเพิ่มสูงขึ้น

Zahedi *et al.* (2010) ศึกษาผลของการเติมกรดสเตียริกและกรดพาล์มมิกในฟิล์มโปรตีนจากพืชสาหร่าย โดยแปรความเข้มข้นของกรดไขมันเป็น 2, 4 และ 6% พบว่าชนิดและความเข้มข้นของกรดไขมันไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนโดยการบ่มด้วยความร้อน

การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้สารเคมีหรือเอนไซม์ที่เร่งการเชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลโปรตีน การใช้รังสี เป็นต้น การบ่มสารละลายฟิล์มและการบ่มแผ่นฟิล์มด้วย

ความร้อนเป็นวิธีหนึ่งที่มีรายงานว่าสามารถปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนได้ (Gennadios *et al.*, 1996; Jangchud and Chinnan, 1999; Perez-Gago and Krochta, 2001)

การบ่มโปรตีนด้วยความร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เช่น โปรตีนถั่วเหลือง สามารถช่วยเพิ่มการเชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลโปรตีนได้ (Park *et al.*, 2002) โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 °C ในภาวะที่เป็นต่าง นอกจากจะทำให้สายโซ่พอลิเพปไทด์คลายตัวออกเป็นผลให้หมู่ซัลไฟไฮดริลและหมู่ไฮโดรโฟบิกที่อยู่ภายในปรากฏขึ้นที่ด้านนอกของโมเลกุลและสามารถเกิดพันธะเชื่อมขวางได้แล้ว ภาวะที่เป็นต่างยังช่วยส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยา thiol-disulfide exchange ซึ่งเพิ่มการเชื่อมขวางของโมเลกุลโปรตีนด้วย (Jensen, 1959)

การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนโดยการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน

Roy *et al.* (1999) บ่มสารละลายฟิล์มเกลือต้นด้วยความร้อน โดยแปรอุณหภูมิที่ใช้บ่มเป็น 55, 75 และ 95 °C ระยะเวลาการบ่มเท่ากับ 10 นาที จากการศึกษาแบบของแถบโปรตีนโดยใช้ SDS-PAGE ยืนยันการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ที่เพิ่มขึ้นในตัวอย่างสารละลายฟิล์มที่บ่มที่อุณหภูมิ 75 และ 95 °C ผู้วิจัยเสนอว่าหมู่ซัลไฟไฮดริลที่ปรากฏขึ้นจากการที่โปรตีนได้รับความร้อนสามารถถูกออกซิไดส์และเกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลของโปรตีนได้

Perez-Gago *et al.* (1999) ศึกษาผลของการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนต่อสมบัติของฟิล์มเวย์โปรตีน พบว่าฟิล์มที่ผลิตโดยมีขั้นตอนการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนมีค่า TS สูงกว่าฟิล์มที่ผลิตโดยไม่มีขั้นตอนการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน อย่างไรก็ตามพบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนไม่มีผลต่อ WVP ของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

Perez-Gago and Krochta (2001) ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มต่อสมบัติของฟิล์มเวย์โปรตีน โดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100 °C เป็นเวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที พบว่าเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเพิ่มสูงขึ้น ฟิล์มที่ได้มีค่า TS สูงขึ้น ในขณะที่ WVP มีค่าลดลง ผู้วิจัยเสนอว่าที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติมากขึ้นและเกิดพันธะเชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลโปรตีนได้มากขึ้น

การปรับปรุงสมบัติเชิงกลของฟิล์มโปรตีนโดยการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อน

Gennadios *et al.* (1996) ศึกษาผลการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่มีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยบ่มแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 80 และ 90 °C เป็นเวลา 2, 6, 14 และ 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มเพิ่มสูงขึ้น ฟิล์มมี TS และค่าสีเหลือง (+b) สูงขึ้น ในขณะที่ EB ปริมาณความชื้นความสามารถในการละลายน้ำ และ WVP มีค่าลดลง

Jangchud and Chinnan (1999) ศึกษาผลของค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายฟิล์มและการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่มีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วลิสงเข้มข้น (peanut protein concentrate) โดยเตรียมสารละลายฟิล์มที่มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.0, 7.5 และ 9.0 ขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม แล้วบ่มแผ่นฟิล์ม

ที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 90 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง พบว่าฟิล์มมีความสามารถในการละลายน้ำลดลงเมื่ออุณหภูมิการบ่มเพิ่มสูงขึ้นหรือค่าความเป็นกรดต่างของสารละลายฟิล์มลดลง ตัวอย่างฟิล์มมีค่า TS และค่า EB เพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ WVP และสภาพให้ซึมผ่านได้ของออกซิเจน (oxygen permeability) มีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิการบ่มสูงขึ้น โดยฟิล์มที่มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 9.0 และบ่มที่ 90 °C มี TS สูงที่สุด (4.10 MPa) และมี WVP และสภาพให้ซึมผ่านได้ของออกซิเจนต่ำที่สุด (8.83 g mm/m² day kPa และ 1.16 cm³ μm/m day kPa ตามลำดับ)

Rhim *et al.* (2000) ศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่มีต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่าฟิล์มที่ผ่านการบ่มด้วยความร้อนมีปริมาณความชื้นและ EB ลดลง ในขณะที่ TS มีค่าสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่ผ่านการบ่มด้วยความร้อน

Hernández-Muñoz *et al.* (2004) ศึกษาผลของการบ่มแผ่นฟิล์มด้วยความร้อนที่มีต่อสมบัติของฟิล์มกลูเตนิน โดยแปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 6 ระดับ คือ 40, 55, 70, 85, 95 และ 115 °C และบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่ออุณหภูมิการบ่มสูงขึ้น ฟิล์มมีค่า TS และ WVP เพิ่มขึ้นในขณะที่ EB มีค่าลดลง

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบสำหรับผลิตฟิล์ม

วัตถุดิบสำหรับผลิตฟิล์มและแหล่งที่มา มีดังนี้

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (บริษัท ไมท์ดี อินเทอร์เน็ต เนชั่นแนล จำกัด, กรุงเทพฯ)

น้ำมันเมล็ดในปาล์ม (palm kernel oil, PKO) (บริษัท มรกต อินดัสตรี้ส์ จำกัด มหาชน, สมุทรปราการ)

น้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนต (hydrogenated palm kernel oil, HPKO) (บริษัท มรกต อินดัสตรี้ส์ จำกัด มหาชน, สมุทรปราการ)

น้ำมันปาล์ม (palm oil, PO) (บริษัท มรกต อินดัสตรี้ส์ จำกัด มหาชน, สมุทรปราการ)

น้ำมันปาล์มไฮโดรจีเนต (hydrogenated palm oil, HPO) (บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด, สมุทรปราการ)

น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil, SO) (บริษัท มรกต อินดัสตรี้ส์ จำกัด มหาชน, สมุทรปราการ)

น้ำมันถั่วเหลืองไฮโดรจีเนต (hydrogenated soybean oil, HSO) (บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด, สมุทรปราการ)

กลีเซอรอล (Glycerol) (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

กลีเซอรอลโมโนสเตียเรท (Glycerolmonostearate) (Danisco, Copenhagen, Denmark)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งหมดเป็น AR grade

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การทดลองเบื้องต้น (preliminary experiment)

การทดลองเบื้องต้นเป็นการทดลองผลิตฟิล์มอิมัลชันโปรตีนถั่วเหลือง โดยเตรียมฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและลิพิดโดยดัดแปลงจากวิธีของ Jiang *et al.* (2007) เตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% แปรชนิดของลิพิดเป็น 6 ชนิด ได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันปาล์มไฮโดรจีเนต น้ำมันเมล็ดในปาล์ม น้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนต น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันถั่วเหลืองไฮโดรจีเนต และแปรความเข้มข้นของลิพิดเป็น 2 ระดับ ได้แก่ 10 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม ใช้กลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเป็นพลาสติกไซเซอร์และกลีเซอรอลโมโนสเตียเรตเข้มข้น 10% โดยน้ำหนักของลิพิดเป็นอิมัลซิไฟเออร์

เตรียมสารละลายฟิล์มโดยผสมกลีเซอรอลกับสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.0 โดยทดลองใช้สารละลายบัฟเฟอร์ 2 ชนิด ได้แก่ phosphate buffer และ Tris-HCl buffer เติมโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและผสมจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน พบว่าโปรตีนถั่วเหลืองสกัดสามารถละลายใน Tris-HCl buffer ได้ดีกว่าและให้ฟิล์มที่มีความแข็งแรงมากกว่า จึงเลือกใช้ Tris-HCl buffer ในงานวิจัยนี้

เมื่อเตรียมเป็นสารละลายฟิล์มแล้ว โฮโมจีไนส์สารละลายฟิล์มด้วย Ystral homogenizer (รุ่น X10/25, Ballrechten-Dottingen, Germany) จากนั้นให้ความร้อนแก่สารละลายฟิล์มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, JulaboLabortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 70 °C เป็นเวลา 30 นาที แล้วเติมกลีเซอรอลโมโนสเตียเรตและลิพิด (ทดลองใช้เฉพาะน้ำมันปาล์มสำหรับการทดลองเบื้องต้น) ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน โฮโมจีไนส์สารละลายฟิล์มอีกครั้งด้วย Ystral homogenizer (รุ่น X10/25, Ballrechten-Dottingen, Germany) นำสารละลายฟิล์มไปกำจัดฟองอากาศโดยใช้ ultrasonic bath (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) แล้วขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มโดยเปิดสารละลายฟิล์ม 25 ml ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ที่ทำด้วยแก้วซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 150 mm วางจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุสารละลายฟิล์มไว้บนพื้นระนาบ ทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงลอกแผ่นฟิล์มออก พบว่าวิธีการเตรียมฟิล์มดังกล่าวสามารถผลิตแผ่นฟิล์มที่แข็งแรงและสามารถลอกออกจากแบบที่ใช้ขึ้นรูปได้

2. ผลของความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

เตรียมฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและลิพิดโดยดัดแปลงจากวิธีของ Jiang *et al.* (2007) โดยเตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% แปรชนิดของลิพิดเป็น 6 ชนิด ได้แก่ PKO, HPKO, PO, HPO, SO และ HSO และแปรความเข้มข้นของลิพิดเป็น 2 ระดับ ได้แก่ 10 และ 20% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ใช้กลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเป็นพลาสติกไซเซอร์และกลีเซอรอลโมโนสเตียเรตเข้มข้น 10% โดยน้ำหนักของลิพิดเป็นอิมัลซิไฟเออร์ใช้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดเป็นตัวอย่างควบคุม วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ทดลอง 3 ซ้ำ

เตรียมสารละลายฟิล์มโดยผสมกลีเซอรอลกับสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.0 ต่อกันนั้นเติมโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและผสมจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน โฮโมจีไนส์สารละลายฟิล์มด้วย Ystral homogenizer (รุ่น X10/25, Ballrechten-Dottingen, Germany) จากนั้นให้ความร้อนแก่สารละลายฟิล์มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, JulaboLabortechnik, Seelbach, Germany) ที่ 70 °C เป็นเวลา 30 นาทีแล้วเติมกลีเซอรอลโมโนสเตียเรทและลิพิด ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน โฮโมจีไนส์สารละลายฟิล์มอีกครั้งด้วย Ystral homogenizer (รุ่น X10/25, Ballrechten-Dottingen, Germany) นำสารละลายฟิล์มไปกำจัดฟองอากาศโดยใช้ ultrasonic bath (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) แล้วขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มโดยปั๊มสารละลายฟิล์ม 25 ml ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ที่ทำด้วยแก้วซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 150 mm วางจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุสารละลายฟิล์มไว้บนพื้นระนาบ ทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 50% เป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำมาวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มดังต่อไปนี้

ความหนา

ตัดตัวอย่างฟิล์มเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 30 mm × 100 mm วัดความหนาของฟิล์มโดยใช้ไมโครมิเตอร์ (รุ่น 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan)

ปริมาณความชื้น

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

สมบัติเชิงกล

วิเคราะห์สมบัติเชิงกลด้านแรงดึง (tensile test) โดยใช้เครื่อง Instron® universal materials testing machine (รุ่น 5565, Instron, Norwood, MA) ซึ่งติดตั้งด้วย load cell ขนาด 5 kg ใช้หัววัด pneumatic side-action grips ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 30 mm × 100mm ติดตั้งลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 50 mm ดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 5.0 mm/s จนกระทั่งขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็น g force) และระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกไปได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็น mm) คำนวณความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength, TS) และการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break, EB) โดยใช้สมการที่ (1) และ (2) ตามลำดับ

$$TS \text{ (MPa)} = \frac{\text{แรงที่ใช้ในการดึงตัวอย่างให้ขาด (g force)} \times 0.009807 \times 10^{-6}}{\text{ความกว้างของตัวอย่าง (m)} \times \text{ความหนาของตัวอย่าง (m)}} \quad (1)$$

$$EB(\%) = \frac{\text{ระยะการยืดของตัวอย่าง (mm)}}{\text{ความยาวเดิมของตัวอย่าง (mm)}} \times 100 \quad (2)$$

ความโปร่งแสง (transparency)

วัดความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Chana-Thaworn *et al.* (2011) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาดพอดีกับด้านที่แสงส่องผ่านของคิวเวิร์ตแก้ว ติดตั้งฟิล์มลงบนผิวด้านในของคิวเวิร์ต แล้วนำไปวัดค่าร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ที่ความยาวคลื่น 500 nm โดยใช้ UV/Vis spectrophotometer (รุ่น V-530, Jasco, Easton, MD) ใช้คิวเวิร์ตเปล่า (คิวเวิร์ตที่มีอากาศภายใน) เป็นแบล็กโดยกำหนดให้ร้อยละของแสงส่องผ่านของแบล็กมีค่าเท่ากับ 100 นำค่าร้อยละของแสงส่องผ่านมาคำนวณค่าความโปร่งแสงโดยใช้สูตรที่ (3)

$$\text{ความโปร่งแสง} = \frac{\log T_{500}}{X} \quad (3)$$

เมื่อ T_{500} คือ ร้อยละของแสงส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 500nm

X คือ ความหนาของฟิล์ม (m)

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability, WVP)

วิเคราะห์สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มตามวิธีของ ASTM E96-95 (ASTM, 1999) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 6 cm × 6 cm โดยปราศจากรอยขีดข่วน รอยพับ และรูรั่วที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า บรรจุซิลิกาเจลที่อบแห้งแล้วปริมาณ 30g ใส่ลงขวดแก้วที่ใช้วัด WVP ทาสีลิโคนกรีสบริเวณปากขวดให้ทั่ว วางตัวอย่างฟิล์มลงบนปากขวด ซึ่งให้ตั้งและรัดให้แน่น บันทึกน้ำหนักขวดที่ติดตั้งฟิล์มแล้ว จากนั้นนำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้นที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C บันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นคำนวณ WVP ตามสูตรที่ (4)

$$WVP = \frac{wL}{At(P_2 - P_1)} \quad (4)$$

เมื่อ WVP คือ สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (mg mm/Pa h m²)

w คือ น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง (mg)

L คือ ความหนาของฟิล์ม (mm)

A คือ พื้นที่หน้าตัดของฟิล์ม (m²)

t คือ เวลาที่ใช้ในการทดลอง (h)

(P₂-P₁) คือ ความแตกต่างของความดันไอน้ำที่ด้านทั้งสองของฟิล์ม (Pa)

มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม (contact angle)

วิเคราะห์มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโดยใช้ contact angle measuring instrument (รุ่นOCA15EC, DataPhysics Instruments, Filderstadt, Germany) โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 5 cm × 2 cm นำแผ่นฟิล์มวางบนแท่นวางตัวอย่าง หยดน้ำกลั่น 4 µl บนผิวหน้าของตัวอย่างฟิล์ม วัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

ความสามารถในการละลายน้ำ(water solubility)

วิเคราะห์ตามวิธีของ Jangchud and Chinnan (1999) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 cm × 2 cm นำแผ่นฟิล์มตัวอย่างไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักแผ่นฟิล์ม บรรจุแผ่นฟิล์มในหลอดทดลองขนาด 50 ml เติมน้ำกลั่น 20ml เขย่าตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองWhatman No. 4 ที่อบแห้งแล้ว ล้างตัวอย่างบนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น 10 ml แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก คำนวณความสามารถในการละลายน้ำโดยใช้สูตรที่ (5)

$$\text{การละลายทั้งหมด(\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้นของฟิล์ม} - \text{น้ำหนักสุดท้ายของฟิล์ม}) \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้นของฟิล์ม}} \quad (5)$$

ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง

ศึกษาลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์ม โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, รุ่น JSM-5410LV, JEOL, Tokyo, Japan) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 5 cm × 5 cm เก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่มีซิลิกาเจลเป็นเวลา 1 สัปดาห์ สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่ใช้ศึกษาลักษณะพื้นผิวเตรียมตัวอย่างโดยติดเทปกาวสองหน้าแบบบางลงบนแท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่าง วางตัวอย่างฟิล์มลงไปและตัดแต่งขอบให้เรียบ ส่วนตัวอย่างฟิล์มที่ใช้ศึกษาลักษณะภาคตัดขวางใช้แท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่างซึ่งมีลักษณะเป็นร่องตั้งฉากกับพื้นผิวสำหรับติดตัวอย่าง นำตัวอย่างฟิล์มแช่ลงในไนโตรเจนเหลวให้ฟิล์มแข็งตัว แล้วหักตัวอย่างฟิล์มทั้งตัวอย่างฟิล์มให้อ่อนตัวลง ติดเทปกาวสองหน้าแบบบางลงบนแท่งทองเหลืองบริเวณที่เป็นร่องที่ตั้งฉาก แล้วติดตั้งตัวอย่างฟิล์มให้ด้านที่ถูกหักวางตั้งฉากกับแท่งทองเหลือง นำตัวอย่างไปอบด้วยทอง แล้วศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้กำลังขยาย 750 เท่า

3. ผลของอุณหภูมิและเวลาในการบ่มต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

เตรียมฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนต (HPKO) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Jiang *et al.* (2007) โดยเตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% ลิพิดที่ใช้ได้แก่ HPKO เข้มข้น 20% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ใช้กลีเซอรอลเข้มข้น 55% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเป็นพลาสติกไซเซอร์และกลีเซอรอลโมโนสเตีย

เรทเข้มข้น 10% โดยน้ำหนักของลิพิดเป็นอิมัลซิไฟเออร์ใช้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดเป็นตัวอย่างควบคุม วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ทดลอง 3 ซ้ำ

เตรียมสารละลายฟิล์มโดยผสมกลีเซอรอลกับสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.0 ต่อจากนั้นเติมโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและผสมจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน โฮโมจีไนส์สารละลายฟิล์มด้วย Ystral homogenizer (รุ่น X10/25, Ballrechten-Dottingen, Germany) จากนั้นบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน โดยแปรอุณหภูมิการบ่มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 70, 80 และ 85 °C และแปรเวลาการบ่มเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 30, 45 และ 60 นาที ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รุ่น SW23, JulaboLabortechnik, Seelbach, Germany) แล้วเติมกลีเซอรอลโมโนสเตียเรทและHPKO ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน โฮโมจีไนส์สารละลายฟิล์มอีกครั้งด้วย Ystral homogenizer (รุ่น X10/25, Ballrechten-Dottingen, Germany) นำสารละลายฟิล์มไปกำจัดฟองอากาศโดยใช้ ultrasonic bath (รุ่น 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) แล้วขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มโดยบีบอัดสารละลายฟิล์ม 25 ml ลงบนจานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ที่ทำด้วยแก้วซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 150 mm วางจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุสารละลายฟิล์มไว้บนพื้นระนาบ ทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นลอกแผ่นฟิล์มออกและนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 50% เป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำมาวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มดังต่อไปนี้

ความหนา

ตัดตัวอย่างฟิล์มเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 30 mm × 100 mm วัดความหนาของฟิล์มโดยใช้ไมโครมิเตอร์ (รุ่น 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan)

ปริมาณความชื้น

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

สมบัติเชิงกล

วิเคราะห์สมบัติเชิงกลด้านแรงดึง (tensile test) โดยใช้เครื่อง Instron® universal materials testing machine (รุ่น 5565, Instron, Norwood, MA) ซึ่งติดตั้งด้วย load cell ขนาด 5 kg ใช้หัววัด pneumatic side-action grips ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 30 mm × 100mm ติดตั้งลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 50 mm ดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 5.0 mm/s จนกระทั่งขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็น g force) และระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกไปได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็น mm) คำนวณความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength, TS) และการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break, EB) โดยใช้สมการที่ (1) และ (2) ตามลำดับ

$$TS \text{ (MPa)} = \frac{\text{แรงที่ใช้ในการดึงตัวอย่างให้ขาด (g force)} \times 0.009807 \times 10^{-6}}{\text{ความกว้างของตัวอย่าง (m)} \times \text{ความหนาของตัวอย่าง (m)}} \quad (1)$$

$$EB(\%) = \frac{\text{ระยะการยืดของตัวอย่าง (mm)}}{\text{ความยาวเดิมของตัวอย่าง (mm)}} \times 100 \quad (2)$$

ความโปร่งแสง (transparency)

วัดความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Chana-Thaworn *et al.* (2011) โดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาดพอดีกับด้านที่แสงส่องผ่านของคิวเวร์ต์แก้ว ติดตั้งฟิล์มลงบนผิวด้านในของคิวเวร์ต์ แล้วนำไปวัดค่าร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ที่ความยาวคลื่น 500 nm โดยใช้ UV/Vis spectrophotometer (รุ่น V-530, Jasco, Easton, MD) ใช้คิวเวร์ต์เปล่า (คิวเวร์ต์ที่มีอากาศภายใน) เป็นแบล็กโดยกำหนดให้ร้อยละของแสงส่องผ่านของแบล็กมีค่าเท่ากับ 100 นำค่าร้อยละของแสงส่องผ่านมาคำนวณค่าความโปร่งแสงโดยใช้สูตรที่ (3)

$$\text{ความโปร่งแสง} = \frac{\log T_{500}}{X} \quad (3)$$

เมื่อ T_{500} คือ ร้อยละของแสงส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 500nm

X คือ ความหนาของฟิล์ม(m)

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ(water vapor permeability, WVP)

วิเคราะห์สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มตามวิธีของ ASTM E96-95 (ASTM, 1999) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 6 cm × 6 cm โดยปราศจากรอยขีดข่วน รอยพับ และรูรั่วที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า บรรจุซิลิกาเจลที่อบแห้งแล้วปริมาณ 30g ใส่ลงขวดแก้วที่ใช้วัด WVP ทาสีลิโคนกรีสบริเวณปากขวดให้ทั่ว วางตัวอย่างฟิล์มลงบนปากขวด ซึ่งให้ตั้งและรัดให้แน่น บันทึกน้ำหนักขวดที่ติดตั้งฟิล์มแล้ว จากนั้นนำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้นที่บรรจุน้ำกลั่นไว้ภายใน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C บันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นคำนวณ WVP ตามสูตรที่ (4)

$$WVP = \frac{wL}{At(P_2 - P_1)} \quad (4)$$

เมื่อ WVP คือ สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (mg mm/Pa h m²)

W คือ น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง (mg)

L คือ ความหนาของฟิล์ม (mm)

A คือ พื้นที่หน้าตัดของฟิล์ม (m²)

t คือ เวลาที่ใช้ในการทดลอง (h)

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

มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม (contact angle)

วิเคราะห์มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโดยใช้ contact angle measuring instrument (รุ่นOCA15EC, DataPhysics Instruments, Filderstadt, Germany) โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 5 cm × 2 cm นำแผ่นฟิล์มวางบนแท่นวางตัวอย่าง หยดน้ำกลั่น 4 μ l บนผิวหน้าของตัวอย่างฟิล์ม วัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility)

วิเคราะห์ตามวิธีของ Jangchud and Chinnan (1999) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 2 cm × 2 cm นำแผ่นฟิล์มตัวอย่างไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักแผ่นฟิล์ม บรรจุแผ่นฟิล์มในหลอดทดลองขนาด 50 ml เติมน้ำกลั่น 20ml เขย่าตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 4 ที่อบแห้งแล้ว ล้างตัวอย่างบนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น 10 ml แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก คำนวณความสามารถในการละลายน้ำโดยใช้สูตรที่ (5)

$$\text{การละลายทั้งหมด(\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้นของฟิล์ม} - \text{น้ำหนักสุดท้ายของฟิล์ม}) \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้นของฟิล์ม}} \quad (5)$$

ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง

ศึกษาลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์ม โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, รุ่น JSM-5410LV, JEOL, Tokyo, Japan) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 5 cm × 5 cm เก็บไว้ในโถดูดความชื้นที่มีซิลิกาเจลเป็นเวลา 1 สัปดาห์ สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่ใช้ศึกษาลักษณะพื้นผิวเตรียมตัวอย่างโดยติดเทปกาวสองหน้าแบบบางลงบนแท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่าง วางตัวอย่างฟิล์มลงไปและตัดแต่งขอบให้เรียบ ส่วนตัวอย่างฟิล์มที่ใช้ศึกษาลักษณะภาคตัดขวางใช้แท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่างซึ่งมีลักษณะเป็นร่องตักฉากกับพื้นผิวสำหรับติดตัวอย่าง นำตัวอย่างฟิล์มแช่ลงในไนโตรเจนเหลวให้ฟิล์มแข็งตัว แล้วหักตัวอย่างฟิล์มทั้งตัวอย่างฟิล์มให้อ่อนตัวลง ติดเทปกาวสองหน้าแบบบางลงบนแท่งทองเหลืองบริเวณที่เป็นร่องที่ตักฉาก แล้วติดตั้งตัวอย่างฟิล์มให้ด้านที่ถูกหักวางตักฉากกับแท่งทองเหลือง นำตัวอย่างไปฉาบด้วยทอง แล้วศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้กำลังขยาย 750 เท่า

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

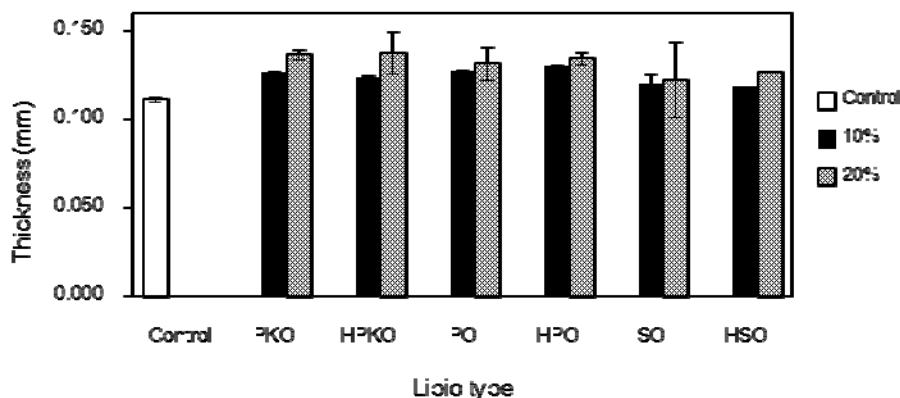
1. ผลการทดลองเบื้องต้น (preliminary experiment)

การทดลองเบื้องต้นเป็นการทดลองผลิตฟิล์มอิมัลชันโปรตีนถั่วเหลือง จากผลการทดลองพบว่าวิธีการเตรียมฟิล์มดังกล่าวสามารถผลิตแผ่นฟิล์มที่แข็งแรงและสามารถลอกออกจากแบบที่ใช้ขึ้นรูปได้

2. ผลของความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

2.1 ความหนา

ความหนาของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองแสดงดังรูปที่ 1 โดยทั่วไปพบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดมีความหนามากกว่าฟิล์มควบคุมที่ไม่เติมลิพิด โดยฟิล์มที่เติมลิพิดมีความหนาอยู่ในช่วง 0.118-0.137 mm ในขณะที่ฟิล์มควบคุมที่ไม่เติมลิพิดมีความหนาเท่ากับ 0.111 mm เมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มมากขึ้น ความหนาของฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น Cuq *et al.* (1997) เสนอว่าปัจจัยที่มีผลสำคัญต่อความหนาของฟิล์มคือปริมาณของแข็งในสารละลายฟิล์ม ผลที่ได้จากการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Han *et al.* (2006) ซึ่งศึกษาผลของการเติมไขมันในฟิล์มสตาร์ชจาก Canadian yellow field pea โดยแปรปริมาณไขมันเป็น 0,10,20,30 และ 40% พบว่าเมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความหนาเพิ่มขึ้น และฟิล์มที่เติมไขมันเข้มข้น 40% มีความหนาสูงสุด นอกจากนี้ Limpisophon *et al.* (2010) ซึ่งศึกษาสมบัติของฟิล์มเจลลาตินจากหนังปลาที่เติมกรดไขมัน ได้แก่ กรดสเตียริกและกรดโอเลอิก เข้มข้น 0-100% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดสเตียริกหรือกรดโอเลอิกเพิ่มขึ้น ความหนาของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น สำหรับผลของชนิดและการไฮโดรจีเนชันของลิพิด พบว่าฟิล์มทุกอย่างมีความหนาอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกัน

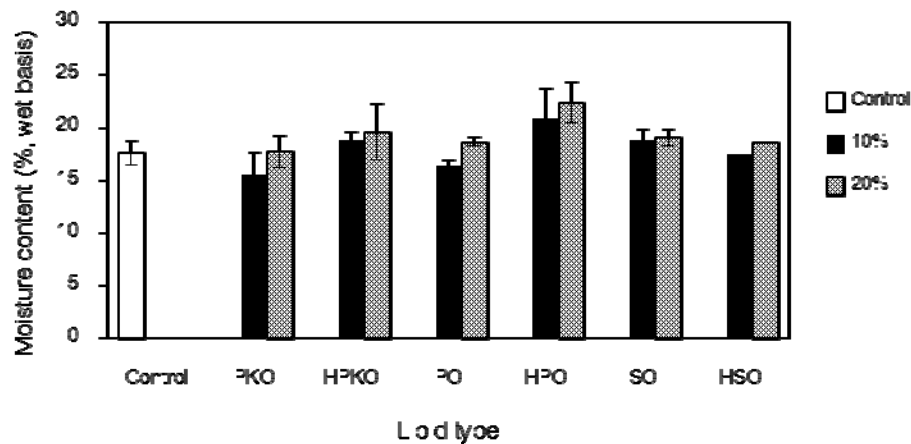


รูปที่ 1 ความหนาของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่แปรชนิดและความเข้มข้นของลิพิด

2.2 ปริมาณความชื้น

การเติมลิพิดมีผลต่อปริมาณความชื้นของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองดังแสดงในรูปที่ 2 สำหรับผลของความเข้มข้นของลิพิดพบว่าเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น ปริมาณความชื้นของฟิล์มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยลิพิดอาจมีผลขัดขวางการระเหยออกของน้ำจากภายในฟิล์มในระหว่างการทำแห้ง

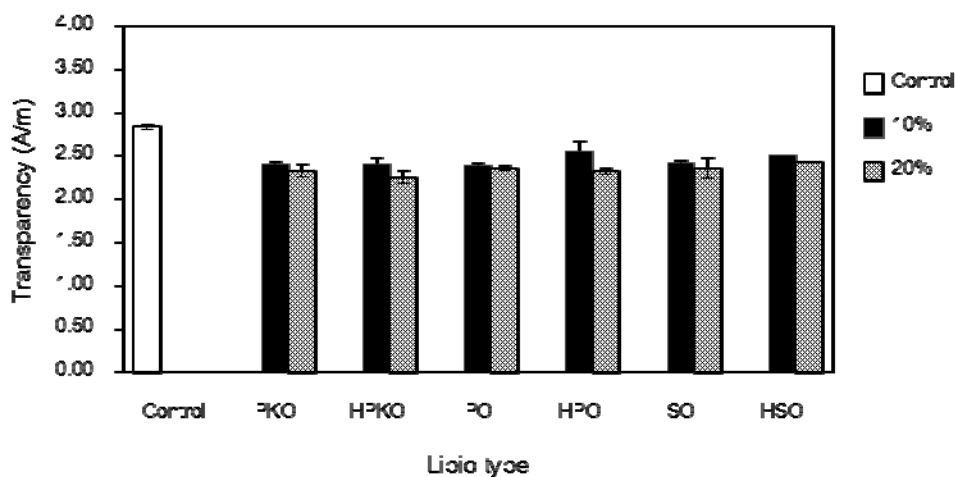
แผ่นฟิล์มในขณะที่ตัวอย่างฟิล์มที่เติมลิพิดต่างชนิดกันมีปริมาณความชื้นค่อนข้างใกล้เคียงกัน ยกเว้นตัวอย่างฟิล์มที่เติม HPO ซึ่งมีปริมาณความชื้นสูงกว่าตัวอย่างอื่นเล็กน้อย สำหรับผลของการไฮโดรจีเนต โดยทั่วไปพบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดไฮโดรจีเนตมีปริมาณความชื้นสูงกว่าฟิล์มที่เติมลิพิดที่ไม่ไฮโดรจีเนตทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลิพิดไฮโดรจีเนตมีสมบัติเป็นของแข็งสูงกว่าลิพิดที่ไม่ไฮโดรจีเนต (Morillon *et al.*, 2002) ฟิล์มที่เติมลิพิดไฮโดรจีเนตจึงมีสมบัติเป็นของแข็งสูงกว่าและส่งผลให้น้ำระเหยออกจากเมทริกซ์ของฟิล์มได้ยากกว่า



รูปที่ 2 ปริมาณความชื้นของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่แปรชนิดและความเข้มข้นของลิพิด

2.3 ความโปร่งแสง

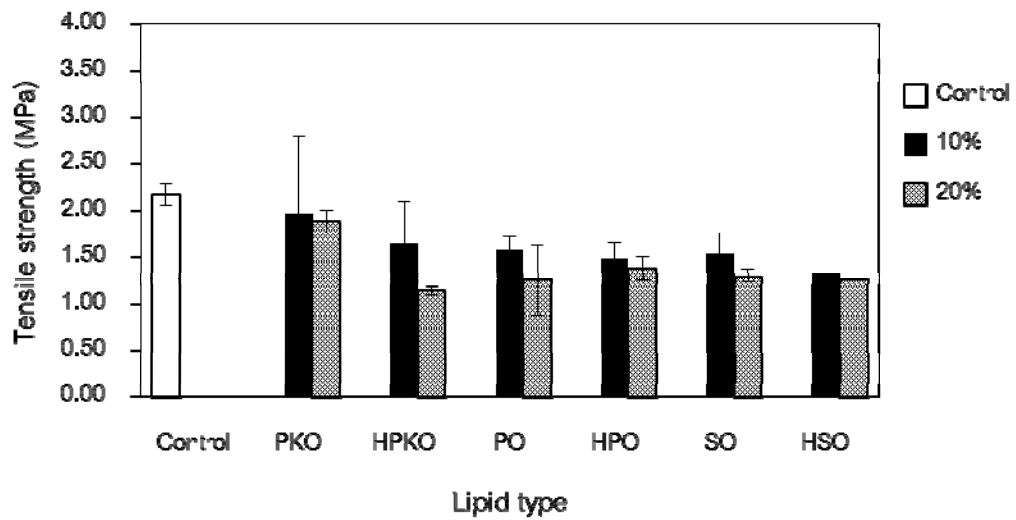
รูปที่ 3 แสดงค่าความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลือง จากงานวิจัยนี้พบว่าความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันมีค่าต่ำกว่าฟิล์มควบคุมที่ไม่เติมลิพิดความขุ่นของระบบอิมัลชันเกิดขึ้นเนื่องจากความแตกต่างของดัชนีหักเหของแสง (refractive index) ระหว่างวัฏภาคกระจาย (ลิพิด) และวัฏภาคต่อเนื่อง (เมทริกซ์ของฟิล์ม) (Morse, 1936) เมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้นความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันจึงมีค่าลดลง ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yang and Paulson (2000) ซึ่งรายงานว่าฟิล์มเจลแลนก็มีความขุ่นเพิ่มมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของลิพิด (ไข่แดงหรือกรดสเตียริกผสมกรดพาล์มมิกในอัตราส่วน 1:1) มีค่าเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Limpisophon *et al.* (2010) พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดสเตียริกและกรดโอเลอิกเพิ่มสูงขึ้น ความโปร่งแสงของฟิล์มเจลลาตินจากหนังปลามีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับผลของชนิดของลิพิดโดยทั่วไปพบว่าชนิดของลิพิดไม่มีผลต่อความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชัน



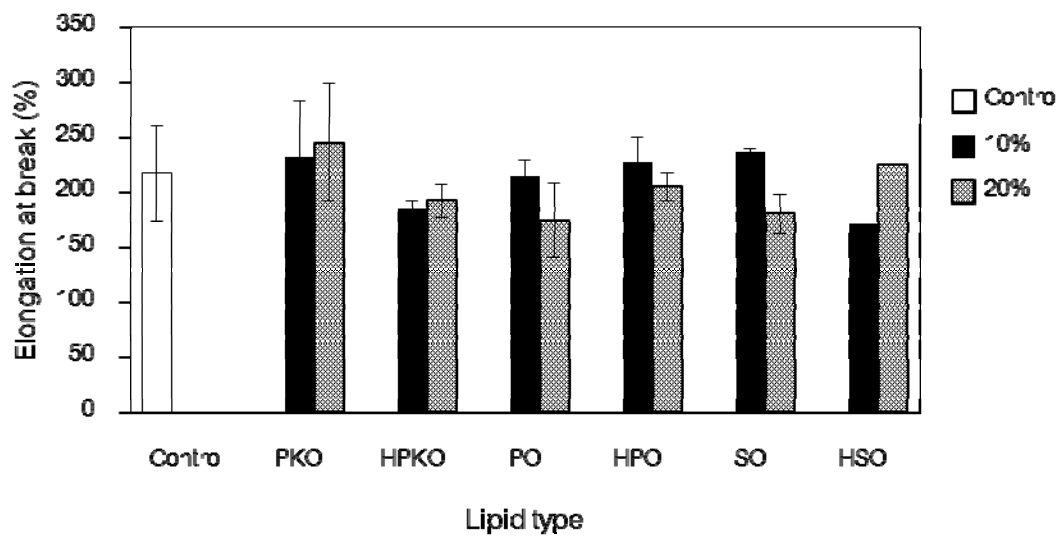
รูปที่ 3 ความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่แปรชนิดและความเข้มข้นของลิพิด

2.4 สมบัติเชิงกล

ความต้านทานแรงดึงขาด (TS) คือความเครียดที่เกิดขึ้นในขณะดึงที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งของแผ่นฟิล์มที่มีความกว้างคงที่จนแผ่นฟิล์มนั้นขาด ส่วนการยืดตัวถึงจุดขาด (EB) คือร้อยละของระยะทางที่ฟิล์มยืดออกด้วยแรงดึงจนขาดต่อความยาวเดิม Guilbert (1986) เสนอว่า TS ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์มากกว่าความแข็งแรงของพันธะภายในโมเลกุลพอลิเมอร์ในขณะที่ EB ขึ้นอยู่กับระยะระหว่างหมู่ที่เกิดอันตรกิริยาของโมเลกุลพอลิเมอร์ หากระยะระหว่างหมู่เคมีที่เกิดอันตรกิริยามีค่าน้อย EB ของฟิล์มจะมีค่าต่ำ รูปที่ 4 และ 5 แสดง TS และ EB ของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองตามลำดับ



รูปที่ 4 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่แปรชนิดและความเข้มข้นของลิพิด



รูปที่ 5 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่แปรชนิดและความเข้มข้นของลิพิด

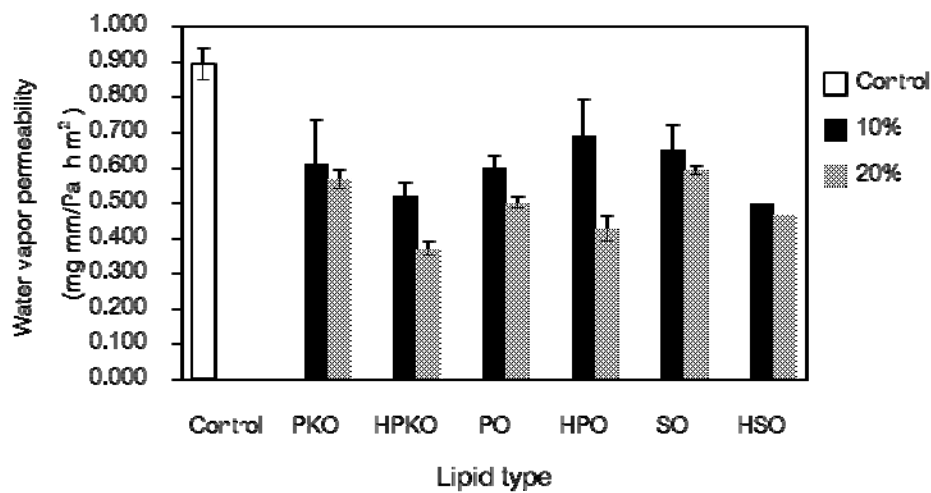
จากรูปที่ 4 พบว่าฟิล์มที่เติมลิปิดมีค่า TS ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มควบคุมที่ไม่เติมลิปิดและในขณะเดียวกันพบว่าเมื่อความเข้มข้นของลิปิดเพิ่มขึ้น TS ของฟิล์มอิมัลชันมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้เนื่องจากลิปิดที่เติมลงไปมีผลขัดขวางการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีนซึ่งมีผลต่อความแข็งแรงของฟิล์ม ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yang and Paulson (2000) ซึ่งศึกษาผลของไขมันและกรดพาล์มมิตกผสมกรดสเตียริกต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มเจลแลนกัน พบว่า TS ของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของลิปิดเพิ่มสูงขึ้นจาก 0 เป็น 20% ในทำนองเดียวกัน Peroval *et al.* (2002) ศึกษาผลของลิปิดที่มีต่อ TS ของฟิล์มอะราบินโนไซแลน ลิปิดที่ศึกษาในงานวิจัยดังกล่าว ได้แก่ กรดพาล์มมิตกกรดสเตียริกไตรโอเลอิน และน้ำมันปาล์มไฮโดรจีเนต พบว่า TS ของฟิล์มที่เติมลิปิดมีค่าต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิปิด และฟิล์มที่เติมลิปิดเข้มข้น 20% มีค่า TS ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมลิปิดเข้มข้น 10% นอกจากนี้ Han *et al.* (2006) ซึ่งศึกษาผลของการเติมไขมันต่อสมบัติของฟิล์มสตาร์ชจาก Canadian yellow field pea พบว่าเมื่อความเข้มข้นของไขมันเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 40% ฟิล์มที่ได้มีค่า TS ลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) Monedero *et al.* (2009) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ทดแทนด้วยไขมันและกรดโอเลอิกมี TS ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมลิปิด นอกจากนี้พบว่าฟิล์มที่เติมลิปิดจากแหล่งที่มาที่แตกต่างกัน (เมล็ดในปาล์ม เปลือกของผลปาล์มและถั่วเหลือง) ให้ TS ที่มีค่าใกล้เคียงกัน ทั้งนี้แม้ว่าลิปิดที่ใช้จะมีกรดไขมันหลักที่เป็นองค์ประกอบต่างกัน (กรดลอริก กรดพาล์มมิตก และกรดลิโนเลอิกตามลำดับ) แต่ลิปิดเหล่านี้ยังมีกรดไขมันอื่นๆ เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย นอกจากนี้ตำแหน่งของกรดไขมันในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ยังมีผลต่อสมบัติของไขมันจึงทำให้ผลที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน

สำหรับ EB (รูปที่ 5) พบว่าการเติมลิปิดมีผลค่อนข้างน้อยต่อ EB ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมลิปิดต่างจากงานวิจัยของ Han และคณะ (2006) ซึ่งศึกษาสมบัติของฟิล์มสตาร์ชจาก Canadian yellow field pea ที่เติมไขมัน โดยแปรความเข้มข้นของไขมันตั้งแต่ 0-40% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของไขมันเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีค่า EB ลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาผลชนิดของลิปิด (ภาพที่ 4 และ 5) พบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันไฮโดรจีเนตมี TS และ EB ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันที่ไม่ไฮโดรจีเนต ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำมันไฮโดรจีเนตมีความเป็นของแข็งมากกว่าน้ำมันที่ไม่ไฮโดรจีเนต จึงมีการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอในอิมัลชันและเกิดเป็นอนุภาคลิปิดที่มีขนาดใหญ่ซึ่งอาจเป็น “weak spot” ที่ทำให้ฟิล์มเกิดการฉีกขาดได้ง่ายเมื่อถูกดึง Fernandez *et al.* (2006) ซึ่งศึกษาผลของระดับความไม่อิ่มตัวและความเข้มข้นของกรดไขมันต่อสมบัติของฟิล์มเวย์โปรตีน ลิปิดที่ศึกษาได้แก่กรดสเตียริก กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก ที่แปรความเข้มข้นตั้งแต่ 0-40% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดไขมันเพิ่มขึ้น EB ของฟิล์มมีค่าลดลง และฟิล์มที่เติมกรดสเตียริกซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัวและมีความเป็นของแข็งสูงกว่ามีค่า EB ที่ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมกรดโอเลอิกและกรดลิโนเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

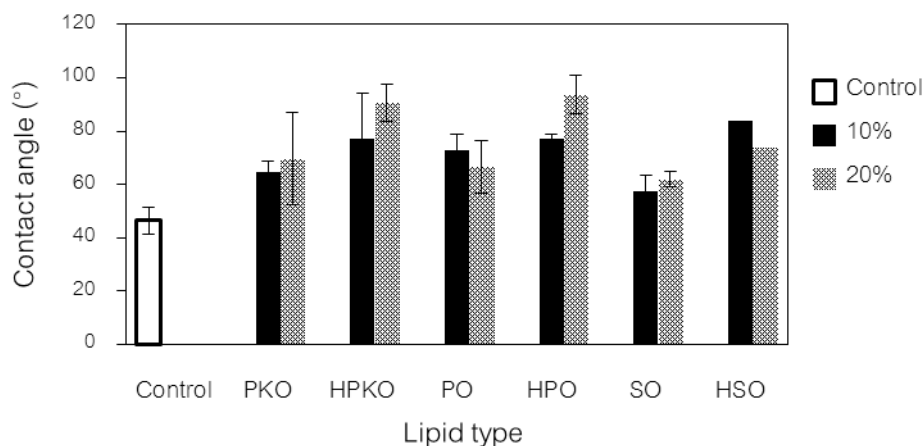
2.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำและมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (WVP) คือปริมาณไอน้ำที่ซึมผ่านจากผิวหน้าด้านหนึ่งต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ผิวต่อหนึ่งหน่วยความหนาของฟิล์มในระยะเวลาที่กำหนดและภายใต้ภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ส่วนมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มบ่งบอกถึงสมบัติความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำของผิวฟิล์ม หากผิวฟิล์มมีสมบัติไม่ชอบน้ำ ค่ามุมสัมผัสระหว่างน้ำหยดกับผิวฟิล์มจะมีค่าสูง (Rios *et al.*, 2007) รูปที่ 6

และ 7 แสดง WVP และมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดตามลำดับ



รูปที่ 6 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่แปรชนิดและความเข้มข้นของลิพิด



รูปที่ 7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่แปรชนิดและความเข้มข้นของลิพิด

จากรูปที่ 6 และ 7 พบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดมี WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิดสอดคล้องกับมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มที่มีค่าเพิ่มขึ้น โดยฟิล์มที่เติม HPKO เข้มข้น 20% มี WVP ต่ำที่สุดและมีมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มสูง ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Kamper and Fennema (1984) ซึ่งศึกษา WVP ของฟิล์มอิมัลชันจากไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสและลิพิดชนิดต่างๆ ได้แก่ ไขผึ้ง พาราฟิน และน้ำมันปาล์มไฮโดรจีเนต และพบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดมี WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด นอกจากนี้ Kamper and Fennema (1984) ยังรายงานว่าฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสที่เติมกรดไขมัน ได้แก่ กรดลอริก กรดสเตียริก กรดโอเลอิก และกรดสเตียริกผสมกรดพาล์มมิก มี WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมกรดไขมัน และ

Monedero *et al.* (2009) ศึกษาผลของการเติมไขมันต่อ WVP ของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่าการเติมไขมันส่งผลให้ WVP ของฟิล์มมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมไขมัน

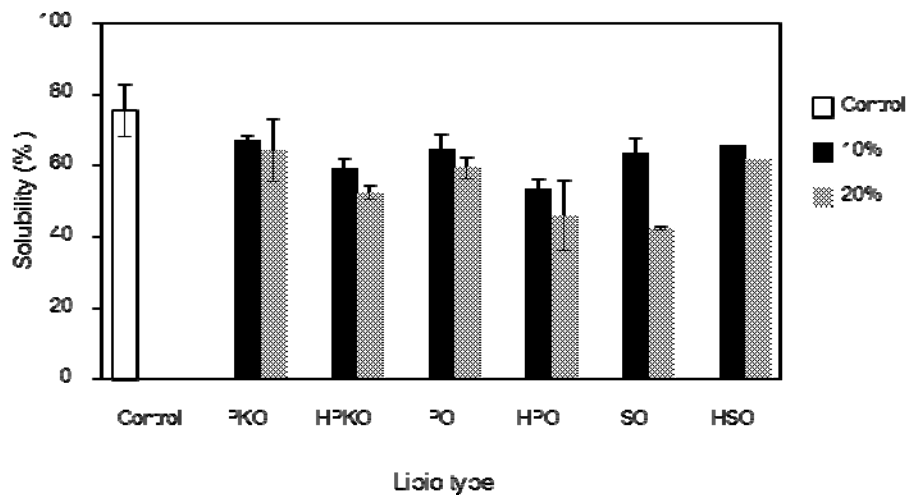
ในด้านผลของความเข้มข้นของลิพิด โดยทั่วไปพบว่าเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น WVP มีค่าลดลง สอดคล้องกับมุมมองระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มที่มีค่าเพิ่มขึ้น Shellhammer and Krochta (1997) ศึกษาผลของปริมาณลิพิดต่อ WVP ของฟิล์มเวย์โปรตีนและรายงานผลในทำนองเดียวกัน โดยลิพิดที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ ไขมันนม ไขมันไก่ แคนเดิลลาแว็กซ์ และคาร์นูบาแว็กซ์ นอกจากนี้ Yang and Paulson (2000) ศึกษาผลของการเติมลิพิดต่อ WVP ของฟิล์มเจลแลนกัน โดยลิพิดที่ใช้ศึกษา ได้แก่ ไขมัน และกรดพาล์มมิติกผสมกรดสเตียริก แปรความเข้มข้นของลิพิดตั้งแต่ 0-20% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเท่ากับ 20% ค่า WVP ของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วน Han *et al.* (2006) ศึกษาผลของปริมาณไขมันต่อ WVP ของฟิล์มสตาร์ชจาก Canadian yellow field pea และรายงานว่าเมื่อความเข้มข้นของไขมันเพิ่มขึ้น WVP ของฟิล์มมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วน Kokoszka *et al.* (2010) รายงานว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเรพซิดที่เติมในฟิล์มเวย์โปรตีนเพิ่มสูงขึ้น มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าเพิ่มสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาผลของไฮโดรจีเนชันของลิพิด โดยทั่วไปพบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดไฮโดรจีเนตมี WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมลิพิดที่ไม่ไฮโดรจีเนต ในทำนองเดียวกันพบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดไฮโดรจีเนตมีค่ามุมสัมผัสสูงกว่าฟิล์มที่เติมลิพิดที่ไม่ไฮโดรจีเนต ทั้งนี้เนื่องจากลิพิดไฮโดรจีเนตมีความเป็นขั้วต่ำกว่าและมีความไม่ชอบน้ำสูงกว่า (Peroval *et al.*, 2002) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kamper and Fennema (1984) ซึ่งศึกษาผลของลิพิดต่อ WVP ของฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส และพบว่าฟิล์มที่เติมกรดสเตียริกซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัวมี WVP ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมกรดโอเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว McHugh and Krochta (1994) เสนอว่า WVP ของฟิล์มอิมัลชันสัมพันธ์กับจุดหลอมเหลวและการละลายของลิพิด โดยลิพิดที่มีจุดหลอมเหลวสูงและมีความสามารถในการละลายต่ำจะมีผลลด WVP ของฟิล์มได้มากกว่า

2.6 ความสามารถในการละลายน้ำ

รูปที่ 8 แสดงความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลือง พบว่าการเติมลิพิดส่งผลให้ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มลดลง โดยความสามารถในการละลายน้ำมีค่าลดต่ำลงเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น โดยผลที่ได้นี้สอดคล้องกับมุมมองระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มและสอดคล้องกับงานวิจัยของ Perez-Mateos *et al.* (2007) ที่ศึกษาผลของการเติมน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มเจลาตินที่ผลิตจากปลาเค็ม โดยแปรความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันเป็น 0, 0.3, 0.6 และ 1% พบว่าฟิล์มที่ไม่เติมน้ำมันมีความสามารถในการละลายน้ำสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตาม Zahedi *et al.* (2010) รายงานผลที่ต่างไป โดยพบว่าชนิด (กรดสเตียริกและกรดพาล์มมิติก) และความเข้มข้น (2, 4 และ 6%) ของกรดไขมันไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนจากพิสตาชิโออย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกรดไขมันมีความเป็น

สูงกว่าไตรกลีเซอไรด์ การเติมกรดไขมันจึงไม่ส่งผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนมากเท่ากับการเติมไตรกลีเซอไรด์

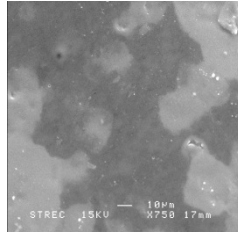


รูปที่ 8 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่แปรชนิดและความเข้มข้นของลิพิด

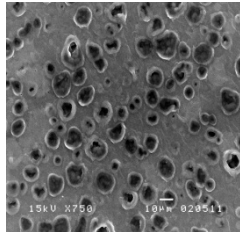
2.7 ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง

รูปที่ 9 และ 10 แสดงลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองตามลำดับพบว่าลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มควบคุมที่ไม่เติมลิพิดมีลักษณะที่เรียกว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมลิพิด เมื่อพิจารณาฟิล์มที่เติมน้ำมันไฮโดรจีเนต (HPKO, HPO และ HSO) พบว่ามีอนุภาคลิพิดหรือกลุ่มของอนุภาคลิพิดขนาดใหญ่ซึ่งการกระจายตัวอย่างไม่สม่ำเสมอเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เติมน้ำมันที่ไม่ไฮโดรจีเนต (PKO, PO และ SO) ผลที่ได้สนับสนุนผลการวิจัยที่พบว่าการเติมลิพิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งลิพิดไฮโดรจีเนตมีผลให้ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมี TS และ EB ลดต่ำลง เนื่องจากอนุภาคของลิพิดมีผลขัดขวางโครงสร้างที่เป็นร่างแหต่อเนื่องของโปรตีน และผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Vargas *et al.* (2009) ซึ่งรายงานว่ฟิล์มโคโคซานที่ไม่เติมกรดโอเลอิกมีลักษณะพื้นผิวที่เรียกว่าฟิล์มที่เติมกรดโอเลอิก และเมื่อความเข้มข้นของกรดโอเลอิกเพิ่มสูงขึ้น ขนาดอนุภาคของลิพิดในเมทริกซ์ของฟิล์มมีขนาดใหญ่ขึ้น

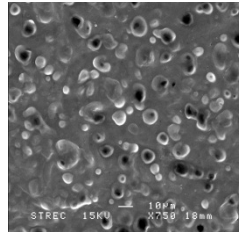
(Control)



(PKO)

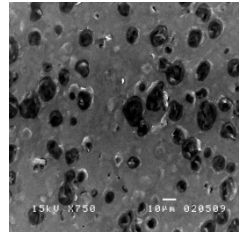


(10%)

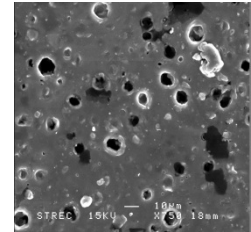


(20%)

(HPKO)

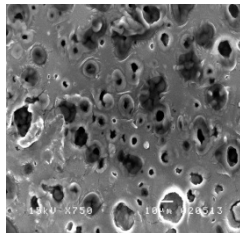


(10%)

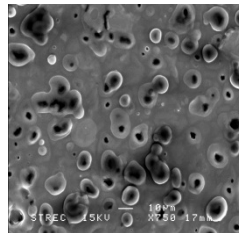


(20%)

(PO)

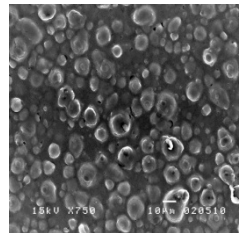


(10%)

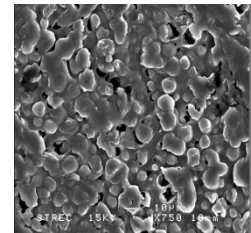


(20%)

(HPO)

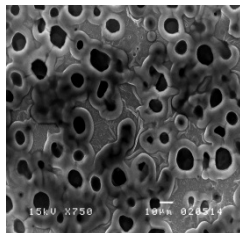


(10%)

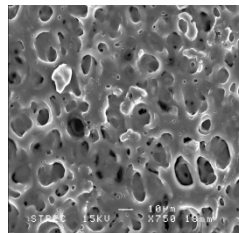


(20%)

(SO)

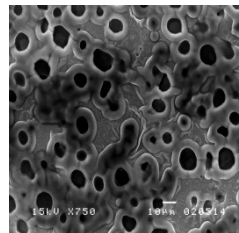


(10%)

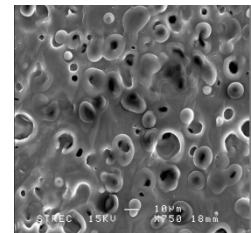


(20%)

(HSO)



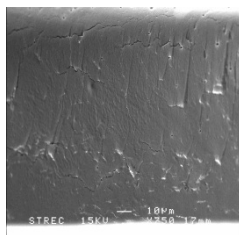
(10%)



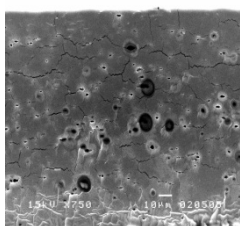
(20%)

รูปที่ 9 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลือง

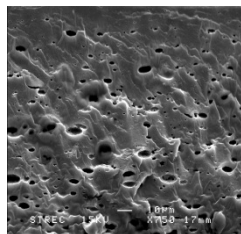
(Control)



(PKO)

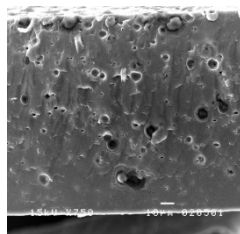


(10%)

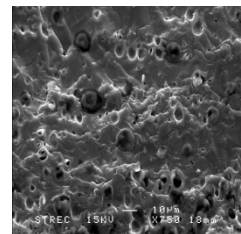


(20%)

(HPKO)

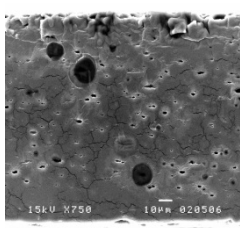


(10%)

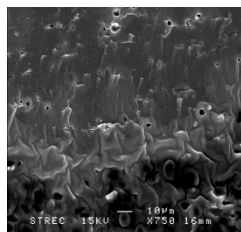


(20%)

(PO)

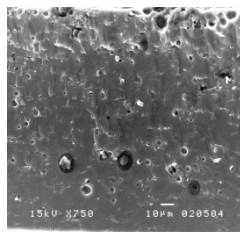


(10%)

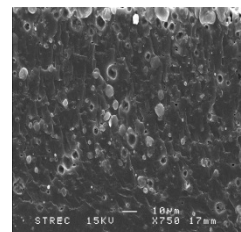


(20%)

(HPO)

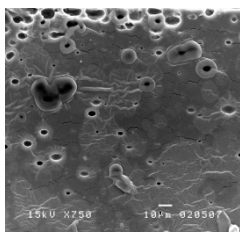


(10%)

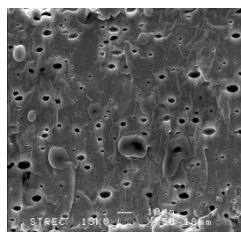


(20%)

(SO)

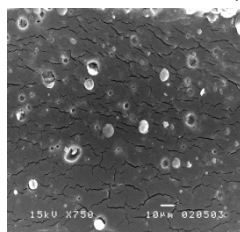


(10%)

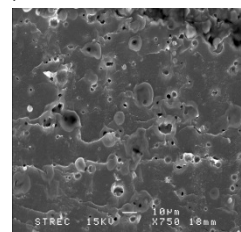


(20%)

(HSO)



(10%)



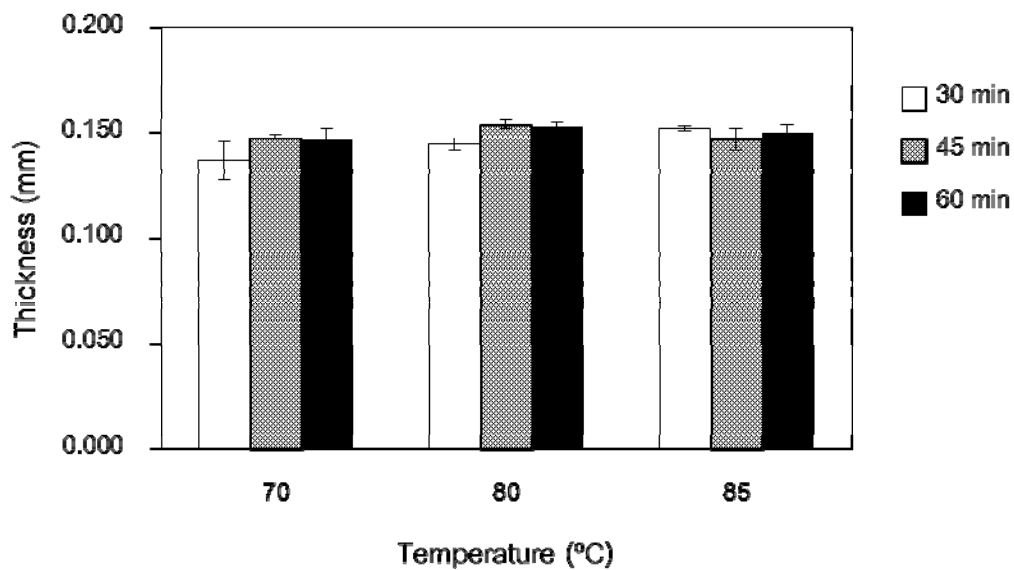
(20%)

รูปที่ 10 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลือง

3. ผลของอุณหภูมิและเวลาในการบ่มต่อสมบัติของฟิล์มอีพอกซีโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

3.1 ความหนา

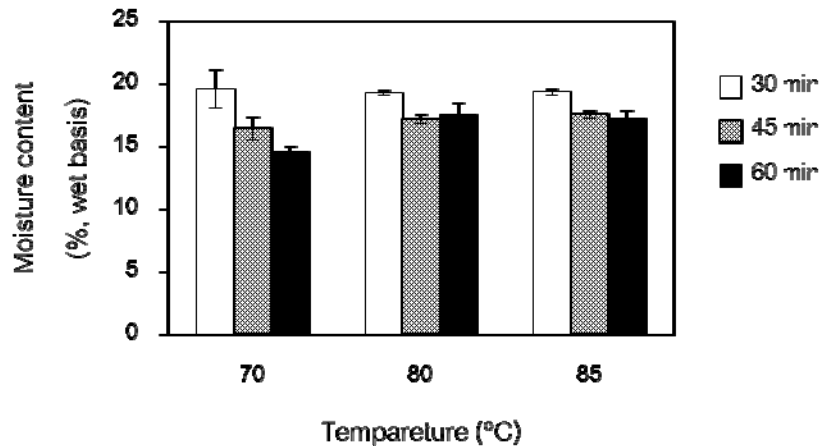
รูปที่ 11 แสดงความหนาของฟิล์มอีพอกซีจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆพบว่าระยะเวลา และอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและระยะเวลามีผลต่อความหนาของฟิล์มอีพอกซีจากโปรตีนถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และอุณหภูมิมีผลต่อความหนาของฟิล์มอีพอกซีจากโปรตีนถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) โดยพบว่า การบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ฟิล์มมีความหนาสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิสูงและ/หรือเป็นระยะเวลานานทำให้ตัวทำละลายในสารละลายฟิล์มระเหยออกได้มากกว่า ส่งผลให้ปริมาณของแข็งในสารละลายฟิล์มเพิ่มขึ้นและฟิล์มมีความหนามากขึ้น



รูปที่ 11 ความหนาของฟิล์มอีพอกซีจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

3.2 ปริมาณความชื้น

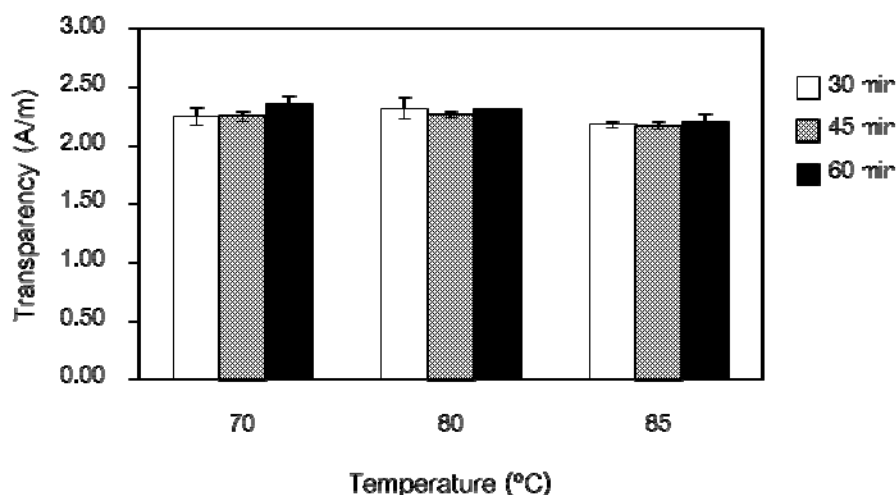
รูปที่ 12 แสดงปริมาณความชื้นของฟิล์มอีพอกซีที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆพบว่าอุณหภูมิและอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มมีผลต่อปริมาณความชื้นของฟิล์มอีพอกซีจากโปรตีนถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และระยะเวลามีผลต่อปริมาณความชื้นของฟิล์มอีพอกซีจากโปรตีนถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) สำหรับผลของอุณหภูมิการบ่มสารละลายฟิล์มพบว่าฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่ 80 และ 85 °C มีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกัน ในขณะที่เดียวกันเมื่อระยะเวลาการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มสูงขึ้นพบว่าปริมาณความชื้นของฟิล์มมีค่าลดลง โดยฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มเป็นระยะเวลา 60 นาทีมีปริมาณความชื้นต่ำที่สุด



รูปที่ 12 ปริมาณความชื้นของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

3.3 ความโปร่งแสง

ความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ แสดงดังรูปที่ 13 พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) เมื่ออุณหภูมิการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น ความโปร่งแสงของฟิล์มมีค่าลดลง โดยฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่ 85 °C มีความโปร่งแสงต่ำที่สุด ความโปร่งแสงที่ลดลงนี้อาจเนื่องจากความหนาที่เพิ่มสูงขึ้น สำหรับระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มและอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและระยะเวลาพบว่าไม่มีผลต่อความโปร่งแสงของฟิล์ม ($p > 0.05$) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Choi and Han (2002) ซึ่งศึกษาการบ่มสารละลายฟิล์มโปรตีนจาก Canadian yellow field pea ที่ 90°C เป็นเวลา 0, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาทีพบว่าระยะเวลาการบ่มสารละลายฟิล์มไม่มีผลต่อความโปร่งแสงของฟิล์ม

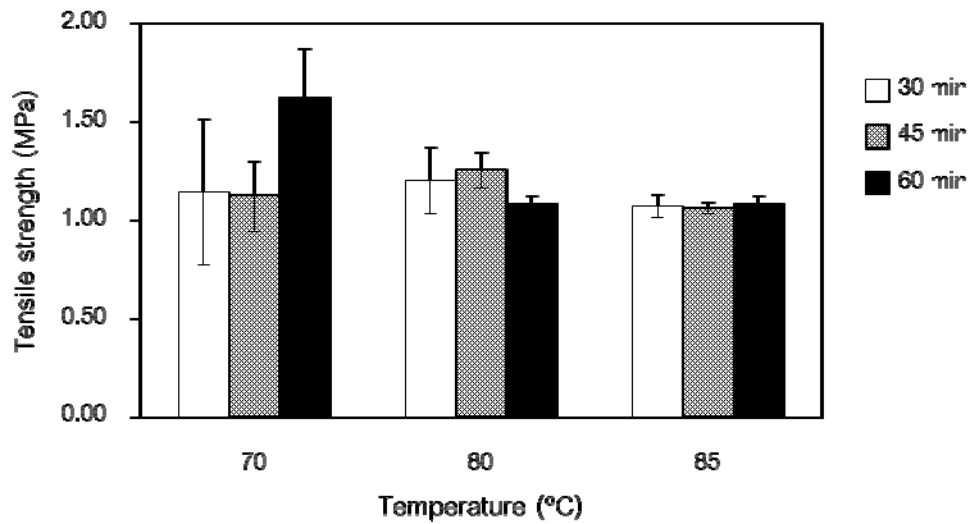


รูปที่ 13 ความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

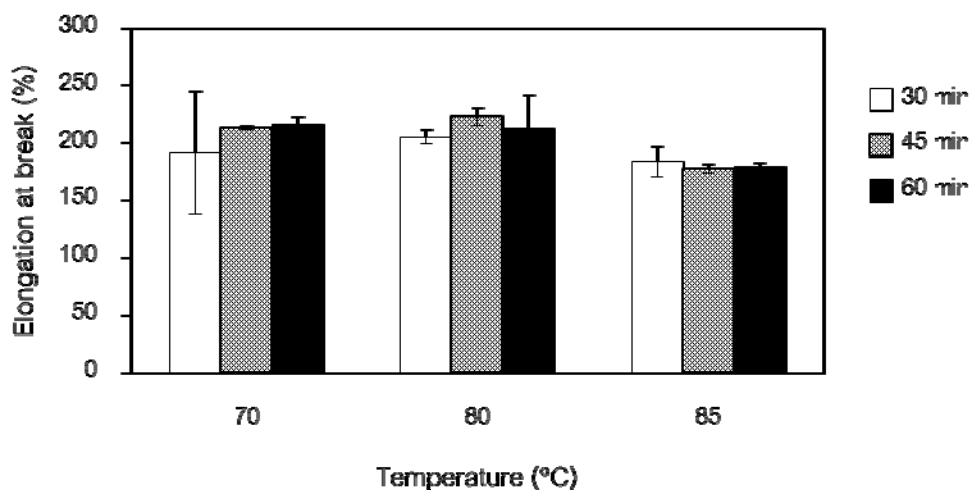
3.4 สมบัติเชิงกล

รูปที่ 14 และ 15 แสดงความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength, TS) และการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break, EB) ของฟิล์มอิมัลชันตามลำดับ พบว่าอุณหภูมิและอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มมีผลต่อ TS ของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มไม่มีผลต่อ TS ของฟิล์ม ($p > 0.05$) สำหรับ EB พบว่าอุณหภูมิในการบ่มสารละลายฟิล์มมีผลต่อ EB ของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) แต่ระยะเวลาและอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและระยะเวลาไม่มีผลต่อ EB ของฟิล์ม ($p > 0.05$)

การบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นระยะเวลา 60 นาทีส่งผลให้ฟิล์มมีค่า TS และ EB สูงที่สุด (1.62 MPa และ 216.48 % ตามลำดับ) Park *et al.* (2002) เสนอว่าการบ่มสารละลายโปรตีนด้วยความร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เช่น โปรตีนถั่วเหลือง สามารถช่วยเพิ่มการเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลโปรตีนได้ โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 °C ในภาวะที่เป็นด่างจะทำให้สายโซ่พอลิเพปไทด์คลายตัวออก เป็นผลให้หมู่ซัลฟ์ไฮดริลและหมู่ไฮโดรโฟบิกที่อยู่ภายในปรากฏขึ้นที่ด้านนอกของโมเลกุล และสามารถเกิดพันธะเชื่อมข้ามได้ นอกจากนี้ Jensen (1959) รายงานว่าภาวะที่เป็นด่างยังช่วยเสริมการเกิดปฏิกิริยา thiol-disulfide exchange ซึ่งเพิ่มการเชื่อมข้ามของโมเลกุลโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์อีกด้วย



รูปที่ 14 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



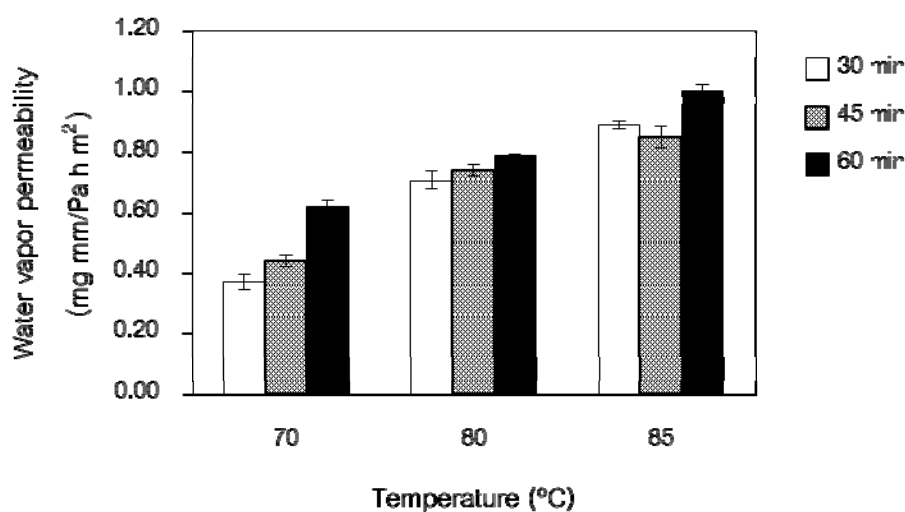
รูปที่ 15 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนที่มากเกินไปอาจส่งผลเชิงลบต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์ม ตัวอย่างเช่น ฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 85°C เป็นเวลา 60 นาทีมี TS และ EB ต่ำที่สุด เนื่องจากเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงอาจทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติและไม่สามารถเกิดเป็นโครงร่างแหที่แข็งแรงได้

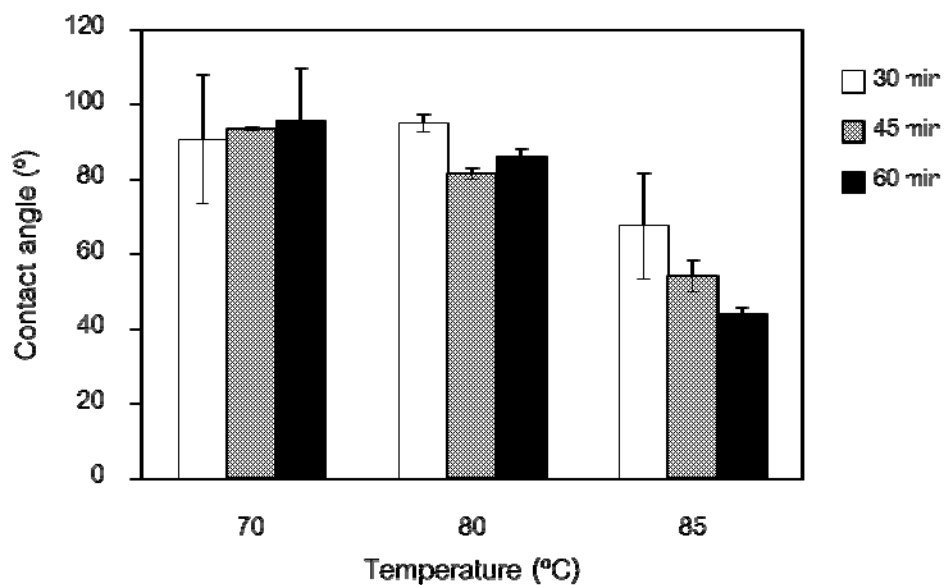
3.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ(water vapor permeability, WVP) และมัมส์ผสมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

รูปที่ 16 และ 17 แสดง WVP และมัมส์ผสมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มของฟิล์มอิมัลชันตามลำดับพบว่าอุณหภูมิระยะเวลา และอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มมีผลต่อ WVP ของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) เมื่ออุณหภูมิหรือระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มขึ้น WVP ของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิสูงหรือระยะเวลานานทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติส่งผลทำให้โครงสร้างร่างแหของฟิล์มเชื่อมต่อกันไม่หนาแน่นเกิดเป็นลักษณะรูพรุนทำให้ไอน้ำสามารถซึมผ่านได้ดี

สำหรับมัมส์ผสมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มพบว่าอุณหภูมิในการบ่มสารละลายฟิล์มมีผลต่อมัมส์ผสมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) ในขณะที่ระยะเวลาและอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและระยะเวลาไม่มีผลต่อค่ามัมส์ผสม ($p > 0.05$) โดยมัมส์ผสมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มสูงขึ้น ผลที่ได้สัมพันธ์กับ WVP ที่เพิ่มขึ้น จากงานวิจัยนี้พบว่าฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 85°C เป็นเวลา 60 นาทีมีค่า WVP สูงที่สุดและมีมัมส์ผสมระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มต่ำที่สุด (1.00 mg mm/Pa h m² และ 43.91 ตามลำดับ) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนมีผลให้สมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มลดต่ำลง



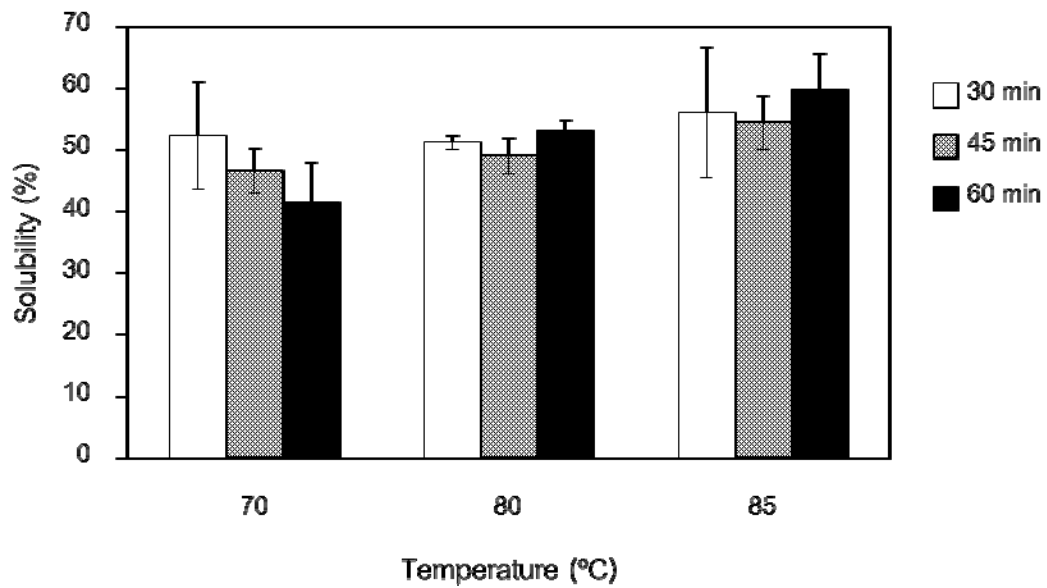
รูปที่ 16 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 17 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

3.6 ความสามารถในการละลายน้ำ

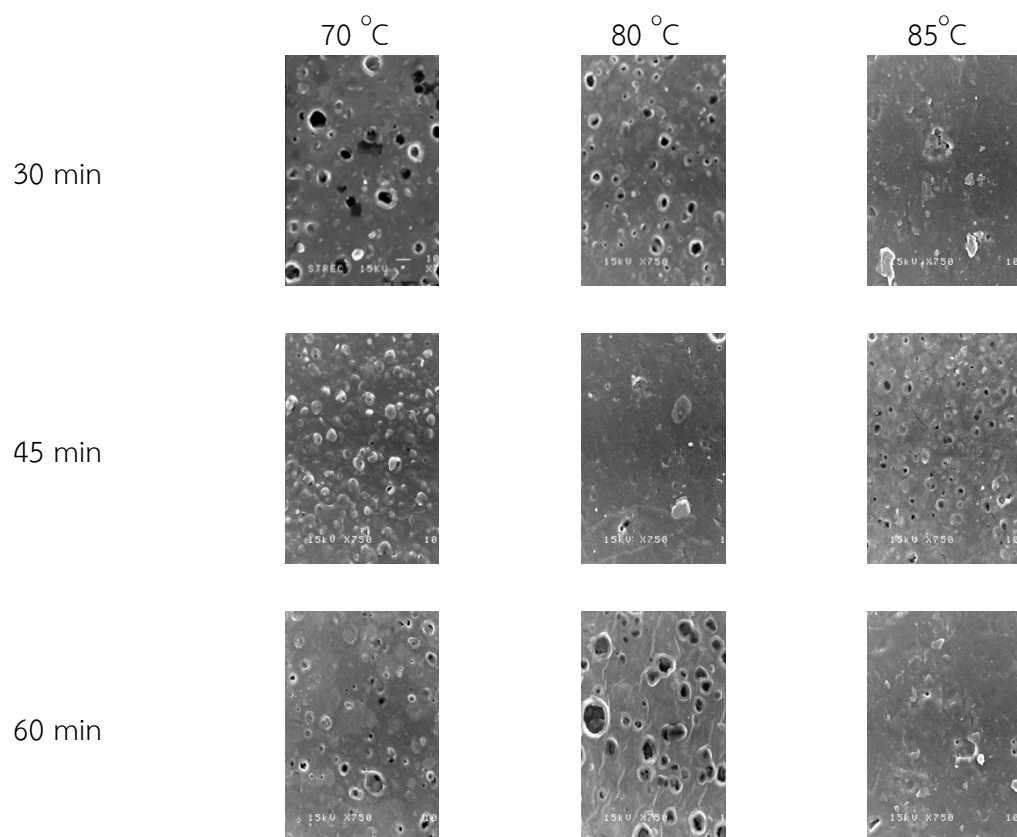
อุณหภูมิมีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) ในขณะที่ระยะเวลาและอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มสารละลายฟิล์มไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม ($p > 0.05$) จากรูปที่ 18 จะเห็นได้ว่าเมื่ออุณหภูมิในการบ่มสารละลายฟิล์มเพิ่มขึ้นความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้น ตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70 °C มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำที่สุด ในขณะที่ตัวอย่างฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 85 °C มีความสามารถในการละลายน้ำสูงที่สุด ผลที่ได้สอดคล้องกับผลการวิจัยในหัวข้อก่อนหน้านี้ซึ่งพบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนมีผลให้สมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มอิมัลชันลดต่ำลง



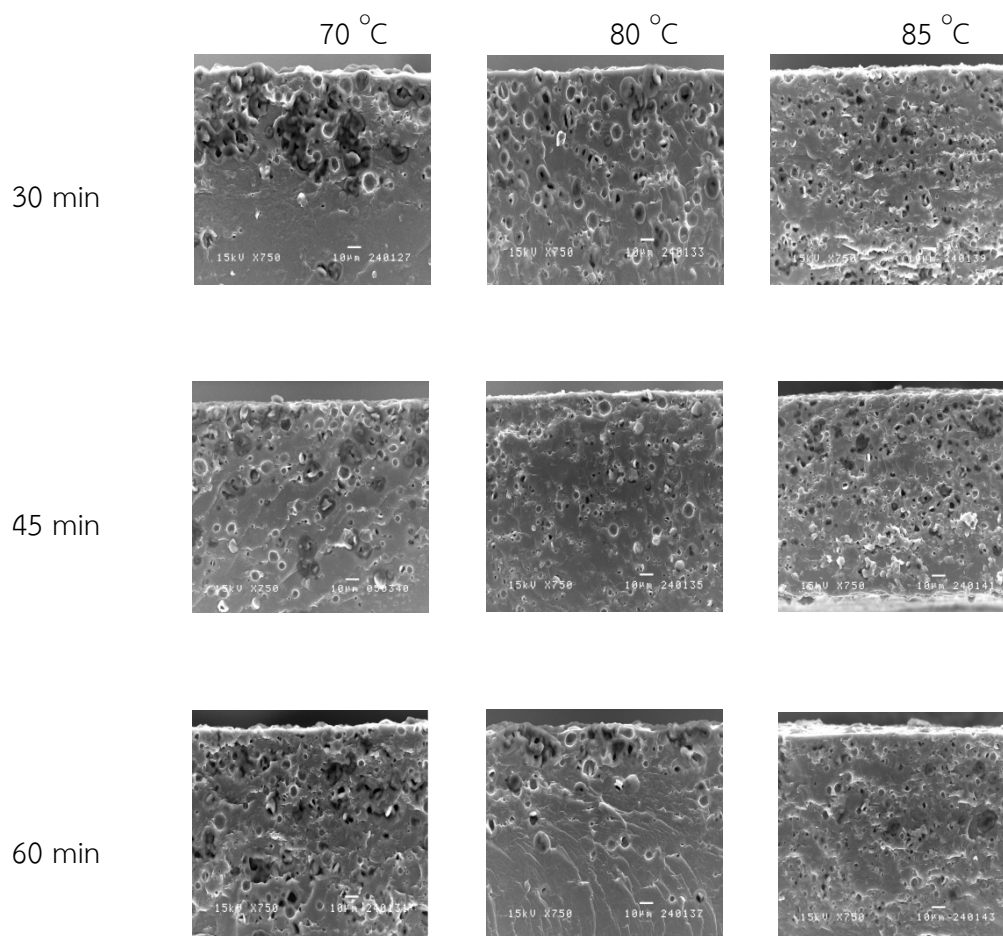
รูปที่ 18 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

3.7 ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง

ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มอิมัลชันดังแสดงดังรูปที่ 19 และ 20 โดยจะเห็นอนุภาคของลิพิดกระจายตัวอยู่ในโครงสร้างของฟิล์ม ฟิล์มที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างกันมีลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางที่ไม่ต่างกันมากนัก แสดงว่าการบ่มสารละลายฟิล์มไม่มีผลสำคัญต่อการกระจายตัวหรือขนาดอนุภาคของลิพิดในระบบอิมัลชันสมบัติของฟิล์มที่เป็นผลจากการบ่มสารละลายฟิล์มจึงอาจเป็นผลจากโครงสร้างระดับโมเลกุลของโปรตีนเนื่องจากการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อนสามารถช่วยเพิ่มการเชื่อมข้ามระหว่างโมเลกุลของโปรตีน (Park *et al.*, 2002)



รูปที่ 19 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มอีพอกซีจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 85 °C เป็นระยะเวลา 30, 45 และ 60 นาที



รูปที่ 20 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ผลิตโดยบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70, 80 และ 85 °C เป็นระยะเวลา 30, 45 และ 60 นาที

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลการทดลองเบื้องต้นในการขึ้นรูปฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและพบว่าสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ และในระยะที่ 2 ได้ศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่าฟิล์มอิมัลชันมีความหนาสูงกว่าและความโปร่งแสงต่ำกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด (ตัวอย่างควบคุม) ด้านสมบัติเชิงกลพบว่าการเติมลิพิดส่งผลให้ความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) มีค่าลดต่ำลง อย่างไรก็ตามการเติมลิพิดไม่ส่งผลถึงการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) ของฟิล์มอิมัลชันมากนัก การเติมลิพิดสามารถช่วยปรับปรุงสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง

โดยฟิล์มอิมัลชันมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) และความสามารถในการละลายน้ำที่ลดลง รวมทั้งคุณสมบัติระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มที่เพิ่มขึ้น สำหรับความเข้มข้นของลิพิดพบว่าการเติมลิพิดเข้มข้น 10 หรือ 20% มีผลค่อนข้างน้อยต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชัน ในด้านผลของชนิดของลิพิดพบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดไฮโดรจีเนตมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำกว่าและมีสมบัติความไม่ชอบน้ำสูงกว่าฟิล์มที่เติมลิพิดที่ไม่ไฮโดรจีเนต จากงานวิจัยนี้พบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนต (hydrogenated palm kernel oil) เข้มข้น 20% มีสมบัติความไม่ชอบน้ำที่สูงที่สุด แต่มีข้อจำกัดในสมบัติเชิงกล งานวิจัยในช่วงที่ 3 นี้จึงนำฟิล์มที่เติมน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนตเข้มข้น 20% มาปรับปรุงสมบัติเชิงกลโดยการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน (heat curing of film-forming solution) การศึกษาสมบัติเชิงกลของฟิล์มที่เติมน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนตเข้มข้น 20% มาปรับปรุงสมบัติเชิงกลโดยการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน (heat curing of film-forming solution) จากผลการวิจัยพบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนต (hydrogenated palm kernel oil) เข้มข้น 20% มีสมบัติความไม่ชอบน้ำที่สูงที่สุด แต่มีข้อจำกัดในสมบัติเชิงกล จึงนำฟิล์มที่เติมน้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนตเข้มข้น 20% มาปรับปรุงสมบัติเชิงกลโดยการบ่มสารละลายฟิล์มด้วยความร้อน (heat curing of film-forming solution) พบว่าการบ่มสารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดสูงที่สุด แต่มีผลให้สมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มด้อยลง

โดยสรุปพบว่าฟิล์มอิมัลชันที่พัฒนาได้ในโครงการนี้มีสมบัติด้านการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำและความไม่ชอบน้ำเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันก็มีความต้านทานแรงดึงขาดที่ลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่ไม่เติมลิพิด จึงอาจนำฟิล์มที่พัฒนาได้นี้ไปประยุกต์ในงานที่ต้องการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารเนื้อสัตว์แปรรูป ผลิตภัณฑ์ผลไม้แปรรูป ในด้านต้นทุนการผลิต วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิต ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลืองสกัด กลีเซอรอล และลิพิด สำหรับโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีราคาในช่วง 800-4,000 เหรียญสหรัฐต่อเมตริกตัน กลีเซอรอลมีราคาในช่วง 700-1,200 เหรียญสหรัฐต่อเมตริกตัน ส่วนราคาของลิพิดขึ้นกับชนิดของลิพิดที่เลือกใช้ เช่น น้ำมันเมล็ดในปาล์มไฮโดรจีเนตมีราคาในช่วง 1,600-3,000 เหรียญสหรัฐต่อเมตริกตัน

บรรณานุกรม

- Anonymous. 1997. Edible films solve problems. Food Technology 51: 60-64.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. Washington, D. C.: The Association of Official Analytical Chemists.
- ASTM. 1999. Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.
- Avena-Bustillos, R. J. and Krochta, J. M. 1993. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium cross-linking and lipid content. Journal of Food Science 58: 904-907.

- Chana-Thaworn, J., Chanthachum, S. and Wittaya, T. 2011. Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceotatum*) extract. LWT: Food Science and Technology 44: 284-292.
- Choi, W. S. and Han, J. H. 2002. Film-forming mechanism and heat denaturation effect on the physical and chemical properties of pea-protein-isolate edible films. Journal of Food Science 67: 1399-1406.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L. and Guilbert, S. 1997. Selected functional of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45 (3): 622-626.
- Fernandez, L., de Apodaca, E. D., Cebrian, M., Villaran, M.C. and Mate, J.I. 2006. Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of whey protein isolate based edible films. European Food Research and Technology 224: 415-420.
- Fukushima, D. 1991. Recent progress of soybean protein foods: chemistry, technology and nutrition. Food Reviews International 7: 323-351.
- Gennadios, A., Ghorpade, V. M., Weller, C. L. and Hanna, M. A. 1996. Heat curing of soy protein films. Transactions of the ASAE 39: 575-579.
- Greener, I. K. and Fennema, O. R. 1989. Barrier properties and surface characteristics of edible, bilayer films. Journal of Food Science 54: 1393-1399.
- Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible protective films. In M. Mathlouthi (ed.), Food Packaging and Preservation, pp. 371-394. New York: Elsevier Applied Science.
- Han, J. H., Seo, G. H., Park, I. M., Kim, G. N. and Lee, D. S. 2006. Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. Journal of Food Science 71: E290-E296.
- Hermansson, A. M. 1978. Physico-chemical aspects of soy proteins structure formation. Journal of Texture Studies 9: 33-58.
- Hernández-Muñoz, P., Villalobos, R. and Chiralt, A. 2004. Effect of thermal treatment on functional properties of edible films made from wheat gluten fractions. Food Hydrocolloids 18: 647-654.
- Jangchud, A. and Chinnan, M. S. 1999. Peanut protein film as affected by drying temperature and pH of film forming solution. Journal of Food Science 64: 153-157.
- Jensen, E. V. 1959. Sulfhydryl-disulfide interchange. Science 130: 1319 -1323.
- Jiang, Y., Tang, C. H., Wen, Q. B., Li, L. and Yang, X. Q. 2007. Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films. Innovative Food Science and Emerging Technologies 8 (2): 218-225.

- Kamper, S. L. and Fennema, O. R. 1984. Water vapor permeability of an edible fatty acid, bilayer films. Journal of Food Science 49: 1482-1485.
- Kokoszka, S., Debeaufort, F., Lenart, A. and Voilley, A. 2010. Liquid and vapour water transfer through whey protein/lipid emulsion films. Journal of the Science of Food and Agriculture 90: 1673-1680.
- Limpisophon, K., Tanaka, M. and Osako, K. 2010. Characterisation of gelatin-fatty acid emulsion films based on blue shark (*Prionace glauca*) skin gelatin. Journal of Food Chemistry 122 (4): 1095-1101.
- McHugh, T. H. and Krochta, J. M. 1994. Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. Journal of the American Oil Chemists' Society 71: 307-312.
- Monedero, F. M., Fabra, M. J., Talens, P. and Chiralt, A. 2009. Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. Journal of Food Engineering 91: 509-515.
- Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M. and Voilley, A. 2002. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 42: 67-89.
- Morse, J. F. 1936. The colour and opacity of emulsions. Transactions of the Faraday Society 32 (0): 941-947.
- Park, S. K., Hettiarachchy, N. S., Ju, Z. Y. and Gennadios, A. 2002. Formation and properties of soy protein films and coatings. In A. Gennadios (ed.), Protein-Based Films and Coatings, pp. 123-137. Boca Raton: CRC Press.
- Perez-Gago, M. B. and Krochta, J. M. 2001. Denaturation time and temperature effect on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. Journal of Food Science 66: 705-710.
- Perez-Gago, M. B., Nadaud, P. and Krochta, J.M. 1999. Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. Journal of Food Science 64: 1034-1037.
- Perez-Mateos, M., Montero, P. and Gomez-Guillen, M. C. 2007. Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. Food Hydrocolloids 23: 53-61.
- Peroval, C., Debeaufort, F., Despre, D. and Voilley, A. 2002. Edible arabinoxylan-based films, effects of lipid type on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 3977-3983.

- Quezada-Gallo, J. A., Debeaufort, F., Callegarin, F. and Voilley, A. 2000. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. Journal of Membrane Science 180: 37- 46.
- Renkema, J. M. S., and van Vliet, T. 2002. Heat-induced gel formation by soy protein at neutral pH. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 1569-1573.
- Rhim, J. W., Gennadios, A., Handa, A., Weller, C. L. and Hanna M. A. 2000. Solubility, tensile, and color properties of modified soy protein isolate films. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48: 4937-4941.
- Rios, P. F., Dodiuk, H., Kenig, S., McCarthy, S. and Dotan, A. 2007. Transparent ultra-hydrophobic surfaces. Journal of Adhesion Science and Technology 21 (5-6): 399-408.
- Roy, S., Weller, C. L., Gennadios, A., Zeece, M. G. and Testin, R. F. 1999. Physical and molecular properties of wheat gluten films cast from heated film-forming solutions. Journal of Food Science 64: 57-60.
- Shellhammer, T. H. and Krochta, J. M. 1997. Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. Journal of Food Science 66: 390-394.
- United Soybean Board. 2004. Soy Protein Isolate [Online]. Available from: <http://talksoy.com> [retrieved on January 14, 2012]
- Utsumi, S., Matsumura, Y. and Mori, T. 1997. Structure-function relationships of soy protein. In S. Damodaran and A. Paraf (eds.), Food Protein and Their Applications, pp. 257-285. New York: Marcel Dekker.
- Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A. and Gonzalez-Martinez, C. 2009. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. Food Hydrocolloids 23: 536-547.
- Yang, L. and Paulson A.T. 2000. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. Food Research International 33: 571-578.
- Zahedi, Y., Ghanbarzadeh, B. and Sedaghat, N. 2010. Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. Journal of Food Engineering 100: 102-108
- Zayas, J. F. 1997. Functionality of Proteins in Food. New York: Springer-Verlag.

โครงการวิจัยย่อยที่ 2

เรื่อง ไมโครเอนแคปซูเลชันของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อใช้สำหรับฟิล์มที่มีหน้าที่เฉพาะ
Microencapsulation of bioactive compounds for use in functional films

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2555 จำนวนเงิน 1,268,000.00- บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 21 เดือน ตั้งแต่ 14 สิงหาคม 2555 ถึง 15 พฤษภาคม 2557

ชื่อผู้วิจัย

1. ผศ.ดร.ชาลิตา บรมพิชัยชาติกุล

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท ปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0 2218 5534 โทรสาร 0 2254 4314

2. ผศ.ดร.รมณี สงวนดีกุล

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท ปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0 2218 5522 โทรสาร 0 2254 4314

3. ผศ.ดร.พาสวดี ประทีปะเสน

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท ปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0 2218 5536 โทรสาร 0 2254 4314

4. ผศ.ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท ปทุมวัน
กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0 2218 5531 โทรสาร 0 2254 4314

5. ผศ.ดร.ณัฐพล ภูมิสะอาด

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม
โทรศัพท์ 0 4375 4316 โทรสาร 0 4375 4316

6. ผศ.ดร.ละมุล วิเศษ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม
โทรศัพท์ 0 4375 4316 โทรสาร 0 4375 4316

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสัตว์และพืชให้อยู่ในรูปที่เสถียรและสามารถเก็บไว้ในภาชนะที่อุณหภูมิห้องได้ โดยศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันของสารสกัดจากสัตว์และพืชที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลินทรีย์ เพื่อมาใช้ขึ้นรูปร่วมกับฟิล์มย่อยสลายได้จากพอลิเมอร์ธรรมชาติ เพื่อให้ฟิล์มนั้นมีสมบัติที่มีหน้าที่เฉพาะ นอกเหนือจากหน้าที่ในการปกป้องอาหาร และเพื่อให้

ฟิล์มมีความหลากหลาย และจำเพาะเจาะจงต่อการใช้ประโยชน์มากขึ้น โดยมีผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้น 3 ผลิตภัณฑ์ด้วยกันดังนี้ (1) ไฮโดรไลเสทจากโครงปลานิล (2) โลโพโซมน้ำมันสาระแหน่ (3) ไมโครแคปซูลของสารสกัดจากใบหม่อน แต่ละผลิตภัณฑ์มีกระบวนการผลิตที่ศึกษาได้ผลดังต่อไปนี้ **ผลิตภัณฑ์ที่ 1** ไฮโดรไลเสทจากโครงปลานิล โดยมีสถานะที่เหมาะสมคือ โครงปลานิลที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาอบแห้งโดยวิธีการอบแห้งแบบพ่นกระจาย โดยมีอัตราการไหลของอากาศ ภายในเครื่องทำแห้งคงที่ 30%, ค่า aspiration เท่ากับ 100, อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า 150 °C, อุณหภูมิลมร้อนขาออกอยู่ในช่วง 80-90°C, Feed rate 30% (7 มิลลิลิตรต่อนาที) ใช้ maltodextrin (10% DE) ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวอย่าง **ผลิตภัณฑ์ที่ 2** โลโพโซมน้ำมันสาระแหน่ พบว่า การแปรชนิดและปริมาณตัวทำอิมัลชัน สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีรูปแบบต่างกันและความสามารถในการกักเก็บน้ำมันสาระแหน่ในปริมาณที่ต่างกัน การที่ผลิตภัณฑ์มีขนาดอนุภาคและความเข้มข้นของน้ำมันสาระแหน่ต่างกันทำให้ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่างกัน เมื่อนำมาขึ้นรูปฟิล์มโดยใช้คาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลส สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้ แต่สมบัติเชิงกลของฟิล์มและการป้องกันการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มต้องมีการปรับปรุงต่อไป **ผลิตภัณฑ์ที่ 3** ไมโครแคปซูลของสารสกัดจากใบหม่อน โดยพบว่าสถานะที่เหมาะสมในการผลิตไมโครแคปซูลของสารสกัดจากใบหม่อนเพื่อให้ได้ไมโครแคปซูลที่สามารถกักเก็บสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญจากใบหม่อนนั้นมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้นั้นมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นของเอทานอล 60% เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญจากใบหม่อน เนื่องจากสารสกัดจากใบหม่อนที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง หลังจากนั้นเมื่อนำสารสกัดจากใบหม่อนที่ได้เอนแคปซูเลทด้วยสารเคลือบ 2 ชนิด คือ ผงบุกและมอลโตเดกซ์ทริน เพื่อเปลี่ยนสถานะของสารสกัดที่ได้จากของเหลวให้อยู่ในรูปของไมโครแคปซูลด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย สถานะที่ใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลนั้นมีผลต่อความสามารถในการกักเก็บสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งอัตราส่วนของสารเคลือบ 2 ชนิด คือ ผงบุกและมอลโตเดกซ์ทริน ปริมาณของสารสกัดจากใบหม่อนต่อปริมาณสารเคลือบ และอุณหภูมิอากาศขาเข้า โดยสถานะที่เหมาะสมในการผลิตไมโครแคปซูลของสารสกัดจากใบหม่อนเพื่อให้ได้ไมโครแคปซูลที่สามารถกักเก็บสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง คือ อัตราส่วนของผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทริน เท่ากับ 3:1 ปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนต่อปริมาณสารเคลือบเท่ากับ 30% และอุณหภูมิอากาศขาเข้าเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส นอกจากนั้นยังสร้างเครื่องอบแห้งที่เหมาะสมสำหรับอบฟิล์มที่มีหน้าที่เฉพาะ เพื่ออบแห้งฟิล์มบริโภคน้ำได้ที่มีหน้าที่เฉพาะเสร็จสิ้นเรียบร้อย

Abstract

This research is aimed to produce bioactive compounds extracted from animal and plant in the stable form that can be stored at ambient temperature. In this research microencapsulation technique was employed to study the process of encapsulation of extract from animal and plant which give antioxidant and antimicrobial properties to be used incorporated with biodegradable film from natural polymer to produce functional film. The products from this project include (1) Tipalia fish protein hydrolysate (2) Mint oil liposome (3) Mulberry leave extract microcapsule. The condition of production of each

product is as followed; product no. 1 Tilapia fish protein hydrolysate was prepared by hydrolysis Tilapia fish bone by using enzyme at the concentration of 2% w/w for 1 hour. Then the slurry was spray dried at air flow rate of 30%, aspiration of 100, inlet air temperature of 150 °C, outlet air temperature at 80-90 °C, feed rate at 30% (7 ml per min) using maltodextrin (10% DE) as drying aid at 10% w/w. Product no. 2 Mint oil liposome, for this study found that different type and amount of emulsifier can produce liposome product that have different pattern and encapsulation efficiency. The size of liposome and concentration of mint oil have effect on antimicrobial properties of mint oil liposome. When mint oil liposome was incorporated into methylcarboxyl cellulose film, the film can be formed but mechanical property and water vapor transimission need to be improved. Product no. 3, mulberry leave extract microcapsule, it was found that when the ethanolic extract of mulberry leaf was screened by Ferric Reducing Antioxidant Potential (FRAP) method and 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay. On the basis of FRAP method and DPPH radical scavenging assay of each concentration of ethanol in the mulberry leaf extracts, the antioxidant activity of 60% ethanolic extract of mulberry leaf was the most potent antioxidant in all the assays used. After the extraction, the mulberry leaf extract were encapsulated and transformed to powder by spray drying using coating materials namely, Konjac glucomannan (KGM) and maltodextrin (DE 20). Three parameters that were optimized are (1) amount of Konjac glucomannan (75-83.3%), (2) amount of mulberry leaves extract (15-30%) and (3) Inlet temperature (150-180 ° C). From the result it was found that at 3:1 ratio of konjac glucomannan/maltodextrin, 30% mulberry leaf extract and Inlet air temperature of 180 ° C yielded a highest antioxidant capacity powder when compared to other conditions.

บทนำ

ประเทศไทยมีความหลากหลายของพืชและสัตว์ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมอาหารและชีวภาพเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชและสัตว์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลินทรีย์ และให้คุณค่าทางอาหาร มีงานวิจัยจำนวนมากศึกษาการสกัดนำสารเหล่านั้นมาใช้โดยตรงในการเป็นส่วนผสมในอุตสาหกรรมอาหารและยา แต่ในกระบวนการปกป้องและถนอมอาหารให้มีความปลอดภัยและมีอายุการเก็บที่นานขึ้นมีการนำประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชและสัตว์มาใช้น้อย โดยเฉพาะสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร ถ้านำมาแปรรูปและเพิ่มมูลค่าในรูปของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะเป็นการใช้ทรัพยากรทางการเกษตรอย่างคุ้มค่า แต่สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมักมีความไวต่อสภาพแวดล้อมและเสื่อมสลายได้ง่าย ดังนั้นจึงต้องศึกษาวิธีการห่อหุ้มสารเหล่านั้นเสียก่อนนำไปใช้วิธีการดังกล่าวคือ กระบวนการทำให้อยู่ในรูปไมโครแคปซูล (Microencapsulation) ซึ่งสามารถกักเก็บสารสำคัญภายในสารเคลือบพอลิเมอร์ธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย เมื่อได้ไมโครแคปซูลของ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งมีความเสถียรและมีสมบัติในด้านต่างๆ เช่น ด้านอนุมูลอิสระ ด้านจุลินทรีย์ และให้คุณค่าทางอาหาร สามารถนำโมโครแคปซูลของสารเหล่านี้ไปใช้ผสมในการทำฟิล์มย่อยสลายได้ให้มีหน้าที่เฉพาะเพื่อใช้ในการถนอมอาหารและลดการเสื่อมเสีย รวมถึงเป็นบรรจุภัณฑ์ด้วย

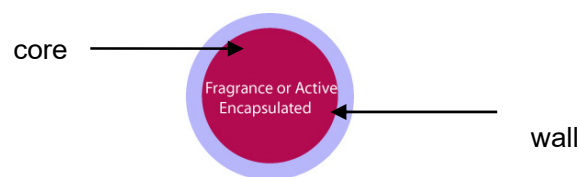
สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากพืชและสัตว์ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ด้านจุลินทรีย์ หรือมีคุณค่าทางอาหารที่สำคัญมักจะเสื่อมสลายได้ง่ายเมื่อโดนความร้อน แสง ความชื้น กรดต่าง และโลหะ และเมื่อนำไปใช้โดยตรงในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ในกรณีสารต้านจุลินทรีย์หรืออนุมูลอิสระ เมื่อเติมสารสกัดลงในผลิตภัณฑ์อาหารต้องใช้สารสกัดจากธรรมชาติเหล่านั้นในปริมาณที่สูง ซึ่งการเติมสารในปริมาณสูงมีผลต่อกลิ่นและรสชาติของอาหาร อาจทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการใช้สารสกัดในผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนั้นกระบวนการห่อหุ้มสารสกัด โดยการแปรรูปสารสกัดให้อยู่ในรูปที่สามารถกระจายตัวได้ดีในอาหาร พร้อมทั้งบดบังกลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงประสงค์จึงมีความสำคัญ สำหรับในทางการแพทย์และเภสัชกรรม การใช้สารตัวนำที่มีขนาดเล็กในระดับไมโครหรือนาโนสเกลในการนำสารออกฤทธิ์หรือตัวยาเข้าสู่ร่างกายเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถควบคุมให้ออกฤทธิ์ในที่ที่เจาะจง และ/หรือควบคุมการออกฤทธิ์ให้อยู่ในอัตราที่กำหนดได้ และยังมีรายงานว่า การตรึงสารออกฤทธิ์ในสารตัวนำดังกล่าวทำให้ลดการเสื่อมสลายของสารออกฤทธิ์ ทำให้สามารถคงความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ทำให้สามารถใช้สารออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้ สารที่ใช้เป็นสารตัวนำบางชนิด เช่น กลูโคแมนแนน กัมอารบิก หรือโปรตีนไฮโดรไลเสต เมื่อใช้ในผลิตภัณฑ์ประเภทอิมัลชัน ยังสามารถให้เนื้อสัมผัสที่ดี และใช้ทดแทนไขมันบางส่วนได้ ดังนั้นโครงการนี้จึงมีแนวคิดที่จะนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชและสัตว์มาใช้ โดยเฉพาะจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร นำสารดังกล่าวมาแปรรูปให้อยู่ในรูปไมโครแคปซูลที่มีความเสถียรและปลอดภัย และประยุกต์ใช้ร่วมกับฟิล์มที่ขึ้นรูปจากพอลิเมอร์ธรรมชาติเพื่อใช้ในการถนอมอาหาร ยืดอายุการเก็บรักษา และเป็นสารให้คุณค่าทางอาหาร รวมถึงการนำมาใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตผลทางการเกษตรเพิ่มการส่งออกและลดการนำเข้า

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) เพื่อศึกษากระบวนการเอนแคปซูเลชันที่เหมาะสมในการกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชและ/หรือสัตว์ในรูปแบบต่างๆ เช่น การทำเป็นอิมัลชันและ/หรือไลโปโซมในรูปอนุภาคขนาดเล็ก และ การอบแห้งแบบพ่นกระจาย (2) เพื่อศึกษาผลของการนำไปใช้ร่วมกับการขึ้นรูปเป็นฟิล์มเพื่อผลิตฟิล์มที่มีหน้าที่เฉพาะสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (3) เพื่อออกแบบและสร้างเครื่องอบแห้งที่เหมาะสมสำหรับอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีหน้าที่เฉพาะจากพอลิเมอร์ธรรมชาติ

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเป็นที่ได้รับความสนใจและมีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างมาก โดยเฉพาะสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชและสัตว์ สารเหล่านี้มีสรรพคุณในด้านคุณสมบัติต้านออกซิเดชันยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และมีคุณค่าทางอาหารที่สำคัญ แต่เนื่องจากสารเหล่านี้ไวต่อสิ่งแวดล้อมต่างๆ ทำให้สามารถระเหยและเสื่อมสลายไปได้ง่าย ดังนั้นจึงต้องศึกษากระบวนการที่ช่วยกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้นานขึ้น

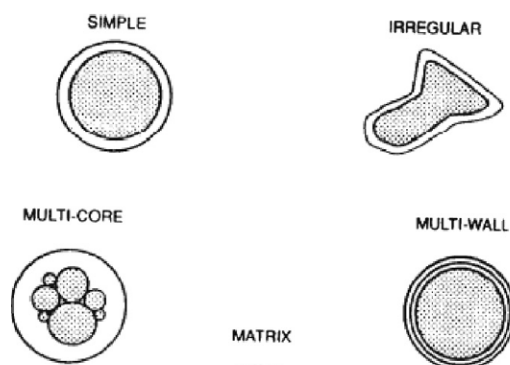
ไมโครเอนแคปซูเลชัน คือ การกักเก็บสารภายในสารเคลือบที่ทำหน้าที่คล้ายบรรจุภัณฑ์ สามารถบรรจุสารที่มีสถานะของแข็ง ของเหลว หรือ ก๊าซ และ ปลดปล่อยออกมาเมื่ออยู่ในสภาวะที่กำหนดได้ ส่วนประกอบของไมโครแคปซูล ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นชั้นพอลิเมอร์บางๆห่อหุ้มและปกป้องสารสำคัญไว้ เรียกว่า สารเคลือบ หรือ วอลล์ (wall) ดังรูปที่ 21 ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ เช่น กัมอารบิก มอลโตเดกซ์ทริน แบะแซ สตาร์ช อนุพันธ์ของสตาร์ช ไซโคลเดกซ์ทริน ซูโครส เจลาติน แวกซ์ ไขมัน และโปรตีน เป็นต้น ส่วนสารสำคัญที่อยู่ภายในไมโครแคปซูลที่ต้องการกักเก็บหรือสารที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา (active) เรียกว่าแกน (core) เช่น สารสกัดน้ำมัน น้ำมันหอมระเหย สารให้กลิ่นรส หรือตัวยาสำคัญ



รูปที่ 21 ลักษณะของไมโครแคปซูล ซึ่งประกอบด้วยสารเคลือบ เรียกว่าวอลล์ (wall) และสารสำคัญที่ถูกกักเก็บ เรียกว่าแกน (core)

รูปแบบของไมโครแคปซูล

รูปแบบทั่วไปของไมโครแคปซูลมีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดตั้งแต่ 0.2-5000 ไมครอน หรืออาจมีรูปแบบอื่นๆ ดังรูปที่ 22 ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารแกน (core) องค์ประกอบของสารเคลือบ (wall) และกระบวนการผลิต



รูปที่ 22 ไมโครแคปซูลรูปแบบต่างๆ
(Gibbs et al., 1999)

เทคโนโลยีไมโครเอนแคปซูเลชันมีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างมากในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมเกษตร

วัตถุประสงค์ในการทำไมโครเอนแคปซูเลชัน

1. ลดการทำปฏิกิริยาของสารสำคัญ (core) กับสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น อากาศ น้ำ หรือสารเคมี
2. ป้องกันการระเหยหรือการปลดปล่อยสารสำคัญ (core) สู่อสิ่งแวดล้อมภายนอก
3. เพื่อให้มีคุณสมบัติเหมาะต่อการนำไปใช้ เช่น เปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นของแข็งง่ายต่อการนำไปใช้งาน หรือสามารถผสมกับส่วนผสมอื่นโดยไม่เกิดการทำปฏิกิริยาต่อกัน
4. สามารถควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญ (core) ตามเวลาที่ต้องการ
5. ช่วยรักษากลิ่นรสหรือกลบกลิ่นที่ไม่ต้องการ
6. ช่วยเพิ่มปริมาณของสารสำคัญ (core) ในกรณีที่ต้องการใช้สารสำคัญ (core) ปริมาณน้อยในส่วนผสมจำนวนมาก ทำให้สามารถกระจายได้ทั่วถึงกัน

สารเคลือบ คือ สารที่ใช้ห่อหุ้มสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บไว้ภายใน เพื่อปกป้องสารสำคัญจากการสูญเสียเนื่องจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น แสงแดด ออกซิเจนในอากาศ เป็นต้น นอกจากสารเคลือบจะช่วยปกป้องสารสำคัญแล้วยังช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งและเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่อได้รับความร้อนในสภาวะที่เหมาะสม สารเคลือบที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันนี้มีมากมายหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่ที่ใช้กันมาก คือ สารโพลิเมอร์และโพลิเมอร์จากคาร์โบไฮเดรต เช่น สตาร์ช มอลโตเดกซ์ทริน กัม โปรตีน เป็นต้น สารเคลือบนั้นมีผลต่อความเสถียรและประสิทธิภาพการกักเก็บของไมโครแคปซูล

Risch and Reineccius (1988) และ Gharsallaoui *et al.* (2007) ได้กล่าวถึงคุณสมบัติต่างๆที่สารเคลือบที่ดีควรมี คือ มีความสามารถในการขึ้นรูปฟิล์ม ยืดหยุ่นและแข็งแรง เพื่อห่อหุ้มสารสำคัญ สารเคลือบต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารสำคัญ ไม่มีกลิ่นรส ราคาถูก มีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ มีความคงตัวสูง ความหนืดต่ำ แม้จะใช้สารเคลือบในปริมาณมาก ไม่ดูดความชื้น เมื่ออยู่ในสถานะของแข็ง และมีความสามารถในการปลดปล่อยสารสำคัญเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม

มีการศึกษามากมายที่ได้ศึกษาชนิดของสารเคลือบในการกักเก็บสารด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย Kopelman *et al.* (1977) ได้ศึกษาการใช้มอลโตเดกซ์ทริน (DE 15 32 และ 42) ร้อยละ 25 (W/W) เป็นสารตัวพาในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวด้วยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคงตัวสูง โดยความสามารถในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากมะนาวเท่ากับร้อยละ 42 62 และ 67 ตามลำดับ และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาสารลิโมนีน ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากมะนาว พบว่า สามารถกักเก็บสารลิโมนีนได้ร้อยละ 97.8 93.3 และ 96.3 ตามลำดับ

Boskovic *et al.* (1992) ได้ศึกษาการใช้มอลโตเดกซ์ทรินร่วมกับกัมอารบิกและมอลโทส ในการกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากผลไม้กลุ่มซิตรัสด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความชื้นอยู่ร้อยละ 2-8 และสามารถป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันได้นานถึง 1 ปี

Jamileh (2007) ศึกษาเกี่ยวกับการเอนแคปซูเลชัน EGCG โดยวิธีโคอะเซอเวชันเชิงซ้อน ในการราจีแนนร่วมกับเจลาติน ซึ่ง EGCG เป็นคาทิซินชนิดหนึ่งที่พบในชาเขียว พบว่า สามารถกักเก็บ EGCG ได้มากกว่า 89.4% รวมทั้งไม่ปลดปล่อยสาร EGCG ภายในเวลา 2 ชั่วโมง เมื่ออยู่สภาวะกรดของกระเพาะอาหาร แต่ปลดปล่อยสาร EGCG ภายในเวลา 15 นาที เมื่ออยู่ในสภาวะของลำไส้เล็ก

Ferreira *et al.* (2007) ได้ศึกษาการใช้ มอลโตเดกซ์ทริน ในการเอนแคปซูเลชันสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า คาเทชินที่ผ่านการเอนแคปซูเลชันด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอยจะมีลักษณะเป็นทรงกลม พื้นผิวเรียบ ปลดปล่อยสารคาเทชินเมื่อถูกกระตุ้นด้วยอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส ที่ไม่ใช่สภาวะกรด สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันและออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น

Yang *et al.* (2009) ได้ศึกษาการใช้ผงบุกร่วมกับกัมอารบิก starch sodium octenyl succinate (SSOS) หรือมอลโตเดกซ์ทริน ในการกักเก็บน้ำมันส้มเกลี้ยงด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า ความหนืดปรากฏของผงบุก 200 mPa S สามารถกักเก็บน้ำมันส้มเกลี้ยงได้ดี ความสามารถในการกักเก็บน้ำมันส้มเกลี้ยงของผงบุกร่วมกับกัมอารบิก หรือ SSOS สูงกว่าการใช้ร่วมกับมอลโตเดกซ์ทรินอย่างมีนัยสำคัญ เป็นไปได้ว่าเกิดจากการที่ผงบุกและมอลโตเดกซ์ทรินมีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ต่ำ

Ahmed *et al.* (2010) ได้ศึกษาการใช้มอลโตเดกซ์ทริน (DE 20) และกรดแอสคอร์บิกในการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกจากมันเทศด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า การกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกด้วยมอลโตเดกซ์ทรินและกรดแอสคอร์บิกสามารถกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระได้ และการกักเก็บสารประกอบฟีนอลิกด้วยอัตราส่วนของแอสคอร์บิกและมอลโตเดกซ์ทรินที่ต่างกันมีผลต่อความสามารถในการกักเก็บสารฟลาโวนอยด์

Rocha *et al.* (2011) ศึกษาการใช้มอลโตเดกซ์ทริน (DE 16.5 – 19.5) ผสมกับกัมอารบิก เพื่อใช้ในการกักเก็บ EGCG (epigallocatechin-3-gallate) จากชาเขียวด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า มีประสิทธิภาพสูงในการกักเก็บ EGCG (>80%)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่า ความสามารถในการกักเก็บสาร ขึ้นอยู่กับ ชนิดและความเข้มข้นของสารเคลือบที่ใช้ ชนิดของสารที่ถูกกักเก็บ รวมทั้งสภาวะในการอบแห้ง สารเคลือบเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการกักเก็บสารของไมโครแคปซูล ดังนั้นการเลือกใช้สารเคลือบจึงมีความสำคัญ เพื่อให้การกักเก็บสารมีประสิทธิภาพและกักเก็บสารได้ตามระยะเวลาที่ต้องการ

เทคนิคการทำไมโครแคปซูล

กระบวนการผลิตไมโครแคปซูลมีหลายวิธี เช่น

1. การทำแห้งแบบพ่นกระจาย (Spray drying)

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสามารถเดินเครื่องได้ต่อเนื่อง ผลิตได้จำนวนมาก ใช้เวลาน้อย ต้นทุนการผลิตต่ำ แต่อาจมีสารสำคัญ (core) ติดที่ผิวรอบนอกของอนุภาค และการใช้อุณหภูมิสูงเกินไปทำให้เกิดการสูญเสียกลิ่นรสบางอย่างได้ โดยของผสมของสารเคลือบ (wall) กับสารสำคัญ (core) จะถูกฉีดผ่านหัวสเปรย์ของเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจายและมาสัมผัสกับลมร้อนได้เป็นผงไมโครแคปซูลเกิดขึ้น

2. การทำแห้งแบบพ่นกระจายที่อุณหภูมิต่ำ (Spray cooling หรือ Spray chilling)

ใช้หลักการคล้ายกับ spray drying โดยให้สารสำคัญ (core) กระจายตัวในสารเคลือบ (wall) ที่อยู่ในสภาวะหลอมเหลว จากนั้นนำไปฉีดพ่นสเปรย์เป็นละอองฝอยที่อุณหภูมิต่ำเพื่อให้สารเคลือบแข็งตัว สารเคลือบที่ใช้ต้องสามารถหลอมเหลวได้และเป็นของแข็งที่อุณหภูมิต่ำ เช่น ไข (wax) ไขมัน หรือพอลิเมอร์

3. การอัดรีด (Melt Extrusion)

สารเคลือบที่ใช้เป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต โดยจะถูกหลอมเหลวแล้วป้อนเข้าสู่ใน extruder ซึ่งจะมีการเติมกลิ่นรสลงไป จากนั้นของผสมจะถูกผสมให้เข้ากันแล้วถูกดันผ่านพิมพ์ให้ได้รูปร่างออกมาเป็นแผ่นหรือเส้นตามต้องการ อนุภาคที่ได้มีขนาดค่อนข้างใหญ่

4. อินคลูชันคอมเพล็กซ์ชัน (Inclusion complexation)

เทคนิคนี้จะใช้บีตาไซโคลเด็กซ์ทริน (β -cyclodextrin) เป็นสารเคลือบ ซึ่งบีตาไซโคลเด็กซ์ทรินมีลักษณะเป็นวงแหวนมีช่องว่างตรงกลางวงเป็นส่วนใหญ่ ส่วนที่ผิวด้านนอกเป็นส่วนใหญ่ ปฏิกิริยาเกิดขึ้นเมื่อน้ำอยู่ด้วย น้ำจะเข้าไปอยู่ภายในโมเลกุล เมื่อเติมสารสำคัญ (core) ที่มีขั้วน้อยกว่าน้ำ จะเข้าไปแทนที่ตรงกลางวงแหวนแทนโมเลกุลของน้ำ สารสำคัญ (core) เกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับบีตาไซโคลเด็กซ์ทรินขึ้น หลังจากนั้นสารเชิงซ้อนจะตกตะกอนอยู่ในสารละลาย และแยกออกด้วยการกรอง

การสร้างอิมัลชันมีปัจจัยสำคัญที่ต่อความเสถียรของระบบอิมัลชันคือขนาดอนุภาคของวัฏภาคกระจาย อิมัลชันที่ขนาดอนุภาคของวัฏภาคกระจายเล็กมีความเสถียรต่อการจับกันเป็นกลุ่ม (flocculation) การหลอมเป็นอนุภาคเดียวกันที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (coalescence) และการแยกชั้น (phase separation) อิมัลชันที่อนุภาคของวัฏภาคกระจายมีขนาดเล็ก $< 1000 \text{ nm}$ ($1 \mu\text{m}$) หรืออยู่ในช่วง $100\text{--}500 \text{ nm}$ ($0.1\text{--}0.5 \mu\text{m}$) และมีการกระจายขนาดอยู่ในช่วงแคบ (monodisperse) นั้นเสถียรตามหลักทางอุณหพลวัต (Wasan and Niikolov, 2001, Wennerström *et al.*, 2001) อิมัลชันนี้เรียกว่าจุลอิมัลชัน (microemulsion หรือ miniemulsion) หรือ นาโนอิมัลชัน (nanoemulsion) และเนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดเล็กทำให้อิมัลชันมีลักษณะเป็นของเหลวใสหรือค่อนข้างใส จึงเรียกว่า transparent emulsion ด้วย จุลอิมัลชันสามารถเกิดขึ้นได้ทันทีเมื่อองค์ประกอบ (น้ำหรือสารละลายน้ำ ไขมัน และตัวทำอิมัลชัน) เหมาะสม โดยมีการผสมเล็กน้อยไม่ต้องใช้พลังงานสูง โดยองค์ประกอบเป็นตัวกำหนดว่าอิมัลชันเป็นแบบน้ำมันในน้ำ หรือน้ำในน้ำมัน (Leser *et al.*, 2006, Spernath and Aserin, 2006) นอกจากนี้ การทำให้อนุภาคของวัฏภาคกระจายมีขนาดเล็กในระดับนี้ยังทำได้โดยใช้แรงหรือพลังงานสูงเช่น high pressure homogenization หรือ คลื่นเหนือเสียง (ultrasonic) เป็นต้น

ตารางที่ 2 ตัวอย่างสภาวะในการทำไมโครแคปซูลของสารสกัดจากพืช โดยการทำแห้งแบบพ่นกระจาย

สารสำคัญ (Core)	สารเคลือบ (Wall)	ความเข้มข้น	อุณหภูมิ ขาเข้า	อุณหภูมิ ขาออก	อ้างอิง
Cardamon oleoresin	กัมอารบิก มอลโตเดกซ์ทริน สตาร์ชตัดแปร(HICAP-100)	30%w/v	178±2°C	120±5 °C	Krishnan <i>et al.</i> (2005)
D-limonene	กัมอารบิก, กัมอารบิก+มอลโตเดกซ์ทริน สตาร์ชตัดแปร (HICAP-100)	20%w/v	180±1°C	100±5 °C	Soottitantawat <i>et al.</i> (2005)
Oregano oil Citronella extract Marjoram extract	นมผงขาดมันเนย (SMP) เวย์โปรตีน(WPC)	30%w/w	190±5°C	90±5 °C	Baranauskiene <i>et al.</i> (2006)
Orange peel oil	Starch phosphate Starch acetate Starch succinate (n-OSA) สตาร์ชตัดแปร N-LOK	30%w/v	180±1°C	100±5 °C	Murua-Pagola <i>et al.</i> (2009)
Sweet orange oil	ผงบุก (KGM) กัมอารบิก มอลโตเดกซ์ทริน Starch sodium octenyl succinate (SSOS)	10%w/v	160 °C	NR	Yang <i>et al.</i> (2009)

NR : not reported

จากงานวิจัยข้างต้นจะเห็นได้ว่าสภาวะที่ใช้แตกต่างกันไป ซึ่งจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บสาร โดยปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการกักเก็บสารของไมโครแคปซูล ได้แก่ ชนิดของสารเคลือบ (wall material) ชนิดของสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บ (core material) อัตราส่วนของสารเคลือบต่อสารที่ต้องการกักเก็บ ขั้นตอนการเตรียมอิมัลชัน ขนาดของอนุภาคอิมัลชัน การกระจายตัวของอนุภาคสารที่ต้องการกักเก็บในสารละลายที่เป็นสารเคลือบ รวมทั้งสภาวะที่ใช้ในการทำแห้ง

การอบแห้งด้วยปั๊มความร้อน

การอบแห้งโดยใช้ปั๊มความร้อน (Heat Pump Dryer, HPD) ได้รับความสนใจอย่างมากในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสามารถนำเอาพลังงานมาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงเนื่องจากการเก็บคืนความร้อนจากอากาศหลังการอบแห้ง การทำงานของปั๊มความร้อนในระบบปิดอย่างสมบูรณ์พบว่าการสูญเสียปริมาณความร้อนจำเพาะต่ำที่สุด (วรารักษ์ สมชาติ และธนิต, 2542)

Borompichaichartkul *et al.* (2009) พบว่าการอบแห้งแมคคาดาเมียทั้งกะลาโดยวิธีปั๊มความร้อน แมคคาดาเมียจะมีคุณภาพสี และกลิ่นใกล้เคียงกับวัตถุดิบก่อนอบ การอบแห้งโดยวิธีนี้ยังช่วยการเกิดกลิ่นหืน และมีประสิทธิภาพการทำงานสูง

การใช้ปั๊มความร้อนแบบดัดแปรบรรยากาศคือการแทนที่อากาศที่เป็นตัวกลางในการถ่ายโอนความร้อนด้วยก๊าซชนิดอื่นๆ เช่น N_2 หรือ CO_2 จากการวิจัยของ Hawlader *et al.* ในปี 2006 พบว่าในการอบแห้งgingerol) ได้สูงสุดเมื่อใช้ N_2 เปรียบเทียบกับ CO_2 และอากาศปกติ ตามลำดับ การใช้ N_2 สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันในระหว่างการอบแห้งได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเล็งเห็นความเป็นไปได้ในการนำรูปแบบปั๊มความร้อนแบบดัดแปรบรรยากาศ มาใช้ในการอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีการเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อทำหน้าที่เฉพาะในฟิล์ม จึงจำเป็นต้องออกแบบและสร้างเครื่องให้มีความเหมาะสมเฉพาะสำหรับอบแห้งฟิล์ม เพื่อนำมาใช้เป็นแนวทางการอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีหน้าที่เฉพาะต่อไป

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษากระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสัตว์ในรูปของโปรตีนไฮโดรไลเสต

1.1 วัตถุดิบ

- โครงปลา นิล ได้มาจากปลานิลคุณภาพดี มีน้ำหนักต่อตัวมากกว่า 800 กรัม ซึ่งผ่านการแล่เนื้อปลา ออกแล้ว จาก บริษัท ทิพย์วันชัยซีฟู้ด จำกัด จังหวัดชลบุรี
- เอนไซม์ Flavourzyme[®] 1000 L ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Brenntag Ingredients (Thailand) Public Co.,Ltd.

1.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

1.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโครงปลานิลก่อนการย่อยสลาย

ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของโครงปลานิล และ โครงปลากระพง ก่อนการย่อยสลาย จะ ใช้โครงปลานิล ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $-20^{\circ}C$ และผ่านการบดด้วยเครื่องบด (Kenwood KM 800) โดยจะวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และ เถ้าที่เป็นองค์ประกอบในโครงปลานิลเริ่มต้น โดยอ้างอิงวิธีวิเคราะห์จาก AOAC (2000)

1.2.2 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

บดโครงปลานิล ด้วยเครื่องบด (Kenwood KM 800) แบ่งตัวอย่าง 5 กรัม ผสมน้ำกลั่น

50 มิลลิลิตร โดยแปรความเข้มข้นของเอนไซม์ Flavourzyme[®] 1000 L เป็น 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 50°C pH 7 เวลาที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Flavourzyme[®] 1000 L ที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงทันที และนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4°C ความเร็ว 8500 รอบต่อนาที เก็บสารละลายส่วนใสที่อุณหภูมิ -20°C จนกระทั่งนำไปใช้วิเคราะห์ในส่วนต่อไป

คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลา โดยพิจารณาจากความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ ACE (ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไป) โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x4 factorial in CRD และวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's new multiple range test ทดลอง 3 ซ้ำ

1.2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซต

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (Yang *et al.*, 2009)

เตรียมสารละลาย DPPH (ละลาย DPPH 0.0098 กรัม ใน Absolute ethanol 250 มิลลิลิตร) ปิเปตต์สารละลาย DPPH ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร (มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เขย่าด้วย vortex 10 วินาที และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้สารละลาย BHA ความเข้มข้น 10 ppm เป็นสารละลายเปรียบเทียบ ทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณค่า % DPPH radical scavenging ดังนี้

$$\% \text{ DPPH radical scavenging} = \frac{A_{517} \text{ control} - A_{517} \text{ sample}}{A_{517} \text{ control}}$$

เมื่อ	A 517 control	คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม
		ซึ่งใช้น้ำกลั่น ในปริมาตรเท่ากันแทนที่ตัวอย่าง
	A 517 sample	คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี metal chelating activity

(Klompong *et al.*, 2007)

การวัดความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี metal chelating activity นั้น ดัดแปลงจากวิธีของ Klompong *et al.* (2007) โดยผสมน้ำกลั่น 4.7 มิลลิลิตร และ ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร (กำหนดปริมาณโปรตีนเท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex 10

วินาที จากนั้นผสมสารละลาย ferrous chloride (FeCl_2) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และ สารละลาย 3-(2-pyridyl)-5,6-bis(4-phenyl-sulfonic acid)-1,2,4-triazine ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และเขย่าด้วย vortex อีกครั้งเป็นเวลา 10 วินาที ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 20 นาที และวัดค่า การดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร ทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณ % metal chelating activity ดังนี้

$$\% \text{ metal chelating activity} = \frac{A_{562 \text{ control}} - A_{562 \text{ sample}}}{A_{562 \text{ control}}}$$

เมื่อ	A 562 control	คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม
		ซึ่งใช้น้ำกลั่น ในปริมาตรเท่ากันแทนที่ตัวอย่าง
	A 562 sample	คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของระบบที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ วิเคราะห์ การเกิด lipid peroxidation ด้วยการทดสอบกับ TBA (Jeon, Byun and Kim, 1999)

ผสมน้ำมันถั่วเหลือง ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ในสารละลาย absolute ethanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ สารละลาย phosphate buffer pH 7 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติมตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (กำหนดปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในสารผสม และเขย่าให้เข้ากันด้วย vortex เป็นเวลา 10 วินาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร บ่มสารละลายผสมที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 7 วัน

เตรียม TBA reagent โดยผสมน้ำกลั่น 0.8 มิลลิลิตร เข้ากับสารละลายโซเดียมไดเตล ซัลเฟต ความเข้มข้น 8.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และสารละลายกรดอะซิติก 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 3.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 นอร์มอล จากนั้นเติมสารละลาย TBA ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex เป็น เวลา 10 วินาที จากนั้น ปิเปตต์สารผสมของน้ำมันถั่วเหลืองและตัวอย่าง ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงใน TBA reagent บ่มที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และ บ่มต่อที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้ววัดค่า การดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ใช้สารละลาย BHA ความเข้มข้น 10 ppm และสารละลาย α – tocopherol ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เป็นสารละลายเปรียบเทียบ ทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณ % TBA activity ratio ดังนี้

$$\% \text{ TBA activity ratio} = \frac{A_{535 \text{ control}} - A_{535 \text{ sample}}}{A_{535 \text{ control}}}$$

เมื่อ	A 535 control	คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม ซึ่งใช้
		น้ำกลั่น ในปริมาตรเท่ากันแทนที่ตัวอย่าง
	A 535 sample	คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

1.2.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารยับยั้งการทำงานของ ACE (Crushman and Cheung, 1971)

ผสมตัวอย่าง ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (มีปริมาณโปรตีน 0.006 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร) เข้ากับ Angiotensin I converting enzyme (25 munit / ml) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำออกมาเติมสารละลาย hippuryl-L-histidyl-leucine ความเข้มข้น 8.3 มิลลิโมลาร์ (ในสารละลาย sodium-borate buffer pH 8.3) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30 นาที และหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย hydrochloric acid ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย ethyl acetate ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายด้วย vortex เป็นเวลา 10 วินาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ตกตะกอนที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที ปิดเตตเฉพาะสารละลายส่วนใสด้านบน ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงใน หลอดทดลอง แล้วนำเข้าสู่วacuum dryer เพื่อระเหยสารละลาย ethyl acetate ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเปิดตักน้ำกลั่น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง และนำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่น 228 นาโนเมตร ใช้สารละลาย captopril® ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เป็นสารเปรียบเทียบ ทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณ % ACE inhibition ดังนี้

$$\% \text{ ACE inhibition} = \frac{A_{228 \text{ control}} - A_{228 \text{ sample}}}{A_{228 \text{ control}}}$$

เมื่อ A 228 control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม ซึ่งใช้น้ำกลั่น ในปริมาตรเท่ากันแทนที่ตัวอย่าง
A 228 sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

1.2.5 การผลิตผงโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยกระบวนการทำแห้งแบบพ่นกระจาย (Abdul-Hamid, Bakar and Bee, 2002)

ละลายผงมอลโทเทร็กซ์ทรีน (10% DE) 88 กรัม ลงในโปรตีนไฮโดรไลเซต (จากสภาวะที่ถูกคัดเลือก 4 สภาวะ ซึ่งได้กล่าวไว้ในหัวข้อ 3.2) ปริมาตร 800 มิลลิลิตร แล้วบ่มเข้าสู่เครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย (BuCHI Mini Spray Dryer B290) อัตราเร็ว 7 มิลลิลิตร ต่อนาที (30% feed rate) ใช้อุณหภูมิลมร้อนเข้า 150°C อุณหภูมิลมร้อนขาออกอยู่ในช่วง 80-100°C จากนั้นคำนวณ % yield ของผงโปรตีนไฮโดรไลเซต ดังนี้

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างสุดท้าย} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

2. การพัฒนาสารออกฤทธิ์ด้านแบคทีเรียจากน้ำมันสะระแหน่ในรูปสารละลายไมเซลล์ อิมัลชันและ/หรือไลโปโซม

กระบวนการเอนเคปซูลชันเป็นวิธีการกักเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยวิธีการกักเก็บสารให้อยู่ในรูปของสารละลายไมเซลล์ อิมัลชันและ/หรือไลโปโซมซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการกักเก็บสารที่เสื่อมฤทธิ์ง่าย ระเหย ไวแสง นอกจากนี้ยังปรับความสามารถในการกระจายตัวในน้ำ เพื่อเตรียมให้อยู่ในรูปที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ง่ายขึ้น โดยการกักเก็บน้ำมันไว้ในรูปสารละลายไมเซลล์ อิมัลชัน และไลโปโซมทำให้น้ำมันสะระแหน่ซึ่งโดยธรรมชาติมีคุณสมบัติไม่กระจายตัวในน้ำ แต่เมื่อเตรียมน้ำมันในรูปสารละลายไมเซลล์ อิมัลชันและ/หรือไลโปโซมจะทำให้น้ำมันสะระแหน่สามารถกระจายตัวในน้ำได้ และยังสามารถป้องกันการระเหยของน้ำมันหอมระเหยได้ ทำให้สารสำคัญทางชีวภาพไม่สูญเสียไป

2.1 การเตรียมอิมัลชันของน้ำมันสะระแหน่

เตรียมโดยการละลาย polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (Tween 20) ในน้ำกลั่น กวนผสมเบาๆให้ Tween 20 ละลายอย่างช้าๆที่อุณหภูมิห้อง (28 °C) โดยระวังไม่ให้เกิดฟองจน Tween 20 ละลายหมด จากนั้นหยดน้ำมันสะระแหน่ให้แขวนลอยในสารละลาย Tween 20 แล้วนำไปทำให้หยดน้ำมันสะระแหน่แตกโดยมีขนาดอนุภาคเล็กลงและกระจายในสารละลายน้ำได้ดีขึ้นโดยใช้คลื่นเครื่อง Homogenizer โพรบ 18/G shaft (Ystral, Germany) ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที โดยมีการหล่อภาชนะที่ใช้เตรียมอิมัลชันด้วยน้ำผสมน้ำแข็งตลอดเวลาที่ตีปั่นเพื่อถ่ายเทความร้อนจากนั้นฆ่าเชื้ออิมัลชันโดยการกรองผ่าน 0.45 μm เซลลูโลสอะซิเตท (MFS, USA) เก็บอิมัลชันที่เตรียมได้ในขวดแก้วสีชาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 °C) เพื่อนำไปวิเคราะห์ ขนาดและการกระจายของอนุภาค เตรียมอิมัลชันด้วยวิธีข้างต้น โดยแปรความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 3, 5, 7, 8 และ 9 โดยน้ำหนักของอิมัลชัน และความเข้มข้น Tween 20 ร้อยละ 25 และ 30 โดยน้ำหนักของอิมัลชัน วางแผนการทดลองแบบ factorial design 2x5 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA และ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

2.2 การเตรียมน้ำมันสะระแหน่ในรูปไลโปโซม

เตรียมสารละลายเลซิตินจากถั่วเหลืองใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์ แล้วนำมาเตรียมอิมัลชันระบบ น้ำในน้ำมัน (W/O) โดยเติมน้ำมันสะระแหน่ลงในน้ำที่ผสมสารละลายเลซิติน สัดส่วนน้ำมันสะระแหน่ต่อน้ำ เท่ากับ 2:1 ทำการปั่นด้วยเครื่อง homogenizer (Ystral, Germany) ที่ความเร็ว 22,000 rpm บนอ่างน้ำแข็ง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาทำให้เป็นอิมัลชันเชิงซ้อนแบบ W/O/W โดยค่อยๆเติมน้ำลงไป ในอิมัลชันน้ำมันสะระแหน่ในน้ำที่เตรียมไว้ข้างต้น ขณะปั่นและปั่นต่อไปอีก 5 นาที บนอ่างน้ำแข็ง อิมัลชันเชิงซ้อนแบบ W/O/W ที่เตรียมได้มีการแปรความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 8, 10, 15 และ 23 โดยน้ำหนักของอิมัลชัน โดยมีความเข้มข้นของเลซิตินคงที่ที่ร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนักของอิมัลชัน นำอิมัลชันนี้ไปขึ้นรูปเป็นไลโปโซม โดยนำอิมัลชันไปอัดผ่านเมมเบรนเซลลูโลสอะซิเตท ขนาด 0.1 μm (SPI, USA) ด้วย liposome extruder (ER-2, Eastern Scientific, USA) เก็บไลโปโซมได้ที่อุณหภูมิ 4 °C ในขวดสีชา จนกระทั่งนำมาวิเคราะห์ ขนาดและการกระจายของอนุภาค วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA และ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

2.3 การวิเคราะห์ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคของน้ำมันสระแทน

วิเคราะห์หาขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคน้ำมันและอนุภาคไลโปโซม หลังการเตรียม 7 วัน ด้วยเครื่อง Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, UK) สำหรับอิมัลชันที่ขุ่น และ Nanosizer ZS S4700 (Malvern, UK) สำหรับอิมัลชันใสและไลโปโซม

2.4 การศึกษาการกระจายตัวของอิมัลชันและ/หรือไลโปโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์

ถ่ายภาพอนุภาคน้ำมันสระแทนในอิมัลชันและอนุภาคไลโปโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ (BX51, Olympus, Japan) ที่ติดกล้อง (Panasonic, China) และ USB video/audio capture stick (VideoMate, Taiwan) โดยใช้โปรแกรม CyberLink PowerDirector 7 (CyberLink, Taiwan)

2.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันสระแทนในรูปสารละลายไมเซลล์อิมัลชัน อิมัลชัน และไลโปโซม

นำผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสระแทนที่เตรียมได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์กับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Lactobacillus* sp. TISTR 539 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ไทย) และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 แบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยไทย) โดยเทคนิค paper disc diffusion method โดยการกระจายเชื้อแบคทีเรียลงบนอาหารวุ้นแข็ง MRS (Merck, Germany) สำหรับเชื้อ *Lactobacillus* sp. TISTR 539 และ MHA (Himedia, India) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ตามลำดับ จากนั้นวางกระดาษฟลอตเตอร์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่มีสารทดสอบอยู่ลงไปบนผิวหน้าของอาหารวุ้นแข็งที่มีเชื้อกระจายแล้ว ชุตควบคุมใช้แผ่นต้านจุลินทรีย์สำเร็จรูป 50 µg คลอแรมเฟนิคอล (Becton and Dickinson, USA) สารละลาย Tween 20 เข้มข้นร้อยละ 25 และ 30 โดยน้ำหนัก ชุตควบคุมไลโปโซมผลิตจากน้ำมันถั่วเหลืองแทนน้ำมันสระแทนบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เวลา 12 ชั่วโมง บันทึกผลโดยการวัดขนาดวงใสที่เกิดขึ้นด้วยเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Kanon, Japan) ในหน่วยมิลลิเมตร

2.6 การศึกษาผลของความเข้มข้นของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลคงที่ (700 kDa) ต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของฟิล์ม

การเตรียมฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำมันสระแทนเป็นองค์ประกอบ

ละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 700 kDa (Sigma-aldrich, USA) และความเข้มข้นร้อยละ 11.88 โดยน้ำหนัก (MJ33, MELLTER TOLEDO, Switzerland) โดยโรยผงคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสลงในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) ขณะมีการกวนผสมตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนแบบใบพัด (WiseStir HT50DX, Wisd Laboratory Instruments, Germany) ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที จนได้สารละลายเนื้อเดียวกัน

เติมไลโปโซมบรรจุน้ำมันสาระแนร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก ลงในสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสทำการกระจายไลโปโซมบรรจุน้ำมันสาระแน ด้วยเครื่องกวนแบบใบพัด ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที สำหรับตัวอย่างควบคุมเติมน้ำแทนไลโปโซมบรรจุน้ำมันสาระแน โดยแปรของความเข้มข้นของไลโปโซมบรรจุน้ำมันสาระแน 2 ระดับ คือร้อยละ 5 และ 10 โดยน้ำหนัก และแปรความเข้มข้นของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือร้อยละ 1, 1.5, 2, 2.5 และ 3 โดยน้ำหนัก รายละเอียดสำหรับตัวอย่างของผสมแสดงในตารางที่ 3 นำของเหลวผสมที่เตรียมได้ ไปหล่อพองอากาศด้วยเครื่อง Ultrasonic bath (DT100H, BANDELIN sonorex digitec, Germany) ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเทลงบนแผ่นอะครีลิกที่วางบนแท่นของเครื่องขึ้นรูปฟิล์ม (PI-1210 FILMCOATER, TESTER SANGYO, Japan) โดยใช้ความเร็วในการปาด 2 เซนติเมตรต่อวินาที โดยมีระยะห่างระหว่างใบปาดกับผิวของแผ่นอะครีลิกคงที่เท่ากับ 2 มิลลิเมตร แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 °C (ED/FD, BINDER, Germany) จนกระทั่งแผ่นฟิล์มแห้งและสามารถลอกออกจากแผ่นอะครีลิกได้ บรรจุฟิล์มที่ได้ในถุงพลาสติกและเก็บในตู้ควบคุมความชื้นที่ความชื้นร้อยละ 30 ก่อนนำไปทดสอบสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม จัดการทดลองแบบ factorial design 2x5 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA และ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของของผสมสำหรับขึ้นรูปฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสผสมหรือไม่ผสมผลิตภัณฑ์ด้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ปริมาณคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (กรัม)	น้ำกลั่น (กรัม)	ไลโปโซมบรรจุน้ำมันสาระแน ร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก (กรัม)
ตัวอย่างควบคุม		
1.0	99.0	-
1.5	98.5	
2.0	98.0	
2.5	97.5	
3.0	97.0	
ตัวอย่างผสมไลโปโซม		
1.0	94.0	5
1.5	93.5	
2.0	93.0	
2.5	92.5	
3.0	92.0	
1.0	89.0	10
1.5	88.5	
2.0	88.0	

ปริมาณคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (กรัม)	น้ำกลั่น (กรัม)	ไลโปโซมบรรจุน้ำมันสะระแหน่ ร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก (กรัม)
2.5	87.5	
3.0	87.0	

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของฟิล์ม

- ความหนาของแผ่นฟิล์ม
- ความต้านทานแรงดึงขาดและร้อยละการยืดของฟิล์ม
- อัตราการซึมผ่านไอน้ำของแผ่นฟิล์ม

3. การผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดจากใบหม่อน

3.1 การศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดจากใบหม่อน

การเตรียมสารสกัดจากใบหม่อน

นำใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 อบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน 50 องศาเซลเซียส นาน 5 - 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำใบหม่อนแห้งที่ได้มาบดด้วยเครื่องบดและร่อนผ่านตะแกรง 50 mesh ผงใบหม่อนแห้งที่ได้ 15 กรัม สกัดสารสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 50% 60% 70% และ 95% ปิดด้วยพาราฟิล์มและอลูมิเนียมฟอยล์ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 หลังจากนั้นเก็บสารสกัดจากใบหม่อนที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีต่อไป (ดัดแปลงจาก Arabshashi-Delouee and Urooj, 2007)

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของสารสกัดจากใบหม่อน

- ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก
- ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing/Antioxidant Power assay (FRAP)
- ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical-scavenging activity

3.2 ศึกษาวิธีการผลิตไมโครแคปซูลที่เหมาะสมในการกักเก็บสารสกัดจากใบหม่อน โดยใช้วิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย

การเตรียมไมโครแคปซูลสารสกัดจากใบหม่อน

เตรียมสารละลายสารเคลือบจากผงบุกผสมกับมอลโตเดกซ์ทริน (DE 20) (ในอัตราส่วนเท่ากับ 3:1 - 5:1) โดยย่อยสารละลายบุกด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ในอัตราส่วน 4.2 ยูนิตต่อผงบุก 1 กรัม ระหว่างการย่อยให้ความร้อนในอ่างควบคุมความร้อนแบบเขย่าตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 ชั่วโมง หลังจากย่อยสารละลายบุกเป็นเวลา 7 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืนเป็นเวลา 15 ชั่วโมง แล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 20 นาที เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และเติมมอลโตเดกซ์ทริน หลังจากนั้นนำสารเคลือบที่เตรียมได้ เติมสารสกัดจากใบหม่อน (อัตราส่วน 15% - 30% ของปริมาณสารเคลือบ) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสมนาน 5 นาที และเครื่อง homogenizer นาน 15 นาที นำเข้าเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยแปรอุณหภูมิอากาศขาเข้า (150 - 180 องศาเซลเซียส) และควบคุมอุณหภูมิอากาศขาออก 80 องศาเซลเซียส นำไมโครแคปซูลของสารพลาไวโนยด์ที่ได้บรรจุแบบสุญญากาศในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพต่อไป (ดัดแปลงจาก Yang, Xiao and Ding, 2009; วรรณญา ปานเกตุ, 2554)

วางแผนการทดลองแบบ CRD 2³ factorial with center point ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 4 อัตราส่วนของผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทริน, ปริมาณสารสกัดต่อปริมาณสารเคลือบ และอุณหภูมิอากาศขาเข้าที่ใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลที่สภาวะต่างๆ

อัตราส่วนของผงบุก ต่อมอลโตเดกซ์ทริน	ปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนต่อ ปริมาณสารเคลือบ (%)	อุณหภูมิ อากาศขาเข้า (°C)
3 : 1	15	150
3 : 1	15	180
3 : 1	30	150
3 : 1	30	180
3.81 : 1	22.5	165
5 : 1	15	150
5 : 1	15	180
5 : 1	30	150
5 : 1	30	180

วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของไมโครแคปซูล

- ค่าการละลาย (water solubility index, WSI)
- ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing/Antioxidant Power assay (FRAP)
- ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical-scavenging activity

4. การสร้างเครื่องอบแห้งแบบปั๊มความร้อนที่เหมาะสมสำหรับอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีหน้าที่เฉพาะ

เครื่องอบแห้งแบบปั๊มความร้อนแบบปรับบรรยากาศ จะสร้างให้เป็นระบบปิดที่สามารถเปลี่ยนตัวกลางในการแลกเปลี่ยนความร้อนเป็นก๊าซอื่นๆ เช่น ไนโตรเจน หรือ คาร์บอนไดออกไซด์

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ผลของการศึกษากระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสัตว์ในรูปของโปรตีนไฮโดรไลเสต

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล สำหรับงานวิจัยนี้ จะใช้เอนไซม์ Flavourzyme® 1000 L เพื่อย่อยสลายโปรตีนในโครงปลา โดยแปร ปริมาณเอนไซม์ (0 , 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง) และ เวลาในการย่อย (0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการนำผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลไปใช้ประโยชน์ในด้านการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการทำงานของ ACE ในการรายงานผลการทดลองนั้นจะเริ่มรายงานจากการพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีเริ่มต้นของโครงปลานิล ที่นำมาใช้เป็นแหล่งของโปรตีนตั้งต้นเพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต

1.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโครงปลานิล ก่อนการย่อยสลาย

โครงปลานิล ได้รับวัตถุดิบในลักษณะโครงปลา ซึ่งเป็นส่วนที่เหลือจากกระบวนการผลิตโดยได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ทิพย์วันชัยซีฟู้ด จำกัด เริ่มต้นเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการบดโครงปลานิลด้วยเครื่องบด (Kenwood KM 800) โครงปลานิลที่ได้ จะมีลักษณะเหลว และประกอบด้วยกระดูกขนาดเล็ก จากนั้นจะวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโครงปลานิลก่อนการย่อยสลาย เพื่อเป็นการพิจารณาคุณภาพของวัตถุดิบเริ่มต้น โดยจะวิเคราะห์ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าที่เป็นองค์ประกอบในโครงปลานิล ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโครงปลานิลเริ่มต้น แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของโครงปลานิล

องค์ประกอบทางเคมี	โครงปลานิล (เปอร์เซ็นต์)	
	น้ำหนักเปียก	น้ำหนักแห้ง
ความชื้น	65.34	-
โปรตีน	17.52	50.55
ไขมัน	10.61	30.61
คาร์โบไฮเดรต	1.24	3.58
เถ้า	5.29	15.26

จากตารางที่ 5 โครงปลานิลมีองค์ประกอบทางเคมี คือ ความชื้น 65.34 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักเปียก) มีโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า เท่ากับ 50.55, 30.61, 3.58 และ 15.26 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้นี้มีค่าใกล้เคียงกับองค์ประกอบทางเคมีของโครงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ซึ่ง เลิศชัย พัฒนวิจิตร (2548) รายงานว่ามีความชื้นเป็นองค์ประกอบ

63.60 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักเปียก) มีโปรตีน ไขมัน และเถ้า เท่ากับ 34.62, 47.18 และ 12.45 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิลสด ซึ่งมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า เท่ากับ 67.7, 16.8 และ 10.8 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ (Steiner-Asiedu, Julshamn and Lie, 1990) จะพบว่า โครงปลานิลมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่น้อยกว่าปริมาณโปรตีนในเนื้อปลานิลสด แต่มีปริมาณไขมัน และ เถ้า เป็นองค์ประกอบมากกว่าที่พบในเนื้อปลานิลสด เนื่องจากองค์ประกอบของโครงสร้างส่วนใหญ่ คือ โครงกระดูก ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม เป็นต้น เป็นองค์ประกอบ (Wu, Stine and Bechtel, 2011) ดังนั้นปริมาณเถ้าที่วิเคราะห์ได้จากโครงปลานิลจะสูงกว่าที่พบในเนื้อปลานิลสด นอกจากนี้ส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งเป็นองค์ประกอบของโครงปลานิล ก็ส่งผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไขมันได้ เนื่องจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเหล่านี้จะมีเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) เป็นองค์ประกอบในปริมาณมาก

1.2 ผลการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

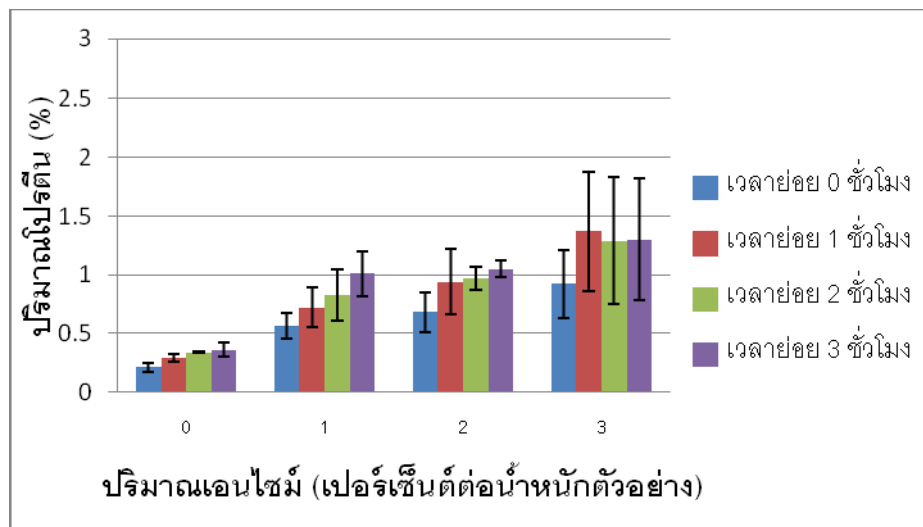
การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล สำหรับงานวิจัยนี้จะใช้ Flavourzyme® 1000 L เป็นเอนไซม์ในการย่อยสลาย โดยแปรปริมาณเอนไซม์ และ ระยะเวลาในการย่อยสลาย เป็น 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์(ต่อน้ำหนักตัวอย่าง) บ่มที่อุณหภูมิ 50°C pH 7 เวลาที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง จากนั้นหยุดการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 75 °C เป็นเวลา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4°C ความเร็ว 8500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 25 นาที เก็บเฉพาะสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีน (degree of hydrolysis : DH) และ ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

1.2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนจะถูกนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ โดยใช้วิธี Kjeldahl ซึ่งอาศัยหลักการวัดปริมาณไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบในตัวอย่าง และเปลี่ยนเป็นปริมาณโปรตีนโดยใช้ conversion factor เท่ากับ 6.25 (Marco *et al.*, 2002) ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 23 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สภาวะในการย่อยสลาย (ปริมาณเอนไซม์ และ ระยะเวลาในการย่อย) ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจางที่ได้ภายหลังจากการปั่นเหวี่ยง มีปริมาณโปรตีนเริ่มต้น 0.21 เปอร์เซ็นต์ และจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ($p \leq 0.05$) เมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่างเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งมีค่าสูงที่สุด คือ 1.37 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย่อยสลายโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่างเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นปริมาณโปรตีนจะเริ่มมีค่าคงที่ ($p > 0.05$) เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยให้ยาวนานขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากระยะเวลาในการย่อยที่มากขึ้น ทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ได้สมบูรณ์จนกระทั่งสารตั้งต้นของเอนไซม์ถูกย่อยสลายจนหมด ทำให้ปริมาณโปรตีนซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยามีค่าคงที่

เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนในโครงปลานิลเริ่มต้น จะพบว่าปริมาณโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครง

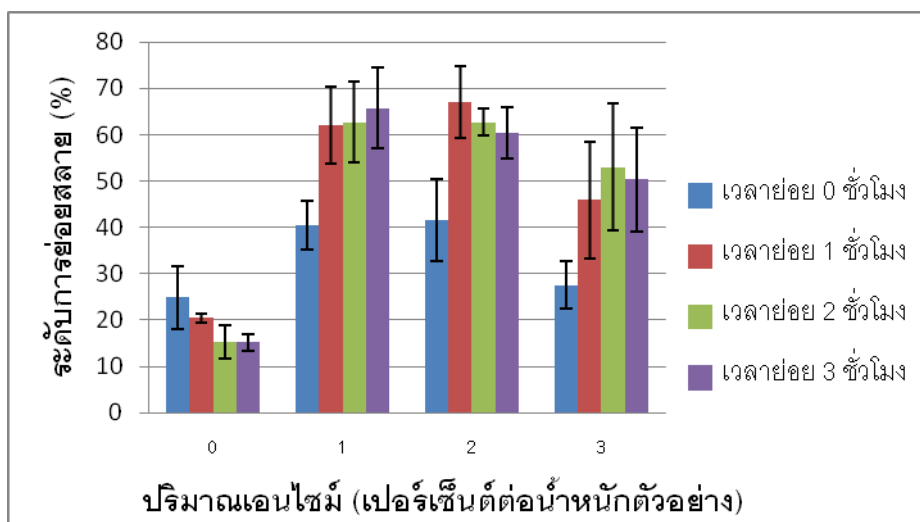
ปลานิลนั้น มีน้อยกว่าในโครงปลานิลเริ่มต้น โดยเป็นผลมาจากโปรตีนส่วนใหญ่จะอยู่ในส่วนตะกอนโครงปลา (residue) ภายหลังจากการปั่นเหวี่ยง



รูปที่ 23 ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล เมื่อย่อยสลายโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง และ ระยะเวลาในการย่อย 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง

1.2.2 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีน

การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนจะใช้วิธี OPA ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร OPA และ primary amino group ในสถานะที่มีสาร dithiothreitol (DTT) เป็นองค์ประกอบ (Nielsen, Peterson and Dambrmann, 2001) วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร และคำนวณระดับการย่อยสลายของโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 24 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ส่วนใสของโครง ปลานิลบดเจือจาง (ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์) ที่ได้ภายหลังจากการปั่นเหวี่ยง ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล มีระดับการย่อยสลายเริ่มต้น 24.90 เปอร์เซ็นต์ และจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง โดยจะมีค่าสูงที่สุด คือ 67.10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นระดับการย่อยสลายจะมีค่าคงที่ ($p > 0.05$) แม้จะเพิ่มปริมาณเอนไซม์ และเวลาในการย่อยให้มากขึ้น



รูปที่ 24 ระดับการย่อยสลายโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล ที่ปริมาณเอนไซม์ 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง และ ระยะเวลาในการย่อยสลาย 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง

เมื่อพิจารณาเฉพาะการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอนไซม์ ที่เวลาในการย่อยเป็น 0 ชั่วโมง จะพบว่าการเพิ่มปริมาณเอนไซม์เพียงอย่างเดียว จะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับการย่อยสลายโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลเช่นเดียวกัน ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากงานวิจัยนี้ จะผสมโครงปลานิลบดเจือจาง ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กับเอนไซม์ Flavourzyme® 1000 L ในขวดรูปชมพู่ และมีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่อุณหภูมิ 75 °C เป็นเวลา 10 นาที โดยการเพิ่มอุณหภูมิจาก 50°C ถึง 75 °C จะใช้เวลาประมาณ 5 นาที จึงอาจส่งผลให้โปรตีนบางส่วนเกิดการย่อยสลายโดย proteolytic enzyme ในโครงปลานิล และเอนไซม์ Flavourzyme® 1000 L ที่เติมลงไปก่อนที่เอนไซม์ Flavourzyme® 1000 L จะถูกยับยั้งการทำงาน จากการวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ สามารถกล่าวได้ว่า ปริมาณเอนไซม์และเวลาในการย่อยเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มระดับการย่อยสลายโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตโดยผู้วิจัยอื่นๆ (ดวงใจ ลาภยีนง, 2548; ธนยพร จันทร์แสนโรจน์, 2550; Jamdar *et al.*, 2010) การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนด้วยวิธี OPA นั้นจะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร OPA กับ primary amino group ซึ่งการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ และเวลาในการย่อย จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ คือ กรดอะมิโน และเปปไทด์ขนาดเล็ก จึงสามารถทำปฏิกิริยากับสาร OPA ได้ดีขึ้น การที่ระดับการย่อยสลายโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล มีลักษณะเพิ่มขึ้นในช่วงแรก และเริ่มคงที่ในช่วงหลังของการย่อยสลายนั้น สามารถอธิบายได้โดยอาศัยพื้นฐานทางด้านการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และสารตั้งต้น คือ เมื่อสารตั้งต้นเริ่มหมดไป อัตราเร็วของปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตั้งต้นด้วยเอนไซม์จะลดลงและคงที่ ทำให้อัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาลดลงและคงที่เช่นกัน ซึ่งผลการทดลองในส่วนนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Batista *et al.* (2010) ที่ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลา black scabbard ด้วยเอนไซม์ protamexTM โดยแปรความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 0.5, 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่างย่อยสลายเป็นเวลา 2 ชั่วโมง วิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีนด้วยวิธี OPA พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตมีระดับการย่อยสลายน้อยที่สุด คือ 24 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เอนไซม์ protamexTM ปริมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ

ระดับการย่อยสลายจะมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 56.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์เป็น 2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง จากนั้นระดับการย่อยสลายนี้จะมีค่าคงที่ แม้จะเพิ่มปริมาณเอนไซม์เป็น 4 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง นอกจากนี้งานวิจัยของ ดวงใจ ลาภยืนยง (2548) ซึ่งผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเครื่องในหอยเป่าฮื้อ โดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme® 500 L ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักหอย ที่อุณหภูมิ 60°C pH 6 แปรระยะเวลาในการย่อยเป็น 30, 60, 90, 120 และ 180 นาที ตามลำดับ พบว่า เวลาในการย่อยมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับการย่อยสลายโปรตีนจากเครื่องในหอยเป่าฮื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีระดับการย่อยสลายสูงที่สุดคือ 52.89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย่อยสลายเป็นเวลา 180 นาที โดยอธิบายว่า เวลาในการย่อยที่เพิ่มมากขึ้นทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายพันธะเปปไทด์ได้มากยิ่งขึ้น

ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล จะไปใช้เป็นข้อมูลในการใช้กำหนดปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซตแต่ละสภาวะให้เท่ากัน คือ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ในกรณีของสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ) และ 0.006 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร (ในกรณีของสมบัติในการเป็นสารยับยั้งการทำงานของ ACE) การทดลองในส่วนถัดไปจะเป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล เพื่อพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมต่อการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล ไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหาร

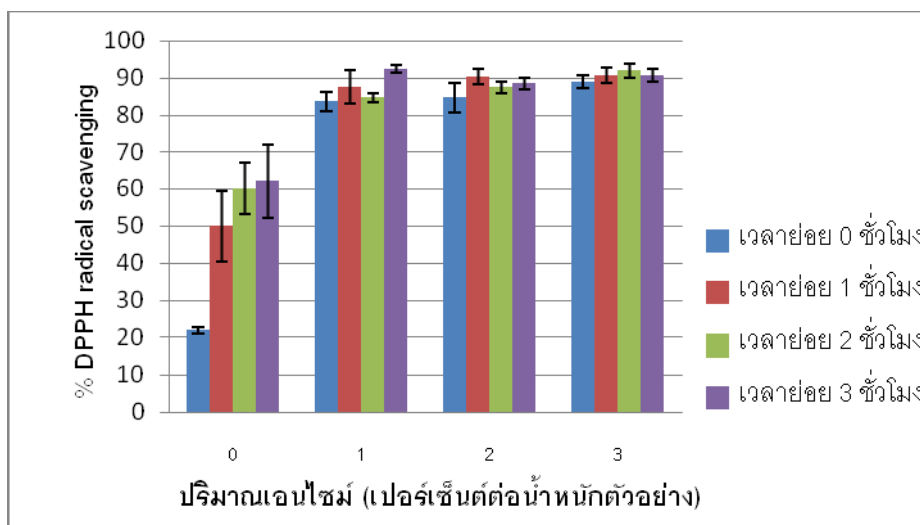
1.3 ผลการศึกษาสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

ในงานวิจัยนี้จะใช้วิธีทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล 3 วิธี คือ วิธี DPPH, วิธี Metal chelating activity และ วิธี TBA โดยใช้ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลเท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งวิธีทดสอบทั้งสามวิธี จะมีหลักการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิด

เนื่องจากการวิเคราะห์สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตในปัจจุบันยังไม่มีวิธีในการวิเคราะห์ที่แน่นอน และเฉพาะเจาะจง การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพียงวิธีเดียว จึงไม่เพียงพอที่จะอธิบายกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตได้อย่างครอบคลุม ดังนั้นจึงควรวิเคราะห์สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซต โดยอาศัยการวิเคราะห์ที่มีหลักการแตกต่างกัน (Zulueta, Esteve and Frivola, 2009) งานวิจัยนี้เลือกใช้การวิเคราะห์ 3 วิธี คือ วิธี DPPH, วิธี metal chelating activity และ วิธี TBA เพื่อพิจารณาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตให้ครบถ้วน และครอบคลุม

วิธี DPPH

วิธี DPPH เป็นวิธีทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต่างๆ โดยอาศัยการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยวจากสารต้านอนุมูลอิสระเข้าสู่อนุมูล DPPH• ซึ่งมีสีม่วง ที่ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที เพื่อให้เกิดการรีดิวซ์อนุมูล DPPH• ไปเป็นสารประกอบ DPPHn ที่มีสีเหลือง (Yang *et al.*, 2009) และติดตามการลดลงของสีจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร รูปที่ 25 แสดงความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH• ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล



รูปที่ 25 อิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ (Flavourzyme® 1000 L) 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักตัวอย่าง และ เวลาในการย่อย 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ที่ส่งผลต่อความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH• ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

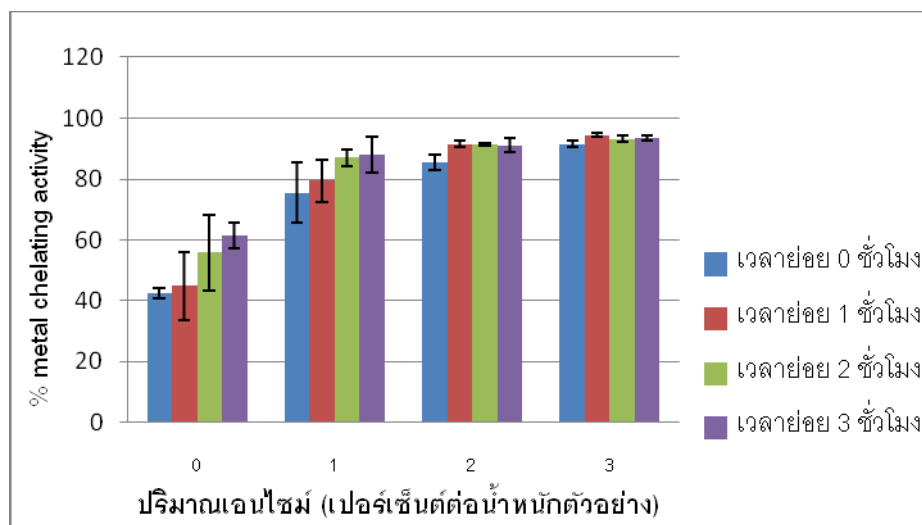
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ปริมาณเอนไซม์ เวลาในการย่อย และปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่าง ปริมาณเอนไซม์และเวลาในการย่อยเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อค่า % DPPH radical scavenging ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยรูปที่ 25 แสดงว่า ส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจางที่ได้ภายหลังจากการปั่นเหวี่ยง มีค่า % DPPH radical scavenging เริ่มต้น เท่ากับ 21.78 เปอร์เซ็นต์ และจะมีค่าเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) จนกระทั่งสูงที่สุด 92.47 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย่อยสลายโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ 1 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พิจารณาเปรียบเทียบค่า % DPPH radical scavenging ของ BHA ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ที่ใช้เป็นสารละลายเปรียบเทียบสำหรับงานวิจัยนี้ พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ซึ่งมีปริมาณโปรตีน 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH มากกว่าสารละลาย BHA ความเข้มข้น 10 ppm ซึ่งมีค่า % DPPH radical scavenging เท่ากับ 87.08 เปอร์เซ็นต์ (ไม่ได้แสดงผลการทดลองในรูปกราฟ)

สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซต จะขึ้นอยู่กับชนิดของกรดอะมิโน ลำดับของกรดอะมิโนในสายเปปไทด์ และขนาดของเปปไทด์ที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซต (Pena-Ramos and Xiong, 2001) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการย่อยสลาย กรดอะมิโนบางชนิด เช่น histidine, tyrosine, tryptophan และ phenylalanine เป็นต้น มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระออกจากระบบ ในขณะที่เปปไทด์ที่มีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระนั้น จะต้องมีความเหมาะสมอยู่ในช่วงประมาณ 1300-1400 Da (Wu, Chen and Shiau, 2003 ; Jun, Jung and Kim, 2004) จึงสามารถอธิบายผลการทดลองได้ว่าการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ และ เวลาในการย่อยสลาย จะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับการย่อยสลายโปรตีน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์คือ โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน

โน และเปปไทด์ที่มีขนาดเหมาะสมในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยงานวิจัยของ Wu, Chen and Shiau (2003) ซึ่งศึกษาขนาดของเปปไทด์ที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาแมคเคอเรล พบว่า ขนาดของเปปไทด์ ส่งผลต่อความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเปปไทด์ที่มีขนาดโมเลกุลประมาณ 1400 Da มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเปปไทด์ที่มีขนาดโมเลกุล 900 Da และ 200 Da ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Jun, Jung and Kim (2004) ที่ย่อยสลายโครงปลา yellowfin sole ด้วยเอนไซม์เปปซิน พบว่า ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ประกอบด้วยเปปไทด์สายสั้นคือ RPDFDLEPPY มีขนาดโมเลกุล 1300 Da มีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH

วิธี metal chelating activity

วิธี metal chelating activity เป็นการวัดความสามารถของสารในการทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะ โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระกับสารละลาย FeCl_2 เพื่อให้เกิดการจับกันของสารต้านอนุมูลอิสระ และ Fe^{2+} ก่อนที่จะเติมสารละลาย 3-(2-pyridyl)-5,6-bis(4-phenyl-sulfonic acid)-1,2,4-triazine (ferrozine) ซึ่งจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับ Fe^{2+} อิสระ เกิด Fe^{2+} - ferrozine complex ซึ่งมีสีม่วง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 20 นาที และวัดการลดลงของสีม่วงโดยอาศัยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร (Klompong *et al.*, 2007) รูปที่ 26 แสดงค่า % metal chelating activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล



รูปที่ 26 อิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ (Flavourzyme® 1000 L) 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง และ เวลาในการย่อย 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ที่ส่งผลต่อค่า % metal chelating activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

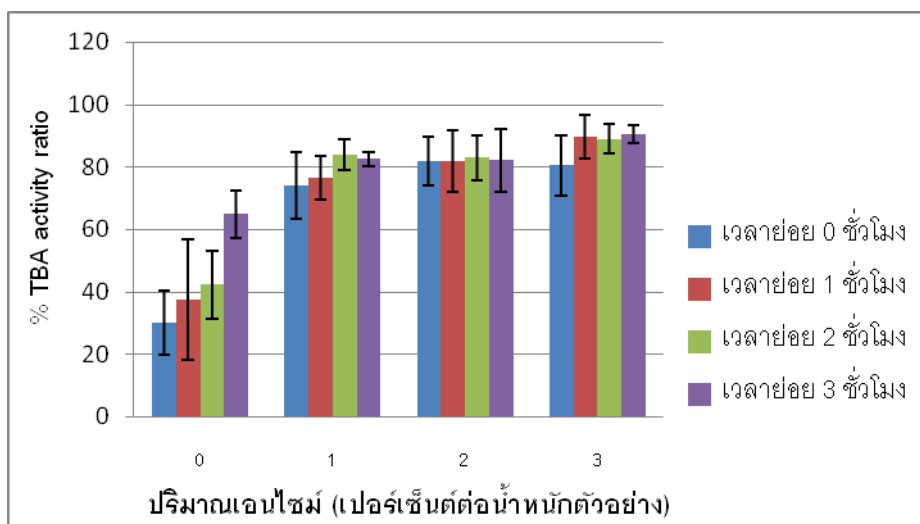
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ปริมาณเอนไซม์ และ เวลาในการย่อย เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า % metal chelating activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล อย่างมีนัยสำคัญ

($p \leq 0.05$) ในขณะที่ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์และเวลาในการย่อยกลับไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ต่อค่า % metal chelating activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล จากรูปที่ 26 สามารถอธิบายผลการทดลองได้ว่า % metal chelating activity ของส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจางที่ได้ ภายหลังการปั่นเหวี่ยง มีค่าเริ่มต้น 42.59 เปอร์เซ็นต์ และจะมีค่าเพิ่มขึ้นจนกระทั่งสูงที่สุดในช่วง 85.59 – 94.72 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์ และเวลาในการย่อย ซึ่งส่งผลให้ระดับการย่อยสลายโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิลมีค่าเพิ่มขึ้น โปรตีนถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนอิสระและเปปไทด์ขนาดเล็กที่สามารถทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะหนักได้ (Dong *et al.*, 2008) ทำให้ % metal chelating activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิลมีค่าเพิ่มขึ้น กรดอะมิโนบางชนิด เช่น lysine, arginine, aspartic acid, glutamic acid และ histidine เป็นต้น สามารถทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะหนักได้ ในขณะที่เปปไทด์ที่สามารถทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะหนักได้นั้น มักจะมีหมู่อะมิโน และ/หรือ หมู่คาร์บอกซิล ที่บริเวณ side chain ของกรดอะมิโนที่มีความเป็นกรด และ/หรือ มีความเป็นเบสอยู่มาก นอกจากนี้ตำแหน่งของกรดอะมิโนในสายเปปไทด์ก็ส่งผลต่อความสามารถในการทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะหนักเช่นกัน โดยพบว่าเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน histidine ที่ตำแหน่ง N-terminal จะมีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะหนักได้ดีกว่าเมื่อมี histidine ที่ตำแหน่ง C-terminal (Arcan and Yemenicioglu, 2007; Saiga, Tanabe and Nishimura, 2003; Suetsuna, Ukeda and Ochi, 2000) ผลการทดลองในส่วน ของ % metal chelating activity นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Klompong *et al.* (2007) ซึ่งผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาสิ่กุนข้างเหลือง โดยใช้เอนไซม์ Flavourzyme[®] ในการย่อยสลาย และพบว่า % metal chelating activity มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเพิ่มระดับการย่อยสลายจาก 5 เป็น 15 เปอร์เซ็นต์ และจากนั้น % metal chelating activity จะมีค่าคงที่ แม้ระดับการย่อยสลายโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ โดยกล่าวว่าเปปไทด์ที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาสิ่กุนข้างเหลือง จะทำหน้าที่เป็น primary และ secondary antioxidant ที่สามารถทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะหนักได้

ผลการศึกษาสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของระบบที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ วิเคราะห์การเกิด lipid peroxidation ด้วยการทดสอบกับ TBA

สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งมีไขมันเป็นองค์ประกอบ เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษายาวนานขึ้น จะเกิดการเสื่อมคุณภาพเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์อาหารเหล่านั้นไม่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค การเติมสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน จึงอาจมีส่วนช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารให้ยาวนานขึ้น งานวิจัยนี้จึงเลือกวิเคราะห์สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล โดยการวัดการเกิด lipid peroxidation โดยใช้ไขมันถั่วเหลืองเป็นตัวแทนของไขมันที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหาร และจะทำการวิเคราะห์การเกิด lipid peroxidation ด้วยวิธี TBA ซึ่งเป็นการวัดความสามารถของสารในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ การทดสอบโดยวิธีนี้จะเริ่มต้นจากการผสมน้ำมันถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซทเข้ากับสารละลาย เอทานอลและ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 7 วัน นำมาทำปฏิกิริยากับสาร TBA วิเคราะห์ค่า % TBA activity ratio ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากการติดตามค่าการดูดกลืนแสงของสารสีชมพูที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร รูปที่ 27 แสดงค่า % TBA activity ratio ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล

จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ปริมาณเอนไซม์ และเวลาในการย่อย ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า % TBA activity ratio ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์และเวลาในการย่อยไม่ส่งผลต่อค่า % TBA activity ratio ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)



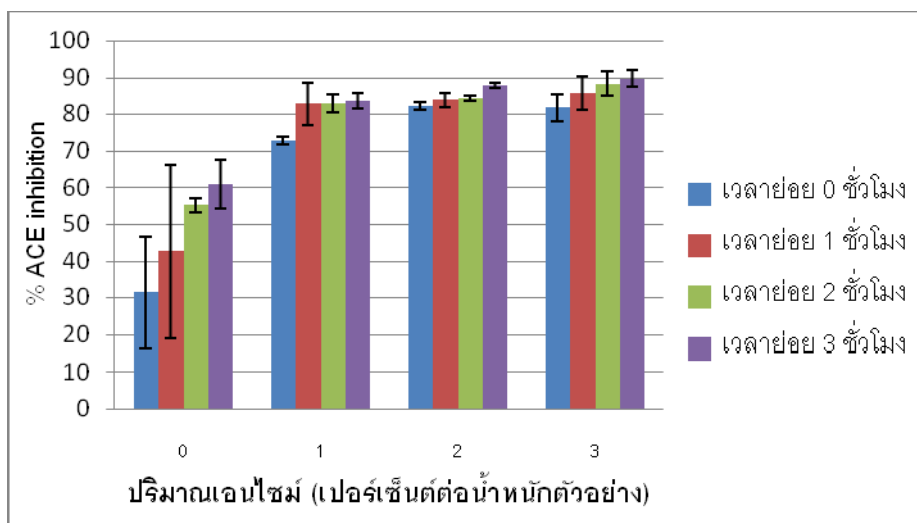
รูปที่ 27 อิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ (Flavourzyme® 1000 L) 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักตัวอย่าง และ เวลาในการย่อย 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ที่ส่งผลต่อค่า % TBA activity ratio ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

จากรูปที่ 27 จะเห็นว่าส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจางที่ได้ภายหลังการปั่นเหวี่ยงมีค่า % TBA activity ratio เริ่มต้น 30.18 เปอร์เซ็นต์ และจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 90.54 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่างเป็นเวลา 3 ชั่วโมง โปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลสำหรับงานวิจัยนี้ประกอบด้วยปริมาณโปรตีน 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการต้านการเกิด lipid peroxidation เมื่อพิจารณาในรูป % TBA activity ratio ที่มากกว่าสารละลาย α -tocopherol ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย BHA ความเข้มข้น 10 ppm ที่ใช้เป็นสารละลายเปรียบเทียบ (80.73 และ 80.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) การวิเคราะห์ค่า % TBA activity ratio นั้นเป็นการวัดความสามารถของสาร (ในที่นี้คือโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล) ในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในอาหาร และใช้สาร TBA ทำปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวของ hydroperoxide (ซึ่งสาร hydroperoxide เป็นสาร intermediate จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน) ดังนั้นการที่ค่า % TBA activity ratio ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลซึ่งผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีค่าค่อนข้างสูง อาจมีสาเหตุมาจากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล สามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในน้ำมันถั่วเหลืองได้ ทำให้สาร hydroperoxide เกิดขึ้นได้น้อย และทำให้ผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของสาร hydroperoxide เกิดขึ้นได้น้อยเช่นเดียวกัน โดยสันนิษฐาน

ว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิลประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำในปริมาณมากจึงละลายในไขมันได้ดี และ ทำให้สามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดี (Dong et al., 2008 ; Rajapakse et al., 2005)

1.4 ผลการศึกษาความสามารถในการเป็นสารยับยั้งการทำงานของ ACE

สารที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ ACE คือสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับ ACE ตรงบริเวณเร่ง ส่งผลให้ปฏิกิริยาของเอนไซม์หยุดชะงัก และทำให้การสังเคราะห์สาร Angiotensin II หยุดลง ดังนั้นสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของ ACE ได้ จึงสามารถควบคุมความดันโลหิตในร่างกายได้ โดยการควบคุมปริมาณสาร Angiotensin II (Murray, Walsh and FitzGerald, 2004) การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ ACE สามารถทำได้ตามวิธีของ Crushman and Cheung (1971) ซึ่งอาศัยการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ Angiotensin I และโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลา (ในที่นี้ทำหน้าที่เป็นสารยับยั้ง) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสาร hippuryl-L-histidyl-L-leucine (HHL) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และ สกัดสาร hippuric acid (ผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา) ที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายเอทิลอะซีเตต รูปที่ 28 แสดงค่า % ACE inhibitionของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล



รูปที่ 28 อิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ (Flavourzyme® 1000 L) 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักตัวอย่าง และ เวลาในการย่อย 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ที่ส่งผลต่อค่า % ACE inhibition ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าปริมาณเอนไซม์ และเวลาในการย่อย เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของ % ACE inhibition ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์ และเวลาในการย่อย ไม่ส่งผลต่อค่า % ACE inhibition ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล ($p > 0.05$) ซึ่ง % ACE inhibition ของส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจางที่ได้ภายหลังจากการปั่นเหวี่ยง มีค่าเริ่มต้น คือ 31.37 เปอร์เซ็นต์ และจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อ

ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ที่เวลาต่างๆ จนกระทั่งมีค่าสูงที่สุด คือ 89.63 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย่อยสลายโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล(ประกอบด้วยโปรตีน 0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) มีค่า % ACE inhibition มากกว่าสารละลาย Captopril® ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ (79.12 เปอร์เซ็นต์) ที่ใช้เป็นสารละลายเปรียบเทียบ Captopril® เป็นยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีระดับความดันโลหิตสูง โดยจะเข้าทำปฏิกิริยาที่บริเวณเร่งของ ACE ด้วยพันธะไฮโดรเจน 6 พันธะ ทำให้เกิดการจับกันของ Captopril® และกรดอะมิโนของเอนไซม์อย่างแข็งแรง จึงสามารถยับยั้งการสังเคราะห์สาร Angiotensin II ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ในกรณีของปฏิกิริยาระหว่างเปปไทด์กับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของ ACE นั้นจะเกิดขึ้นผ่านอันตรกิริยาต่างๆ เช่น electrostatic repulsion, hydrophobic interaction และ พันธะไฮโดรเจน เป็นต้น ซึ่งอันตรกิริยาเหล่านี้จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อเปปไทด์นั้นมีชนิดของกรดอะมิโนที่เหมาะสม อยู่ที่ตำแหน่งที่ถูกต้อง จึงจะสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในบริเวณเร่งของ ACE ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Zhan-li *et al.*, 2011) กรดอะมิโนที่มีความสามารถในการเป็นสารยับยั้งการทำงานของ ACE เช่น tyrosine, tryptophan, phenylalanine, proline, leucine, isoleucine, valine, lysine และ alanine เป็นต้น (Gomez-Ruiz, Ramos and Recio, 2004) จะสามารถเกิดอันตรกิริยากับบริเวณเร่งของ ACE ได้ด้วย electrostatic repulsion หรือ hydrophobic interaction ทำให้เปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นองค์ประกอบ สามารถยับยั้งการทำงานของ ACE ได้ดี ซึ่งปัจจัยเหล่านี้อาจส่งผลให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล สามารถยับยั้งการทำงานของ ACE ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อพิจารณาในส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจางที่ผ่านการย่อยสลายด้วยน้ำร้อนเพียงอย่างเดียว พบว่า เวลาในการย่อยสลายด้วยน้ำร้อนส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของ % ACE inhibition ของส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจางได้เช่นกัน โดยการย่อยสลายด้วยน้ำร้อนอาจทำให้เกิดการย่อยสลายโปรตีนจากโครงปลานิลได้บางส่วน จึงเกิดผลิตภัณฑ์เป็นกรดอะมิโน และ เปปไทด์ที่มีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของ ACE ได้ (Tsia, Chen and Pan, 2008) นอกจากนี้ ขนาดของเปปไทด์ก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความสามารถในการเป็นสารยับยั้งการทำงานของ ACE โดยเปปไทด์ที่มีขนาดเหมาะสม ควรจะเป็นเปปไทด์ขนาดเล็กอยู่ในช่วง 2-12 โมเลกุลกรดอะมิโน ซึ่งเปปไทด์ขนาดเล็กเหล่านี้จะสามารถทำปฏิกิริยาที่บริเวณเร่งของ ACE ได้ดีกว่าเปปไทด์ที่มีขนาดใหญ่ (Hernandez-Ledesma, Contreras and Recio, 2011) ซึ่ง Raghavan and Kristinsson (2009) ทำการคัดแยกขนาดของเปปไทด์ที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลานิล(มีระดับการย่อยสลายโปรตีน 7.5 เปอร์เซ็นต์) ออกเป็น 3 ขนาด คือ น้อยกว่า 10 kDa, อยู่ในช่วง 10 - 30 kDa และ มากกว่า 30 kDa ตามลำดับ พบว่า เปปไทด์ที่มีขนาดน้อยกว่า 10 kDa มีค่า % ACE inhibitory activity มากที่สุด และจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปปไทด์มีขนาดใหญ่ขึ้น ในขณะที่เมื่อระดับการย่อยสลายสูงขึ้นเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ขนาดของเปปไทด์กลับไม่มีผล ($p > 0.05$) ต่อการเพิ่มขึ้นของค่า % ACE inhibitory activity ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลานิล เนื่องจากเปปไทด์ที่เป็นองค์ประกอบมีขนาดใกล้เคียงกัน

เมื่อทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการทำงานของ ACE ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิลแล้ว การทดลองในส่วนต่อไปจะเป็นการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล เพื่อนำไปวิเคราะห์ชนิด และปริมาณกรดอะมิโน และขนาดของเปปไทด์ที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล สภาวะนั้นๆ

1.5 ผลการศึกษาการผลิตผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

การผลิตผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล ดัดแปลงจากวิธีของ Abdul-Hamid, Bakar พิก Bee (2002) โดยจะใช้วิธีการทำแห้งแบบพ่นกระจาย (BuCHI Mini Spray Dryer B290) โดยมีอัตราการไหลของอากาศ (air flow) ภายในเครื่องทำแห้งคงที่ 30%, ค่า aspiration เท่ากับ 100, อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า 150 °C, อุณหภูมิลมร้อนขาออกอยู่ในช่วง 80-90°C, Feed rate 30% (7 มิลลิลิตรต่อนาที) ใช้ maltodextrin (10% DE) ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวอย่าง เป็นสารช่วยทำแห้ง ตารางที่ 6 และ 5 แสดง % yield และ ค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล ตามลำดับ

ตารางที่ 6 % yield ของผลิตภัณฑ์ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

โปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครง ปลานิล		น้ำหนักตัวอย่าง เริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง สุดท้าย (กรัม)	% yield
ปริมาณเอนไซม์ (%)	เวลาในการ ย่อย(ชั่วโมง)			
2	1	88	32.21	36.60
0	0	88	32.37	36.78

ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และผงส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจาง มีค่า % yield ที่ใกล้เคียงกัน คือ 36.60 เปอร์เซ็นต์ และ 36.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และผงส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจาง มีลักษณะเป็นผงละเอียด และมีกลิ่นคาวปลา มีความชื้นเป็นองค์ประกอบ 6.93 และ 5.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังจากพิจารณาลักษณะทางกายภาพ เช่น สี และ กลิ่นของผงโปรตีนไฮโดรไลเซต การวัดค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ จะเป็นส่วนที่ช่วยในการพิจารณาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ ให้มีความแม่นยำมากขึ้น

ตารางที่ 7 ค่าสีในระบบ $L^* a^* b^*$ ของผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

โปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครง ปลานิล		ค่าสี		
ปริมาณเอนไซม์ (%)	เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	L^*	a^*	b^*
2	1	67.61 ± 2.83	-1.14 ± 0.14	2.67 ± 0.13
0	0	72.69 ± 0.30	-1.45 ± 0.01	2.16 ± 0.04

ตารางที่ 7 แสดงค่าสีของผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลที่ได้จากการทำแห้งในทั้ง 2 สภาวะโดยระบบ $L^* a^* b^*$ พบว่า ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลา

นิต ที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะมีสีค่อนข้างเหลือง โดยมีค่าความสว่าง (L^*) เป็น 67.61 เปอร์เซ็นต์ ค่าสีแดง (a^*) -1.14 เปอร์เซ็นต์ และ ค่าสีเขียว (b^*) 2.67 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ผงส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจาง จะมีสีค่อนข้างขาว มีค่าความสว่าง (L^*) เป็น 72.69 เปอร์เซ็นต์ ค่าสีแดง (a^*) -1.45 เปอร์เซ็นต์ และ ค่าสีเขียว (b^*) 2.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากเอนไซม์ Flavourzyme[®] 1000 L ที่ใช้ในการย่อยสลายจะมีสีน้ำตาล ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Flavourzyme[®] 1000 L จึงมีสีเข้ม ซึ่งเป็นผลมาจากเอนไซม์ Flavourzyme[®] ที่ใช้สำหรับผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต (Thiansilakul, Benjakul and Shahidi, 2007) และสภาวะในการย่อยสลายที่ใช้ความร้อน เป็นเวลานาน จะทำให้เกิดปฏิกิริยาต่างๆได้ง่าย และมากขึ้น เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน และ ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล เป็นต้น ปฏิกิริยาเหล่านี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีสีเข้ม (Dong et al., 2008)

หลังจากพิจารณาลักษณะทางกายภาพของผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลที่ได้แล้ว ขั้นตอนต่อไปจะเป็นการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบใน ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากสภาวะที่คัดเลือกเทียบกับผงส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจาง ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล

ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล		ปริมาณโปรตีน (กรัม ต่อ 100 กรัม)
ปริมาณเอนไซม์ (%)	เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	
2	1	7.56
0	0	3.44

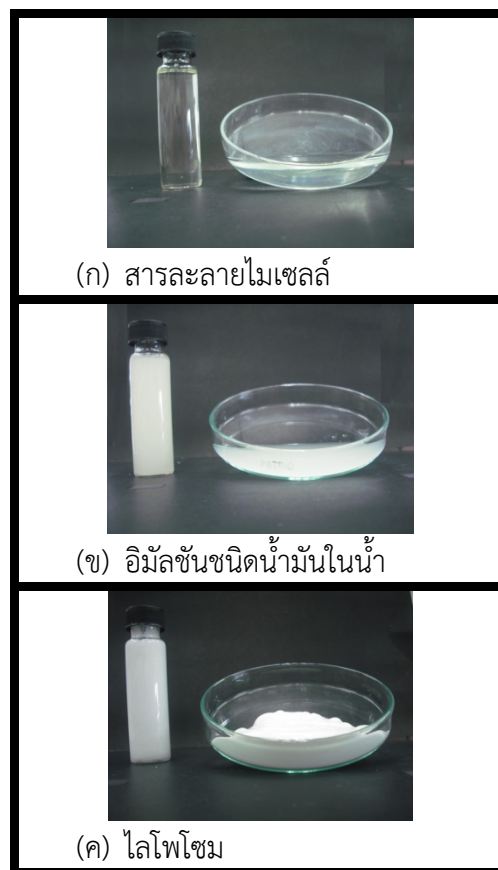
ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในตัวอย่างทั้งสองที่วิเคราะห์ได้ จะนำมาใช้ในการคำนวณปริมาณตัวอย่างที่ต้องใช้ในการวิเคราะห์สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (โดยวิธี DPPH, วิธี metal chelating activity และ วิธี TBA) และยับยั้งการทำงานของ ACE เพื่อให้มีปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบใกล้เคียงกับตัวอย่างทั้งสองที่อยู่ในสภาพของเหลวก่อนการทำแห้ง จากตารางที่ 8 พบว่า ผงโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 7.56 กรัมต่อ 100 กรัม มากกว่า ปริมาณโปรตีนในผงส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจาง ซึ่งมีค่า 3.44 กรัมต่อ 100 กรัม โดยเป็นผลมาจากปริมาณโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิลสภาวะที่คัดเลือกในสภาพของเหลว มีมากกว่าในส่วนใสของโครงปลานิลบดเจือจางที่ได้ภายหลังจากการปั่นเหวี่ยง (ของเหลว) (มีปริมาณโปรตีน 1.17 และ 0.24 กรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ)

2. ผลการศึกษาการพัฒนาสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากน้ำมันสะระแหน่ในรูปสารละลายไมเซลล์อิมัลชันและ/หรือไลโปโซม

ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น Tween 20 ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ $\leq$ ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และที่ความเข้มข้น Tween 20 ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ $\leq$ ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก มีลักษณะใสโปร่งแสง (รูป 29ก) และมีขนาดของอนุภาคเฉลี่ย > 10 nm (ตาราง 9) ผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีความเสถียรสูง จำแนกได้ว่าเป็นสารละลายไมเซลล์ของตัวทำอิมัลชัน (Tween 20) ที่มีน้ำมันสะระแหน่บรรจุอยู่ภายใน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่พบว่าผลิตภัณฑ์มี

ลักษณะขุ่น (รูป 7ข) และขนาดของอนุภาคเพิ่มขึ้น โดยขนาดของอนุภาคเฉลี่ยอยู่ในช่วง 3-5 μm (ตารางที่ 7) จำแนกว่าเป็นอิมัลชัน และเมื่อส่องอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าอนุภาคของน้ำมันสระแหะมีลักษณะเป็นกลม และเกาะกันเป็นกลุ่ม (รูปที่ 30) ซึ่งอนุภาคที่อยู่ติดกันอาจหลอมรวมกันเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ขึ้นและเกิดการแยกชั้นต่อไปได้ โดยอนุภาคน้ำมันสระแหะเกาะกันเป็นกลุ่มมากและใหญ่ขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสระแหะเพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้นของ Tween 20 คงที่ (รูปที่ 30ก และ 30ข) รูป 30ค และ 30ง แสดงที่ความเข้มข้นของน้ำมันสระแหะคงที่ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Tween 20 ทำให้อนุภาคน้ำมันสระแหะเกาะกันเป็นกลุ่มน้อยลงและขนาดของกลุ่มเล็กลง จึงทำให้ความเสถียรเพิ่มขึ้น

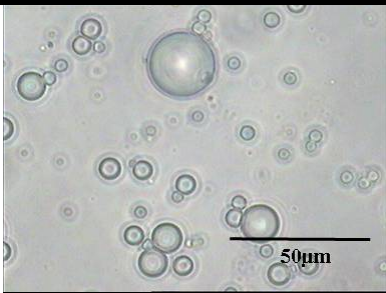
ไลโปโซมของน้ำมันสระแหะที่ได้มีลักษณะเป็นครีมขาว (รูปที่ 29ค) และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1-5 μm โดยขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสระแหะเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 9) ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 200 เท่า (รูป 31) แสดงว่าอนุภาคไลโปโซมมีลักษณะเป็นทรงกลม ขนาดต่างๆ และเกาะกันเป็นกลุ่มอย่างหนาแน่น ซึ่งทำให้ความขุ่นของผลิตภัณฑ์สูง



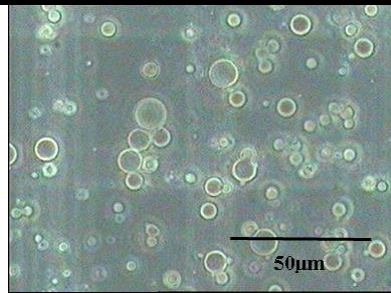
รูปที่ 29 ลักษณะของผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสระแหะที่เตรียมได้

ตารางที่ 9 ขนาดและการกระจายของอนุภาคน้ำมันในสารละลายไมเซลล์ อิมัลชันและไลโปโซม

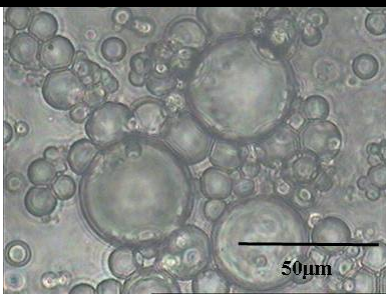
องค์ประกอบ			ลักษณะ	D[4,3] nm	
Emulsifier		Peppermint oil %wt			
Type	%wt				
Tween 20	25	3	ใส	2.87 ^a	± 0.06
		5	ใส	9.42 ^b	± 0.48
		7	ขุ่น	2774.00 ^e	± 0.05
		8	ขุ่น	4433.63 ^l	± 2.89
		9	ขุ่น	5391.00 ⁿ	± 1.66
Tween 20	30	3	ใส	2.72 ^a	± 0.49
		5	ใส	2.80 ^a	± 0.04
		7	ใส	2.71 ^a	± 0.20
		8	ใส	2.72 ^a	± 0.14
		9	ขุ่น	3482.00 ^g	± 0.61
Lecithin	0.7	8	ครีมขาว	1118.05 ^c	±258.53
		10	ครีมขาว	1407.87 ^d	±445.01
		15	ครีมขาว	4356.59 ^k	±600.43
		23	ครีมขาว	4551.93 ^m	±352.07



(ก) น้ำมันสระระแทนร้อยละ 7 ในสารละลาย Tween 20 ร้อยละ 25



(ข) น้ำมันสระระแทนร้อยละ 8 ในสารละลาย Tween 20 ร้อยละ 25

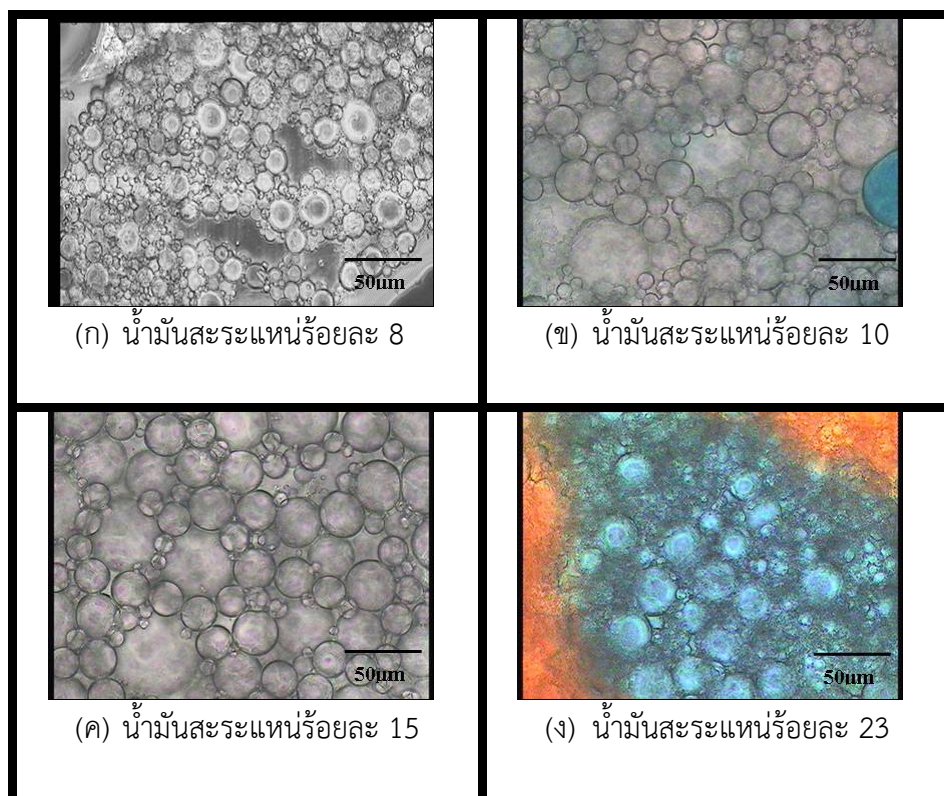


(ค) น้ำมันสระระแทนร้อยละ 9 ในสารละลาย Tween 20 ร้อยละ 25



(ง) น้ำมันสระระแทนร้อยละ 9 ในสารละลาย Tween 20 ร้อยละ 30

รูปที่ 30 ลักษณะอนุภาคน้ำมันสระระแทนในอิมัลชันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 31 ลักษณะของอนุภาคไลโปโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 200 เท่า

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้นี้มาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์พบว่า สารละลาย Tween 20 เข้มข้นร้อยละ 25 และ 30 และไลโปโซมของน้ำมันถั่วเหลืองไม่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ที่ใช้ในการทดลอง (ตารางที่ 10) ในขณะที่น้ำมันสระระแห่นมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Lactobacillus* sp., *Staphylococcus aureus* และ *E. Coli* แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa* ส่วนสารละลายไมเซลล์ที่ความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่นร้อยละ 3 โดยน้ำหนักไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้ง 4 ชนิด เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่นไม่เพียงพอที่จะแสดงฤทธิ์

สำหรับ *Lactobacillus* sp. พบว่าผลิตภัณฑ์มีฤทธิ์ต้านเชื้อนี้เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่น $\geq$ ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก ที่ความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่นคงที่ที่ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก สารละลายไมเซลล์และไลโปโซมมีฤทธิ์ต้านได้ดีกว่าอิมัลชัน และเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่นในไลโปโซมสูงขึ้นฤทธิ์ต้านเชื้อนี้เพิ่มขึ้น

สำหรับ *Staphylococcus aureus* พบว่าผลิตภัณฑ์มีฤทธิ์ต้านเชื้อนี้เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่น $\geq$ ร้อยละ 5 และเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่นผลิตภัณฑ์สูงขึ้นฤทธิ์ต้านเชื้อนี้เพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้นของน้ำมันสระระแห่นคงที่ที่ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก สารละลายไมเซลล์มีฤทธิ์ต้านได้ดีกว่าอิมัลชัน และไลโปโซม บ่งว่าขนาดของอนุภาคน้ำมันมีผลต่อฤทธิ์ต้านเชื้อนี้

สำหรับ *E. coli* พบว่าผลิตภัณฑ์มีฤทธิ์ต้านเชื้อนี้เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ $\geq$ ร้อยละ 5 ที่ความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่คงที่ที่ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก สารละลายไมเซลล์และไลโปโซมมีฤทธิ์ต้านได้ดีกว่าอิมัลชัน

สำหรับ *Ps. aeruginosa* พบว่าน้ำมันสะระแหน่ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อนี้ แต่สารละลายไมเซลล์และอิมัลชันของน้ำมันสะระแหน่ที่ความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ $\geq$ ร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก และไลโปโซมของน้ำมันสะระแหน่ที่ความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก สามารถต้านเชื้อนี้ได้ *Ps. aeruginosa* เป็นแบคทีเรียที่สร้างไบโอฟิล์มระหว่างการทดสอบ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความสามารถในการกระจายตัวและความชอบน้ำของผิวอนุภาคของน้ำมันสะระแหน่โดยการกักเก็บในตัวทำอิมัลชัน สามารถทำให้น้ำมันสะระแหน่มีฤทธิ์ต้าน *Ps. aeruginosa* ได้

ตารางที่ 10 ฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์จากน้ำมันสะระแหน่

ผลิตภัณฑ์เอนเคปซูลชัน			ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (mm)			
Emulsifier		น้ำมันสะระแหน่ %wt	<i>Lactobacillus</i> <i>sp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
ชนิด	%wt					
Tween 20	25.0	3.0	ND	ND	ND	ND
		5.0	ND	8.89 ^{hA} ±0.05	7.60 ^{hA} ±0.08	ND
		7.0	ND	13.60 ^{efA} ±0.04	10.26 ^{fgB} ±0.02	7.37 ^{dc} ±0.01
		8.0	8.06 ^{eb} ±0.03	11.86 ^{gA} ±0.03	8.43 ^{hB} ±0.02	9.29 ^{cb} ±0.01
		9.0	8.77 ^{eb} ±0.02	8.22 ^{hIB} ±0.05	12.34±0.05 ^{bcdA}	11.82 ^{bA} ±0.02
Tween 20	30.0	3.0	ND	ND	ND	ND
		5.0	ND	7.05 ^{iB} ±0.03	10.68 ^{efA} ±0.08	ND
		7.0	ND	12.17 ^{fgA} ±0.00	9.42 ^{gB} ±0.03	9.36 ^{cb} ±0.04
		8.0	9.33 ^{deC} ±0.03	16.91 ^{bcA} ±0.02	11.69 ^{cdB} ±0.07	8.93 ^{cC} ±0.02
		9.0	8.64 ^{eb} ±0.02	9.48 ^{hAB} ±0.03	11.32 ^{deA} ±0.01	10.10 ^{cAB} ±0.001
Soy Lecithin	0.7	8.0	10.25 ^{dB} ±0.04	11.75 ^{gAB} ±0.03	12.14 ^{cdA} ±0.02	ND
		10.0	15.14 ^{cA} ±0.02	15.86 ^{cdA} ±0.02	12.60 ^{bcB} ±0.07	ND
		15.0	15.58 ^{cb} ±0.03	17.85 ^{bA} ±0.02	13.24 ^{bc} ±0.01	ND
		23.0	14.32 ^{cb} ±0.04	17.54 ^{bA} ±0.02	12.14 ^{cdC} ±0.01	12.47 ^{bBC} ±0.01
Chloramphenicol			30.30 ^{aA} ±0.06	24.33 ^{aC} ±0.06	26.75 ^{aB} ±0.07	13.76 ^{aD} ±0.07
น้ำมันสะระแหน่			17.68 ^{bA} ±0.02	14.78 ^{deB} ±0.07	12.32 ^{bcdC} ±0.02	ND

สารละลายไมเซลล์

อิมัลชัน

ไลโปโซม

ND คือ ไม่พบ

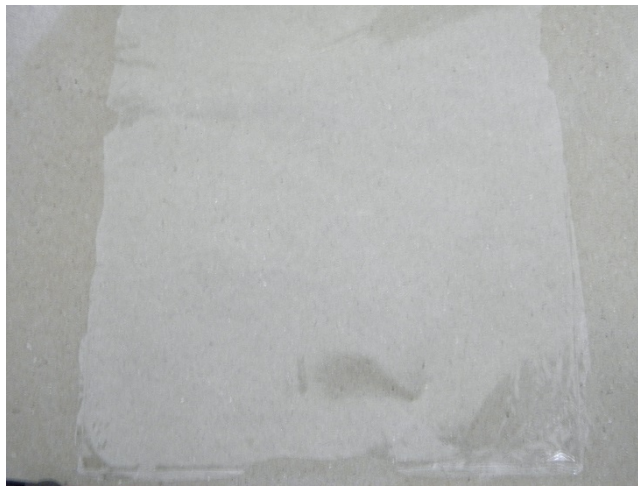
*ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าเฉลี่ยแสดงความแตกต่างภายในคอลัมน์ (a, b,..., h) อย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$.

จากการทดลองพบว่าการแปรชนิดและปริมาณตัวทำอิมัลชันสามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีรูปแบบต่างกัน และความสามารถในการกักเก็บน้ำมันสระแหในปริมาณที่ต่างกัน การที่ผลิตภัณฑ์มีขนาดอนุภาคและความเข้มข้นของน้ำมันสระแหต่างกันทำให้ออกฤทธิ์ด้านแบคทีเรียต่างกัน

ผลการศึกษาความเข้มข้นของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลคงที่ (700 kDa) ต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม

ผลของสมบัติทางกายภาพของฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่มีน้ำมันสระแหเป็นองค์ประกอบ

ลักษณะของฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่เตรียมได้มีลักษณะใส ไม่มีกลิ่น (รูปที่ 32) ซึ่งมีความหนา ระหว่าง 0.02 -0.2 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์มเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้น ความยืดหยุ่น แรงต้านการดึงขาด อัตราการซึมผ่านไอน้ำ แสดงในตารางที่ 11



รูปที่ 32 ฟิล์มคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ที่ลอกออกจากแม่พิมพ์แล้ว

ตารางที่ 11 ความหนา ความยืดหยุ่น แรงต้านการดึงขาดและอัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม

องค์ประกอบของฟิล์ม			ความหนา (mm)	ความยืดหยุ่น (ร้อยละ)	แรงต้านการดึงขาด (MPa)	อัตราการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์ม ($\times 10^{-6}$ g m /m ² d)
ปริมาณคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลส (กรัม)	น้ำกลั่น (กรัม)	ไลโปโซมบรรจุน้ำมันสาระแน ร้อยละ 23 โดยน้ำหนัก (กรัม)				
ตัวอย่างควบคุม						
1.0	99.0	-	0.041 ^k ±0.08	9.98 ^a ±2.23	14.205 ^c ±8.97	0.49 ^o ± 0.00
1.5	98.5		0.066 ^f ±0.06	1.876 ^j ±0.78	5.462 ⁱ ± 2.60	1.15 ^g ± 0.03
2.0	98.0		0.187 ^c ±0.17	1.481 ^l ±0.91	1.921 ^l ± 0.46	3.54 ^b ± 0.16
2.5	97.5		0.193 ^b ±0.18	2.423 ^g ±1.45	4.302 ^j ± 2.24	3.48 ^d ± 0.05
3.0	97.0		0.205 ^a ±0.19	0.409 ^o ±0.17	0.967 ^m ±0.33	3.52 ^c ± 0.25
ตัวอย่างผสมไลโปโซม						
1.0	94.0	5.0	0.136 ^e ±0.15	1.361 ^l ±1.13	2.528 ^k ±3.77	2.45 ^f ± 0.06
1.5	93.5		0.175 ^d ±0.16	1.58 ^k ±0.82	0.563 ⁿ ±0.61	3.03 ^e ± 0.07
2.0	93.0		0.204 ^a ±0.19	5.263 ^d ±6.07	0.201 ^o ±0.10	3.88 ^a ± 0.02
2.5	92.5		0.037 ^j ±0.04	2.089 ⁱ ±0.45	14.729 ^b ±3.20	0.707 ^l ±0.02
3.0	92.0		0.039 ⁱ ±0.04	1.287 ⁿ ±0.17	10.639 ^d ±0.93	0.748 ^k ±0.00
1.0	89.0	10.0	0.028 ^k ±0.03	6.635 ^c ±3.88	37.751 ^a ±12.09	0.545 ^m ±0.03
1.5	88.5		0.027 ^k ±0.02	2.795 ^f ±1.11	7.514 ^e ± 1.09	0.513 ⁿ ± 0.00
2.0	88.0		0.041 ^h ±0.04	2.183 ^h ±0.66	5.510 ^h ± 1.50	0.793 ^j ± 0.01
2.5	87.5		0.045 ^g ±0.04	7.565 ^b ±6.75	6.67 ^f ± 0.89	0.870 ^h ± 0.02
3.0	87.0		0.045 ^g ±0.04	3.087 ^e ±2.03	5.756 ^g ± 0.55	0.843 ^j ± 0.04

3. ผลการศึกษาการผลิตไมโครแคปซูลสารสกัดจากใบหม่อน

3.1 ผลการศึกษาวิธีการสกัดสารสกัดจากใบหม่อน

จากการศึกษาเอทานอลที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากใบหม่อนที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้มีปริมาณตั้งแต่ 26.23 mg GAE/g dry weight ถึง 127.22 mg GAE/g dry weight (ตารางที่ 12) โดยที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 50 และ 60% สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ในปริมาณมากและไม่มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 70 และ 95% สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้น้อยกว่าความเข้มข้น 50 และ 60% อย่างมีนัยสำคัญ ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกนั้นนิยมใช้สารละลายมีขั้วร่วมกับสารละลายไม่มีขั้ว เช่น น้ำร่วมกับเมทานอล น้ำร่วมกับเอทานอล และน้ำร่วมกับอะซิโตน เนื่องจากฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่ที่พบในธรรมชาติอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ ซึ่งฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์นั้นส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกมีแนวโน้มละลายในน้ำมากขึ้น นอกจากนั้น สารประกอบฟีนอลิกที่ไม่จับกับน้ำตาลจะมีแนวโน้มละลายได้ดีในสารละลายไม่มีขั้ว ดังนั้นสารละลายที่ผสมระหว่างสารละลายมีขั้วและไม่มีขั้วจึงเหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกนอกจากนั้น จากการศึกษาของ Katsube และคณะ (2006) ซึ่งศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ในใบหม่อน พบว่า ใบหม่อนมีปริมาณ quercetin 3-(6-malonylglucoside) และรูทีน (rutin) สูงซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Vinson et al. (1995) นอกจากนี้ Arabbi et al. (2004) ยังพบว่าใบหม่อนมีปริมาณเคอซีติน (quercetin) สูงด้วย

เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 50% มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 60%, 70% และ 95% มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงตามลำดับโดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเข้มข้น 50% และ 60% มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 12) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ เมื่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shan et al. (2005), Wu et al. (2006) และ Wong et al. (2006) ซึ่งพบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดจากพืชมีความสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดจากพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงจะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกันนอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดจากพืชจะเสริมฤทธิ์กันส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นเมื่อเทียบกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารชนิดนั้นเพียงชนิดเดียว Graverson et al. (2008) และ Robert and Gordon (2003) พบว่า สารประกอบฟีนอลิกจากพืชมีการเสริมฤทธิ์กับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นในพืช Capitani et al. (2009) พบว่า รูทีน (rutin) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) และเคอซีติน (quercetin) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) สามารถเสริมฤทธิ์กันจากการศึกษาด้วยวิธี FRAP นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณรูทีน (rutin) 33% และเคอซีติน (quercetin) 67% ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดยังส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย

ตารางที่ 12 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหม่อนที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอลต่างๆ (50%, 60%, 70% และ 95%)

ความเข้มข้น ของเอทานอล	Total phenolic (mg GAE / g sample)	Ferric reducing antioxidant power (mM TEAC / g sample)	DPPH radical scavenging activity (mM TEAC / g sample)
50%	127.33 ± 6.26 ^a	58.42 ± 4.36 ^a	7.83 ± 0.47 ^c
60%	122.15 ± 5.32 ^a	51.83 ± 1.90 ^{ab}	10.45 ± 0.16 ^a
70%	94.95 ± 6.49 ^b	46.67 ± 0.39 ^b	9.69 ± 0.96 ^{ab}
95%	26.23 ± 1.23 ^c	18.15 ± 0.91 ^c	8.16 ± 0.57 ^{bc}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a, b, c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวนึง หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

รวมทั้งเมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 60% มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 70% ที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 70%, 95% และ 50% มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงตามลำดับ (ตารางที่ 12) จะเห็นได้ว่าฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจากการศึกษาด้วยวิธีนี้ไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ใช้ตัวทำละลายไม่มีขั้ว ส่งผลให้สารบางชนิดไม่สามารถละลายได้ ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้จึงมีความจำกัดต่อสารอนุมูลอิสระในกลุ่มไฮโดรฟิลิก (hydrophilic)

แม้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 50% และ 60% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เนื่องจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในการศึกษาด้วยวิธี DPPH ดังนั้นที่ระดับความเข้มข้นของเอทานอล 60% ให้สารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลที่ระดับอื่นๆ

3.2 ศึกษาวิธีการผลิตไมโครแคปซูลที่เหมาะสมในการกักเก็บสารสกัดจากใบหม่อน โดยใช้วิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย

ไมโครแคปซูลที่เกิดจากการใช้สารเคลือบที่เป็นผงบุก ซึ่งมีคุณสมบัติในการเกิดฟิล์ม เมื่อนำไปทำแห้ง ไมโครแคปซูลที่ได้จึงมีลักษณะที่ทนต่อความร้อนและแรงกล ทำให้สามารถกักเก็บสารสำคัญที่อยู่ภายในไว้ได้เป็นอย่างดี เมื่อนำไมโครแคปซูลละลายน้ำ โมเลกุลของผงบุกจะเกิดการดูดซึมน้ำ สร้างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำ และเกิดการพองตัว ทำให้เกิดลักษณะเจล ส่วนมอลโตเดกซ์ทรีนเป็นโมเลกุลของสตาร์ชที่ถูกย่อยเป็นโมเลกุลน้ำตาลด้วยกรดไฮโดรคลอริกหรือเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำให้สามารถละลายน้ำได้ดี รวมทั้งไม่เพิ่มความหนืดของสารละลาย นอกจากนั้นแล้วมอลโตเดกซ์ทรีนยังสามารถนำมาใช้เพิ่มปริมาณของแข็งให้กับวัตถุดิบก่อนที่จะนำเข้าสู่เครื่องทำแห้ง ลดการดูดน้ำกลับในผลิตภัณฑ์ประเภทผงที่มีปริมาณน้ำตาลสูงได้ และช่วยลดการจับตัวเป็นก้อน (Caking) ของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษาอีกด้วย (สุนทรี วราอุบล, 2537)

ดังนั้นเมื่อใช้สารเคลือบผงบุกร่วมกับมอลโตเดกซ์ทรินจึงช่วยให้ไมโครแคปซูลมีความสามารถในการกักเก็บสารจากผงบุก และความสามารถในการละลายที่ดีขึ้น ปริมาณของแข็งที่ได้เพิ่มมากขึ้น ลดการดูดน้ำกลับและช่วยลดการจับตัวเป็นก้อน (Caking) ในระหว่างการเก็บรักษาจากมอลโตเดกซ์ทริน

จากการศึกษาค่าการละลายของไมโครแคปซูล พบว่า เมื่อค่าการละลายไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 13) เนื่องจากความสามารถในการละลายนั้นเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิอากาศขาเข้าและอุณหภูมิขาออก แต่เนื่องจากการทดลองนี้มีการควบคุมอุณหภูมิอากาศขาออกให้เท่ากัน คือ 80 องศาเซลเซียส ดังนั้นความสามารถในการละลายจึงเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิขาเข้าเพียงอย่างเดียว เมื่ออุณหภูมิขาเข้าเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ระยะเวลาในการทำแห้งลดลง แต่ความชื้นของไมโครแคปซูลเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ความสามารถในการละลายลดลง Chen and Mujumdar (2008) พบว่าเมื่อควบคุมสภาวะต่างๆในการอบแห้งแบบพ่นฝอยให้คงที่ หากเพิ่มอุณหภูมิอากาศขาออกให้สูงขึ้นจะส่งผลให้ความชื้นของผลิตภัณฑ์ลดลง และหากเพิ่มอุณหภูมิอากาศขาเข้าให้สูงขึ้นจะส่งผลให้ความชื้นของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้จากการศึกษาของ Chen *et al.* (2008) ซึ่งศึกษาความชื้นของฟิล์มจากผงบุกและสตาร์ช พบว่า เมื่อปริมาณของผงบุกเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ความชื้นของฟิล์มเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นเมื่อปริมาณของผงบุกเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ความชื้นของไมโครแคปซูลเพิ่มมากขึ้น และความสามารถในการละลายลดลง

ตารางที่ 13 ความสามารถในการละลายของไมโครแคปซูลที่อัตราส่วนของผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทริน, ปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนต่อปริมาณสารเคลือบ และอุณหภูมิอากาศขาเข้าต่างๆ

อัตราส่วนของผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทริน	ปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนต่อปริมาณสารเคลือบ (%)	อุณหภูมิอากาศขาเข้า (°C)	Water solubility index (WSI) (%)
3 : 1	15	150	33.95 ± 1.12 ^a
3 : 1	15	180	33.55 ± 0.50 ^a
3 : 1	30	150	33.94 ± 1.83 ^a
3 : 1	30	180	34.01 ± 1.22 ^a
3.81 : 1	22.5	165	33.42 ± 1.49 ^a
5 : 1	15	150	33.64 ± 2.48 ^a
5 : 1	15	180	33.87 ± 2.27 ^a
5 : 1	30	150	34.09 ± 1.35 ^a
5 : 1	30	180	29.77 ± 1.02 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a, b, c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวตั้ง หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลด้วยวิธี FRAP และ DPPH พบว่า อัตราส่วนของผงบุกและมอลโตเดกซ์ทริน, ปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนต่อสารเคลือบและอุณหภูมิอากาศขาเข้ามีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูล จากการศึกษพบว่าเมื่ออัตราส่วนของสารเคลือบผงบุกและมอลโตเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้นจาก 3:1 เป็น 5:1 ที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า 150 หรือ 180 องศาเซลเซียส และ

ปริมาณสารสกัดต่อสารเคลือบ เท่ากับ 15% พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นเมื่อปริมาณของผงบุกเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่ออัตราส่วนของสารเคลือบผงบุกและมอลโตเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้นจาก 3:1 เป็น 5:1 ที่อุณหภูมิอากาศเข้า 150 หรือ 180 องศาเซลเซียส และปริมาณสารสกัดต่อสารเคลือบ เท่ากับ 30% พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งทดสอบด้วยวิธี DPPH ลดลงเมื่อปริมาณผงบุกเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 14) ทั้งนี้เนื่องจากที่อัตราส่วนของสารเคลือบผงบุกและมอลโตเดกซ์ทรินเท่ากับ 3:1 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเกิดโครงสร้างและกักเก็บสารสกัดจากใบหม่อน แต่เมื่ออัตราส่วนของสารเคลือบผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทรินเท่ากับ 5:1 อาจมีปริมาณของผงบุกมากเกินไปในการเกิดโครงสร้างที่เหมาะสมของไมโครแคปซูลในการกักเก็บสารสกัดจากใบหม่อน นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดที่ยังไม่เกิดพันธะกับสารเคลือบอาจจะหายไปในช่วงกระบวนการผลิต Yang *et al.* (2009) ได้ศึกษาอัตราส่วนของผงบุกและมอลโตเดกซ์ที่เหมาะสมในการผลิตไมโครแคปซูลเพื่อกักเก็บน้ำมันจากส้มเกลี้ยง พบว่าเมื่อปริมาณของผงบุก 80% มีความสามารถในการนำมันจากส้มเกลี้ยงดีที่สุด เมื่อเทียบกับการใช้ผงบุก 20%, 40%, 60% และ 100% นอกจากนั้น Rosenberg *et al.* (1990) พบว่าความสามารถในการกักเก็บของสารเคลือบยังขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของสารแทนอีกด้วย โดยสารแทนที่มีมวลโมเลกุลสูงจะถูกกักเก็บได้ดีกว่าสารแทนที่มีมวลโมเลกุลต่ำ รุทีน (rutin) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 610.52 g/mol มีมวลโมเลกุลสูงกว่าเคอร์ซีติน (quercetin) ซึ่งมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 302.236 g/mol ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าเมื่ออัตราส่วนของสารเคลือบผงบุกและมอลโตเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้นจาก 3:1 เป็น 5:1 ที่อุณหภูมิอากาศเข้า 150 หรือ 180 องศาเซลเซียส และปริมาณสารสกัดต่อสารเคลือบ เท่ากับ 30% มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซึ่งทดสอบด้วยวิธี DPPH ลดลง เนื่องจากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ใช้ตัวทำละลายไม่มีขั้ว ส่งผลให้สารบางชนิดไม่สามารถละลายได้ ดังนั้นการศึกษาศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้จึงมีความจำกัดต่อสารอนุมูลอิสระในกลุ่มไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) นอกจากนั้นผงบุกเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลให้ความหนืดของสารเคลือบเพิ่มมากขึ้น ความสามารถในการจับกับสารอื่นลดน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Xue *et al.* (2012) ซึ่งศึกษาความแข็งแรงของผงบุกที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์และผงบุกที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์พบว่าผงบุกที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์เกิดโครงสร้างที่มีความแข็งแรงมากกว่าผงบุกที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ Cheetham and Mashimba (1988) พบว่าแคปซูลคาราจีแนน (kappa carrageenan) ผสมกับกลูโคแมนแนนโครงสร้างที่เกิดขึ้นไม่แข็งแรง ทั้งนี้เนื่องจากกลูโคแมนแนนไม่ได้เข้ากับ crystalline junction zones ของแคปซูลคาราจีแนน (kappa carrageenan) มีความเป็นไปได้ว่าเกิดขึ้นจากความหนืดของกลูโคแมนแนน ซึ่งไม่ยับยั้งการจับกันของโมเลกุลและยังชะลอการเกิด junction zones อีกด้วย

ตารางที่ 14 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลที่อัตราส่วนของผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทริน, ปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนต่อปริมาณสารเคลือบ และอุณหภูมิอากาศเข้าต่างๆ

อัตราส่วนของผงบุก ต่อมอลโตเดกซ์ทริน	ปริมาณสารสกัด จากใบหม่อนต่อ ปริมาณสารเคลือบ (%)	อุณหภูมิ อากาศเข้า (°C)	Ferric reducing antioxidant power ($\mu\text{M TEAC} / \text{g DW}$)	DPPH radical scavenging activity ($\mu\text{M TEAC} / \text{g DW}$)
3 : 1	15	150	3492.59 ± 60.05^f	211.92 ± 5.25^d
3 : 1	15	180	3948.99 ± 96.05^{de}	231.85 ± 0.08^{cd}
3 : 1	30	150	5685.67 ± 37.45^b	316.08 ± 2.86^{ab}
3 : 1	30	180	6194.19 ± 124.98^a	334.16 ± 14.66^a

อัตราส่วนของผงบุก ต่อมอลโตเดกซ์ทริน	ปริมาณสารสกัด จากใบหม่อนต่อ ปริมาณสารเคลือบ (%)	อุณหภูมิ อากาศขาเข้า (°C)	Ferric reducing antioxidant power (μM TEAC / g DW)	DPPH radical scavenging activity (μM TEAC / g DW)
3.81 : 1	22.5	165	5183.68 $\pm$ 77.40 ^c	294.13 $\pm$ 14.42 ^b
5 : 1	15	150	3617.82 $\pm$ 12.23 ^{ef}	229.08 $\pm$ 8.37 ^{cd}
5 : 1	15	180	4211.87 $\pm$ 264.08 ^d	236.99 $\pm$ 13.47 ^c
5 : 1	30	150	6079.41 $\pm$ 268.85 ^a	302.37 $\pm$ 3.85 ^b
5 : 1	30	180	6283.48 $\pm$ 175.69 ^a	304.95 $\pm$ 11.28 ^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับ a, b, c,... ต่างกันในแต่ละแถวแนวตั้ง หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

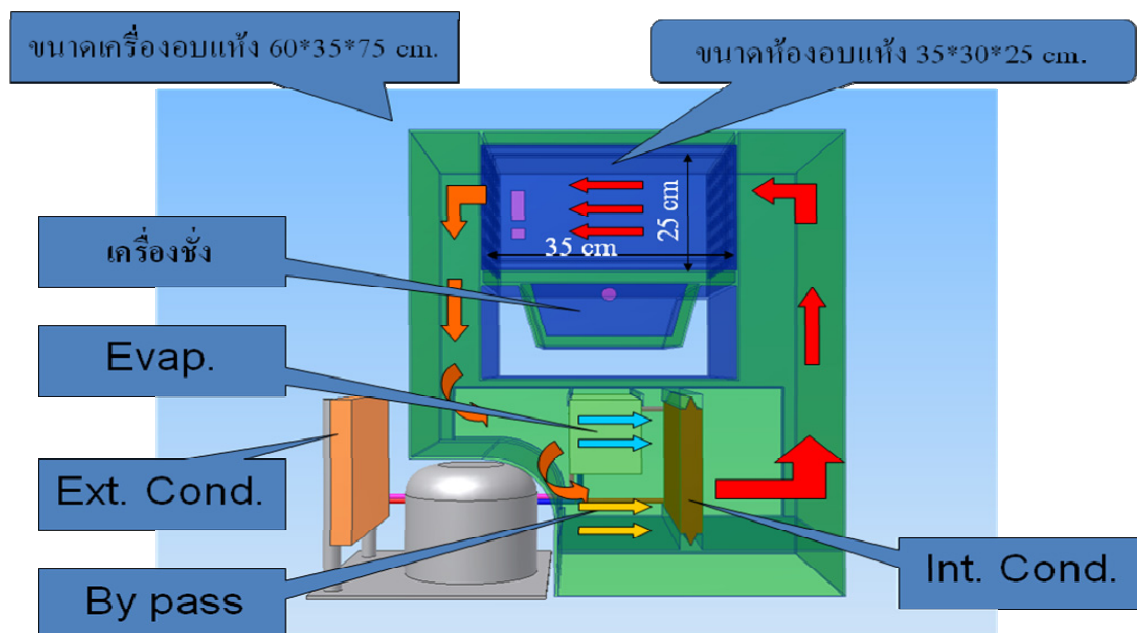
เมื่อปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนต่อปริมาณสารเคลือบเพิ่มขึ้น ที่อัตราส่วนของผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทริน 3:1 หรือ 5:1 และอุณหภูมิอากาศขาเข้า 150 หรือ 180 องศาเซลเซียส พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นเมื่อปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 14) เนื่องจากปริมาณสารแทนนินจะช่วยให้ความสามารถในการกักเก็บสารในไมโครแคปซูลเพิ่มมากขึ้นถึงแม้ว่าสารเคลือบจะมีปริมาณเท่าเดิม ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของไมโครแคปซูลและยังลดต้นทุนในการผลิตอีกด้วย แต่จากการศึกษาของ Hogan et al (2001) พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของโซเดียมเคซีเนต (sodium caseinate) ของน้ำมันถั่วเหลือง จาก 0.25 ถึง 3.0 ความสามารถในการกักเก็บลดลงจาก 89.2% ถึง 18.8% ตามลำดับ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนจาก 30% ของสารแทนนินอาจมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นหรือลดลง ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาต่อไป

นอกจากนี้เมื่ออุณหภูมิอากาศขาเข้าเพิ่มมากขึ้น ที่อัตราส่วนของผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทริน 3:1 หรือ 5:1 และปริมาณสารสกัดต่อสารเคลือบ เท่ากับ 15% หรือ 30% พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิอากาศขาเข้าเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิอากาศขาเข้าเพิ่มสูงขึ้น อัตราเร็วในการปล่อยสารจะเพิ่มสูงขึ้น เพื่อควบคุมอุณหภูมิอากาศขาออกให้คงที่ ส่งผลให้ระยะเวลาในการอบแห้งสั้นลง อนุภาคเกิดการฟอร์มตัวได้เร็วขึ้นและระยะเวลาที่ไมโครแคปซูลจะสัมผัสกับความร้อนลดลง ซึ่งระยะเวลาที่ไมโครแคปซูลสัมผัสกับความร้อนนี้จะมีผลต่อการสูญเสียสารสำคัญในไมโครแคปซูล ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Fuchs et al. (2006) ซึ่งศึกษาอุณหภูมิอากาศขาเข้าของการอบแห้งแบบพ่นฝอยในการกักเก็บสารให้กลีนิรส โดยควบคุมอุณหภูมิอากาศขาออกให้คงที่อยู่ระหว่าง 70 - 90 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่ออุณหภูมิอากาศขาเข้าของการอบแห้งแบบพ่นฝอยเพิ่มมากขึ้นจะส่งผลให้ระยะเวลาในการอบแห้งลดลง และปริมาณสารสำคัญที่กักเก็บได้เพิ่มมากขึ้น แต่หากอุณหภูมิอากาศขาเข้าสูงเกินไปจะส่งผลให้สูญเสียสารสำคัญได้ (Risch and Reineccius, 1988) Shiga et al. (2003) ได้ศึกษาอุณหภูมิอากาศขาเข้าของการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิระหว่าง 120 - 240 องศาเซลเซียส ในการกักเก็บสารให้กลีนิรส โดยใช้สารเคลือบ α -cyclodextrin ร่วมกับมอลโตเดกซ์ทริน พบว่า เมื่ออุณหภูมิขาเข้าของการอบแห้งแบบพ่นฝอยเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้สารให้กลีนิรสทุกชนิดเพิ่มสูงขึ้น ยกเว้น lenthionine ลดลง เมื่ออุณหภูมิขาเข้าของการอบแห้งแบบพ่นฝอยเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 200 องศาเซลเซียส เนื่องจาก lenthionine เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ

lentic acid ด้วยเอนไซม์ γ - glutamyl transpeptidase และ C-S lyase (Yasumoto et al., 1971) อุณหภูมิอากาศเข้าที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลต่อกระบวนการสร้าง lenthionine โดยใช้เอนไซม์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ในบางกรณีอุณหภูมิอากาศเข้าของการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่สูงจนเกินไปจะส่งผลให้สารสำคัญบางชนิด สูญเสียไป

4. ผลการศึกษาการออกแบบและสร้างเครื่องอบแห้งที่เหมาะสมสำหรับอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มี หน้าที่เฉพาะจากพอลิเมอร์ธรรมชาติ

เครื่องอบแห้งที่เหมาะสมสำหรับอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีหน้าที่เฉพาะจากพอลิเมอร์ธรรมชาติ ได้ ถูกออกแบบ โดยวิธีการอบแห้งที่เลือกใช้คือการใช้กระบวนการอบแห้งแบบบีบความร้อน เนื่องจากสามารถ อบแห้งที่อุณหภูมิต่ำ และควบคุมตัวกลางในการอบแห้งได้ รูปที่ 33 แสดงเครื่องอบแห้งแบบบีบความร้อนที่ ออกแบบไว้



รูปที่ 33 แผนภาพโครงสร้างเครื่องอบแห้งแบบบีบความร้อนสำหรับอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีหน้าที่เฉพาะ จากพอลิเมอร์ธรรมชาติ



รูปที่ 34 เครื่องอบแห้งแบบปั๊มความร้อนที่เหมาะสมสำหรับอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีหน้าที่เฉพาะ

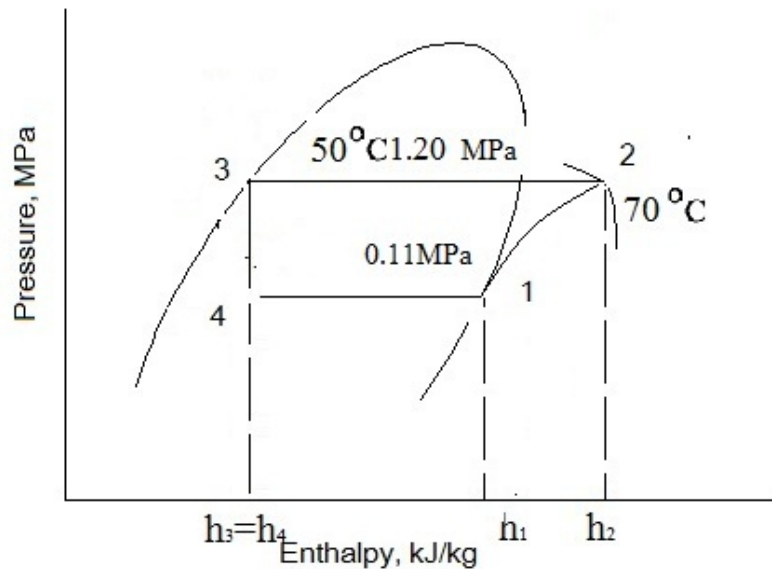
ในการออกแบบและสร้างเครื่องอบแห้งระบบปั๊มความร้อน ได้ทำการออกแบบและสร้างเครื่องเสร็จแล้ว และผลของการทดสอบสมรรถนะการทำงานของเครื่อง โดยได้ทำการทดสอบโดยการอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ มีการกำหนดอุณหภูมิที่ใช้ในการทดสอบ มี 3 ระดับได้แก่ การอบแห้งที่อุณหภูมิ 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส และมีการปรับความเร็วลมในการอบแห้งคงที่ 0.2 เมตรต่อวินาที ทำการอบแห้งภายใต้สภาวะของตัวกลางที่ใช้ในการอบแห้งได้แก่ อากาศ และเงื่อนไขสำหรับการออกแบบระบบปั๊มความร้อน โดยที่สามารถเปลี่ยนตัวกลางในการอบแห้งได้ จึงได้ทำการออกแบบให้เป็นระบบปิด (Close loop system) จากการคำนวณหาขนาดของเครื่องปั๊มความร้อนและทดสอบการอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ และนำผลข้อมูลที่ได้จากการทดสอบการทำงานของปั๊มความร้อน มาทำการคำนวณหาประสิทธิภาพของเครื่อง ซึ่งได้ข้อมูลดังต่อไปนี้

1. ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการวัดค่าอุณหภูมิและความดันของสารทำความเย็นของระบบได้ค่าต่างดังนี้

- | | |
|---|----------|
| 1. อุณหภูมิสารทำความเย็นในเครื่องควบแน่นเท่ากับ | 50 °C |
| 2. อุณหภูมิสารทำความเย็นทางออกเครื่องอัดไอเท่ากับ | 70 °C |
| 3. ความดันภายในเครื่องควบแน่นเท่ากับ | 1.20 MPa |
| 4. ความดันภายในเครื่องทำระเหยเท่ากับ | 0.11 MPa |
| 5. สารทำความเย็นที่ใช้คือ R 134a | |

จากข้อมูลข้างต้นเมื่อนำข้อมูลต่างๆ มาแสดงไว้ในแผนภูมิความดันและเอนทัลปีดังรูปที่ 35 เพื่อทำการหาค่าสัมประสิทธิ์สมรรถนะของปั๊มความร้อนโดยที่

- จุดที่ 1 = Compressor inlet
 2 = Condenser inlet
 3 = Expansion valve
 4 = Evaporator inlet



รูปที่ 35 จําลองค่าในแผนภูมิความดันและเอนทัลปี

จากแผนภูมิความดันและเอนทัลปี เมื่อทำการอ่านค่าจากกราฟ p-h Diagram ได้ค่า เอนทัลปีของระบบดังนี้

$$h_1 = 233 \text{ kJ/kg}$$

$$h_2 = 297 \text{ kJ/kg}$$

$$h_3 = 120 \text{ kJ/kg}$$

$$h_4 = 120 \text{ kJ/kg}$$

ดังนั้นจึงคำนวณหาค่าต่างๆ ของระบบได้ดังนี้

1.1 ความสามารถในการทำความเย็นต่อมวลของสารทำความเย็นจากสมการ

$$\begin{aligned} q_e &= h_1 - h_4 \\ &= 233 - 120 \\ &= 113 \text{ kJ/kg} \end{aligned}$$

1.2 อัตราการไหลเชิงมวลของสารทำความเย็นที่ไหลวนในวัฏจักร (ใช้เครื่องระเหยขนาด 0.25 kW)

$$\begin{aligned} m_f &= Q_e / q_e \\ &= 0.25 / 113 \\ &= 0.0022 \text{ kg/s} \end{aligned}$$

1.3 ความสามารถในการทำความร้อนต่อมวลของสารทำความเย็น

$$\begin{aligned} q_c &= h_2 - h_4 \\ &= 297 - 120 \\ &= 177 \text{ kJ/kg} \end{aligned}$$

1.4 พลังงานที่ป้อนให้แก่เครื่องอัดไอทางอุณหพลศาสตร์

$$q_w = h_2 - h_1$$

$$= 297 - 233$$

$$= 64 \text{ kJ/kg}$$

1.5 ค่าสัมประสิทธิ์สมรรถนะของระบบปั๊มความร้อนหาได้จาก

$$\text{COP}_{\text{re}} = q_e / q_w$$

$$= 113 / 64$$

$$= 1.76$$

และ

$$\text{COP}_{\text{hp}} = q_c / q_w$$

$$= 177 / 64$$

$$= 2.76$$

1.6 ความสามารถในการทำความร้อนสุทธิของเครื่องควบแน่น

$$Q_c = m_f \cdot q_c$$

$$= 0.0022 \cdot 177$$

$$= 0.39 \text{ kW}$$

1.7 งานที่ป้อนให้แก่เครื่องอัดไอทางอุดมคติ

$$W_c = m_f \cdot q_w$$

$$= 0.0022 \cdot 64$$

$$= 0.14 \text{ kW}$$

2. ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำการวัดค่าอุณหภูมิและความดันของสารทำความเย็นของระบบได้ค่าดังนี้

1. อุณหภูมิสารทำความเย็นในเครื่องควบแน่นเท่ากับ 60 °C
2. อุณหภูมิสารทำความเย็นทางออกเครื่องอัดไอเท่ากับ 80 °C
3. ความดันภายในเครื่องควบแน่นเท่ากับ 1.58 MPa
4. ความดันภายในเครื่องทำระเหยเท่ากับ 0.12 MPa
5. สารทำความเย็นที่ใช้คือ R 134a

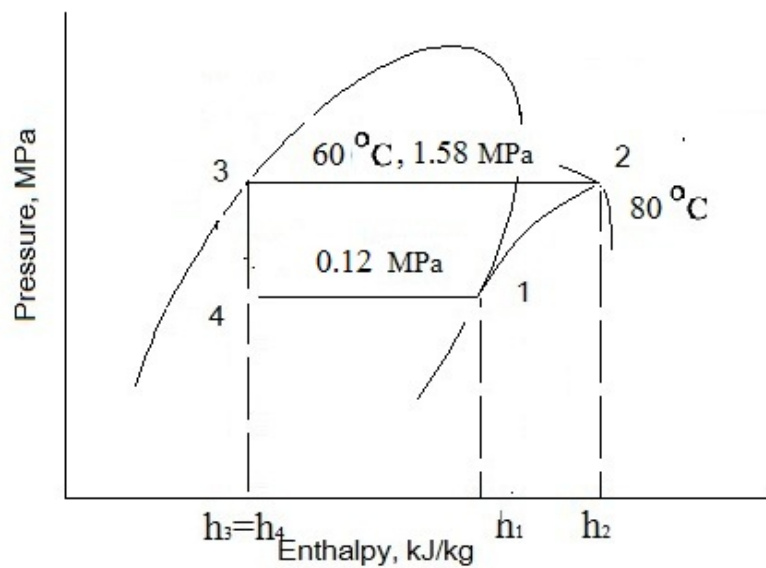
นำข้อมูลต่างๆ เบื้องต้นมาแสดงไว้ในแผนภูมิความดันและเอนทัลปีดังรูปที่ 36 เพื่อทำการหาค่าสัมประสิทธิ์สมรรถนะของปั๊มความร้อนโดยที่

จุดที่ 1 = Compressor inlet

2 = Condenser inlet

3 = Expansion valve

4 = Evaporator inlet



รูปที่ 36 จําลองค่าในแผนภูมิความดันและเอนทัลปี

จากแผนภูมิความดันและเอนทัลปี เมื่อทำการอ่านค่าจากกราฟ p-h Diagram ได้ค่า เอนทัลปีของระบบดังนี้

$$h_1 = 235 \text{ kJ/kg}$$

$$h_2 = 302 \text{ kJ/kg}$$

$$h_3 = 138 \text{ kJ/kg}$$

$$h_4 = 138 \text{ kJ/kg}$$

ดังนั้นจึงคำนวณหาค่าต่างๆ ของระบบได้ดังนี้

2.1 ความสามารถในการทำความเย็นต่อมวลของสารทำความเย็นจากสมการ

$$\begin{aligned} q_e &= h_1 - h_4 \\ &= 235 - 138 \\ &= 97 \text{ kJ/kg} \end{aligned}$$

2.2 อัตราการไหลเชิงมวลของสารทำความเย็นที่ไหลวนในวัฏจักร (ใช้เครื่องระเหยขนาด 0.25 kW)

$$\begin{aligned} m_f &= Q_e / q_e \\ &= 0.25 / 97 \\ &= 0.0025 \text{ kg/s} \end{aligned}$$

2.3 ความสามารถในการทำความร้อนต่อมวลของสารทำความเย็น

$$\begin{aligned} q_c &= h_2 - h_4 \\ &= 302 - 138 \\ &= 164 \text{ kJ/kg} \end{aligned}$$

2.4 พลังงานที่ป้อนให้แก่เครื่องอัดไอทางอุดมคติ

$$\begin{aligned} q_w &= h_2 - h_1 \\ &= 302 - 235 \\ &= 67 \text{ kJ/kg} \end{aligned}$$

2.5 ค่าสัมประสิทธิ์สมรรถนะของระบบปั๊มความร้อนหาได้จาก

$$\text{COP}_{re} = q_e / q_w$$

$$= 97 / 67$$

$$= 1.44$$

และ

$$\text{COP}_{\text{hp}} = q_c / q_w$$

$$= 164 / 67$$

$$= 2.44$$

2.6 ความสามารถในการทำความร้อนสุทธิของเครื่องควบแน่น

$$Q_c = m_f \cdot q_c$$

$$= 0.0025 \cdot 164$$

$$= 0.41 \text{ kW}$$

2.7 งานที่ป้อนให้แก่เครื่องอัดไอทางอุดมคติ

$$W_c = m_f \cdot q_w$$

$$= 0.0025 \cdot 67$$

$$= 0.167 \text{ kW}$$

3. ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำการวัดค่าอุณหภูมิและความดันของสารทำความเย็นของระบบได้ค่าต่างดังนี้

1. อุณหภูมิสารทำความเย็นในเครื่องควบแน่นเท่ากับ 72 °C
2. อุณหภูมิสารทำความเย็นทางออกเครื่องอัดไอเท่ากับ 90 °C
3. ความดันภายในเครื่องควบแน่นเท่ากับ 2.06 MPa
4. ความดันภายในเครื่องทำระเหยเท่ากับ 0.13 MPa
5. สารทำความเย็นที่ใช้คือ R 134a

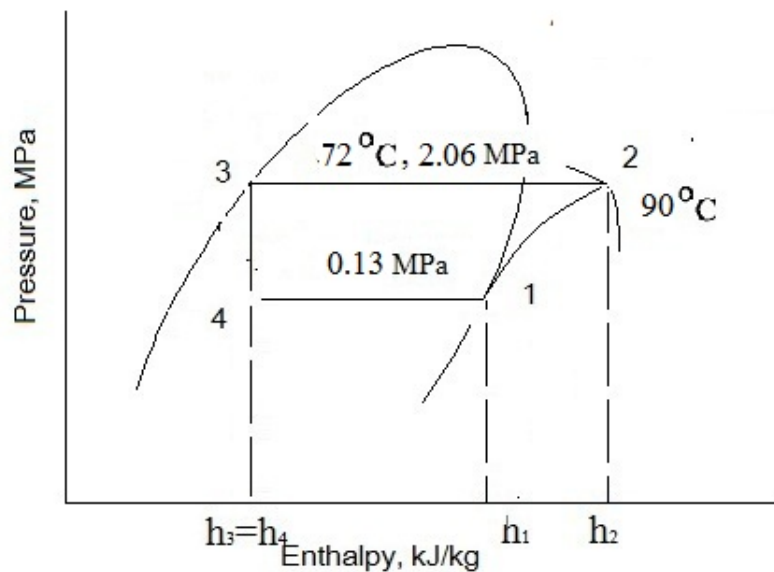
นำข้อมูลต่างๆ เบื้องต้นมาแสดงไว้ในแผนภูมิความดันและเอนทัลปีดังรูปที่ 37 เพื่อทำการหาค่าสัมประสิทธิ์สมรรถนะของปั๊มความร้อนโดยที่

จุดที่ 1 = Compressor inlet

2 = Condenser inlet

3 = Expansion valve

4 = Evaporator inlet



รูปที่ 37 จำลองค่าในแผนภูมิความดันและเอนทัลปี

จากแผนภูมิความดันและเอนทัลปี เมื่อทำการอ่านค่าจากกราฟ p-h Diagram ได้ค่า เอนทัลปีของระบบดังนี้

$$h_1 = 238 \text{ kJ/kg}$$

$$h_2 = 305 \text{ kJ/kg}$$

$$h_3 = 155 \text{ kJ/kg}$$

$$h_4 = 155 \text{ kJ/kg}$$

ดังนั้นจึงคำนวณหาค่าต่างๆ ของระบบได้ดังนี้

3.1 ความสามารถในการทำความเย็นต่อมวลของสารทำความเย็นจากสมการ

$$\begin{aligned} q_e &= h_1 - h_4 \\ &= 238 - 155 \\ &= 83 \text{ kJ/kg} \end{aligned}$$

3.2 อัตราการไหลเชิงมวลของสารทำความเย็นที่ไหลวนในวัฏจักร (ใช้เครื่องระเหยขนาด 0.25 kW)

$$\begin{aligned} m_f &= Q_e / q_e \\ &= 0.25 / 83 \\ &= 0.0030 \text{ kg/s} \end{aligned}$$

3.3 ความสามารถในการทำความร้อนต่อมวลของสารทำความเย็น

$$\begin{aligned} q_c &= h_2 - h_4 \\ &= 305 - 155 \\ &= 150 \text{ kJ/kg} \end{aligned}$$

3.4 พลังงานที่ป้อนให้แก่เครื่องอัดไอทางอุดมคติ

$$\begin{aligned} q_w &= h_2 - h_1 \\ &= 305 - 238 \\ &= 67 \text{ kJ/kg} \end{aligned}$$

3.5 ค่าสัมประสิทธิ์ประสิทธิภาพของระบบปั๊มความร้อนหาได้จาก

$$\text{COP}_{re} = q_e / q_w$$

$$= 83 / 67$$

$$= 1.23$$

และ

$$\text{COP}_{\text{hp}} = q_c / q_w$$

$$= 150 / 67$$

$$= 2.23$$

3.6 ความสามารถในการทำความร้อนสุทธิของเครื่องควบแน่น

$$Q_c = m_f * q_c$$

$$= 0.0030 * 150$$

$$= 0.45 \text{ kW}$$

3.7 งานที่ป้อนให้แก่เครื่องอัดไอทางอุณหพลศาสตร์

$$W_c = m_f * q_w$$

$$= 0.0030 * 67$$

$$= 0.201 \text{ kW}$$

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเครื่องอบแห้งแบบปั๊มความร้อน

สำหรับการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของเครื่องอบแห้งแบบปั๊มความร้อน ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจากกระบวนการอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้

ความสามารถในการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C

น้ำหนักก่อนอบแห้ง	166.6 g
-------------------	---------

น้ำหนักหลังอบแห้ง	2.08 g
-------------------	--------

น้ำหนักน้ำที่ระเหยออกไป	164.5 g
-------------------------	---------

เวลาในการอบแห้ง	5 hr
-----------------	------

หาอัตราการอบแห้ง(Drying rate)

อัตราการอบแห้ง = ปริมาณน้ำที่ระเหยจากวัสดุ / เวลาในการอบแห้ง

$$= 164.5 / 5$$

$$= 32.9 \text{ g/hr}$$

ความชื้นของสารละลายก่อนการอบแห้ง

หาความชื้นมาตรฐานแห้ง (Dry basis %db)

$$\text{ความชื้นมาตรฐานแห้ง} = ((\text{มวลของวัสดุ} - \text{มวลของวัสดุแห้ง}) / \text{มวลของวัสดุแห้ง}) * 100$$

$$= ((166.6 - 2.08) / 2.08) * 100$$

$$= 7907\% \text{db}$$

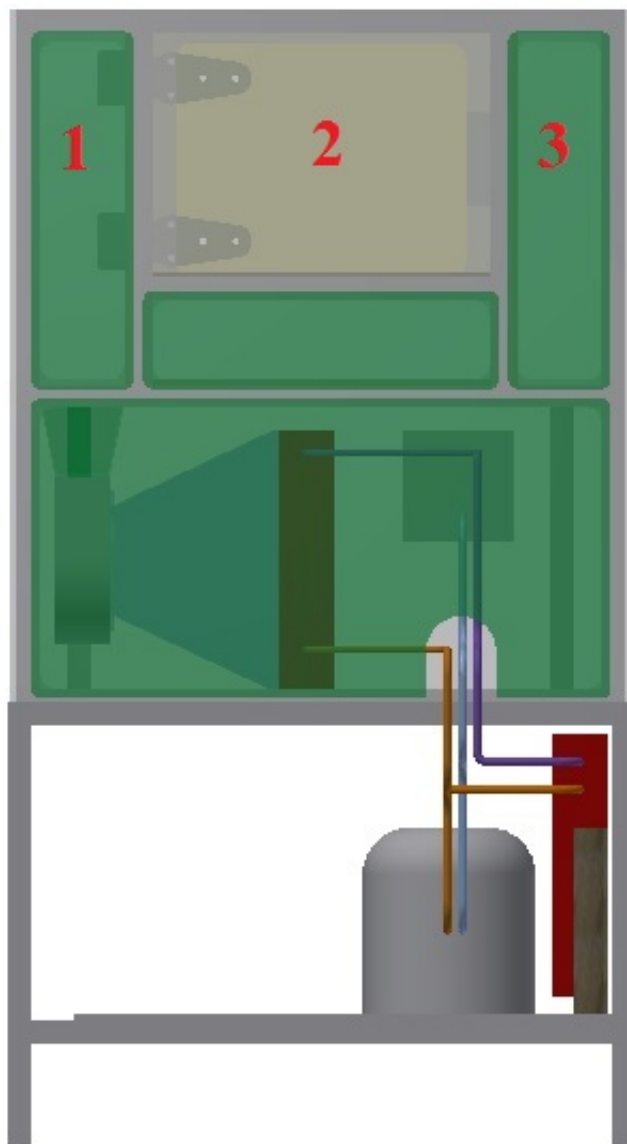
หาความชื้นมาตรฐานเปียก (Wet basis %wb)

$$\text{ความชื้นมาตรฐานแห้ง} = ((\text{มวลของวัสดุ} - \text{มวลของวัสดุแห้ง}) / \text{มวลของวัสดุแห้ง}) * 100$$

$$= ((166.6 - 2.08) / 166.6) * 100$$

$$= 98.7\% \text{wb}$$

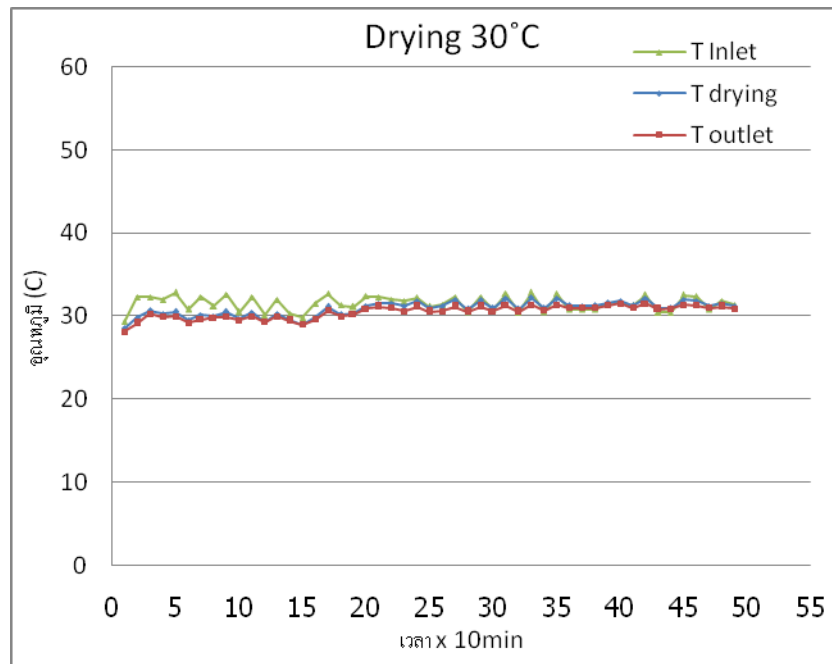
จากการทดลองการอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ ในระหว่างกระบวนการอบแห้ง ได้ทำการวัดค่าอุณหภูมิของเครื่องอบแห้งในส่วนต่างๆ ได้แก่การวัดที่อุณหภูมิตำแหน่งก่อนเข้าห้องอบแห้ง อุณหภูมิภายในห้องอบแห้ง และอุณหภูมิออกจากห้องอบแห้ง ตำแหน่งต่างๆ ได้แสดงดังรูปที่ 38



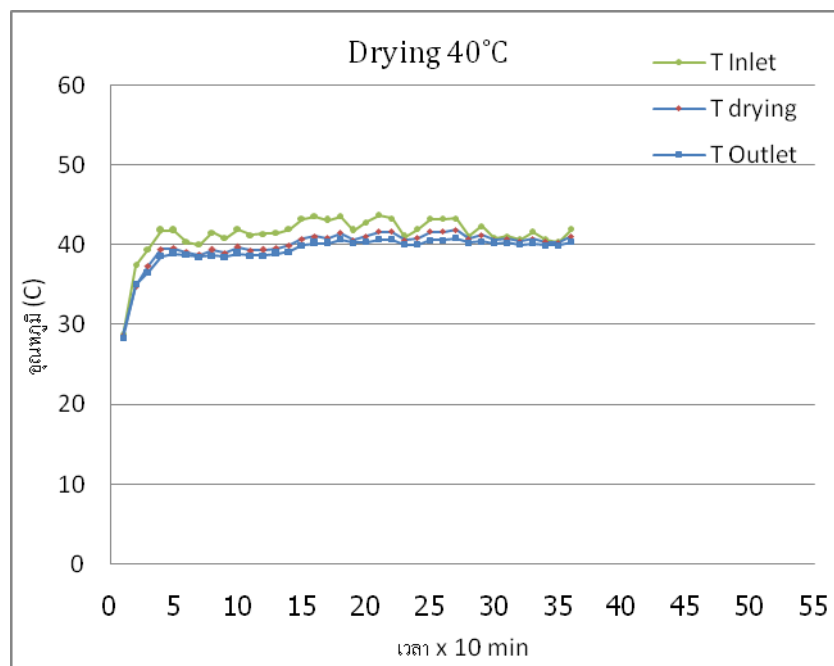
รูปที่ 38 ตำแหน่งในการวัดอุณหภูมิระหว่างการอบแห้ง

จากรูปที่ 38 แสดงถึงการวัดอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ซึ่งทำการวัดจากการอบแห้งที่อุณหภูมิ 3 ระดับได้แก่ ที่อุณหภูมิ 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยที่ตำแหน่งหมายเลข 1 แสดงถึงตำแหน่งการวัดอุณหภูมิของอากาศร้อนที่ออกจาก เครื่องควบแน่นด้านในห้องอบแห้ง ก่อนที่จะเข้าสู่ห้องอบแห้ง ตำแหน่งหมายเลข 2 แสดงถึงตำแหน่งการวัดอุณหภูมิของอากาศร้อนภายในห้องอบแห้ง และตำแหน่งหมายเลข 3 แสดงถึงตำแหน่งการวัดอุณหภูมิของอากาศที่ออกจากห้องอบแห้ง

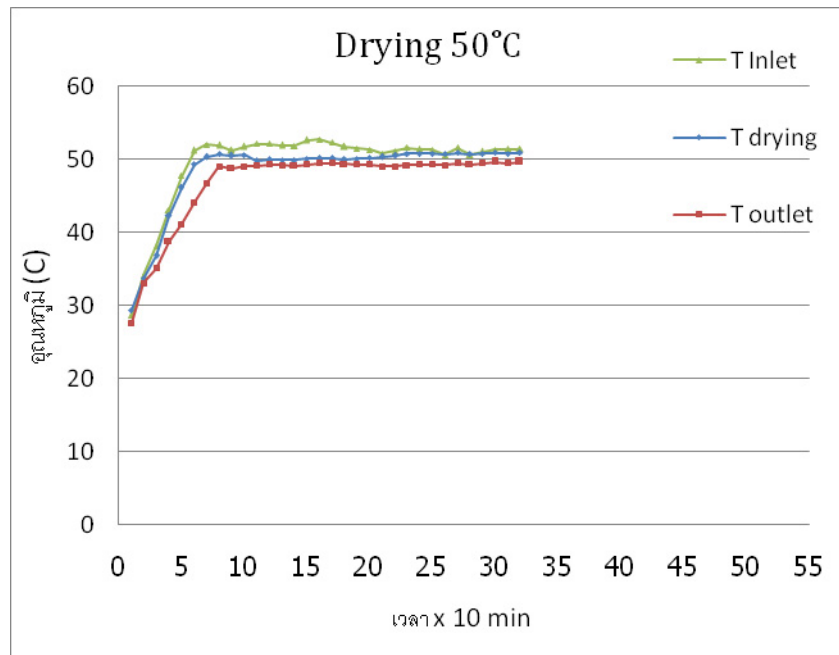
และทำการทดสอบอบแห้งฟิล์มบริโกลได้ ที่อุณหภูมิ 30 40 และ 50°C ซึ่งได้ผลการทดสอบดังนี้



รูปที่ 39 กราฟอุณหภูมิและเวลาในอบแห้งที่อุณหภูมิ 40°C

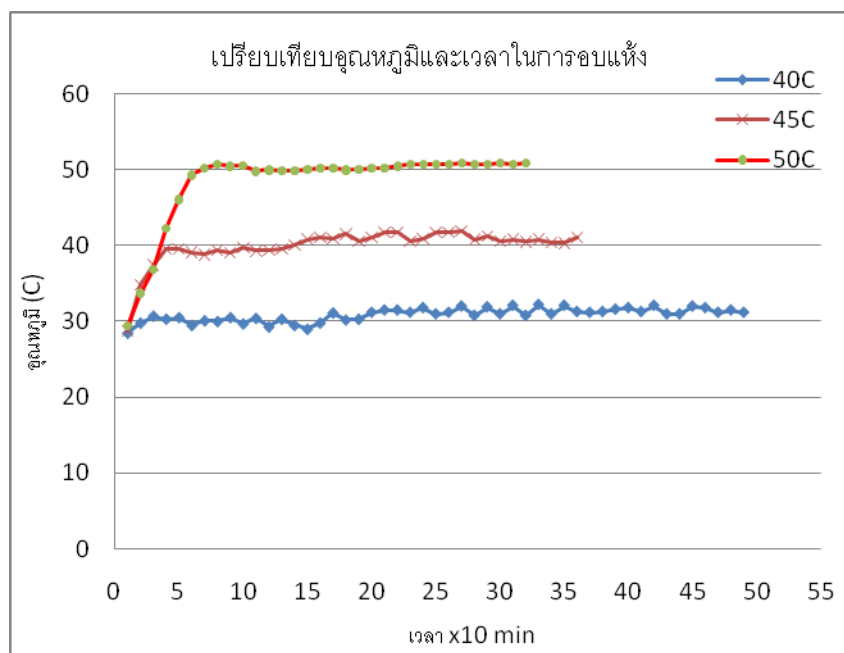


รูปที่ 40 กราฟอุณหภูมิและเวลาในอบแห้งที่อุณหภูมิ 45°C



รูปที่ 41 กราฟอุณหภูมิและเวลาในอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C

และทำการเปรียบเทียบอุณหภูมิของห้องอบที่อุณหภูมิต่างๆได้ดังรูปที่ 42



รูปที่ 42 กราฟอุณหภูมิและเวลาในห้องอบแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ

จากการทดสอบทั้งหมดพบว่าเครื่องอบแห้งแบบปั๊มความร้อนสำหรับอบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีหน้าที่เฉพาะสามารถปฏิบัติการได้ดีและควบคุมอุณหภูมิได้คงที่ และสามารถนำไปใช้อบแห้งฟิล์มย่อยสลายได้ที่มีหน้าที่เฉพาะได้จริง

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลจากการวิจัยนี้สามารถผลิตไมโครแคปซูลสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชและสัตว์ ได้ดังนี้

ผลิตภัณฑ์ที่ 1 ไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล โดยมีสถานะที่เหมาะสมคือ โครงปลานิลที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาอบแห้งโดยวิธีการอบแห้งแบบพ่นกระจาย โดยมีอัตราการไหลของอากาศ ภายในเครื่องทำแห้งคงที่ 30%, ค่า aspiration เท่ากับ 100, อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า 150 °C, อุณหภูมิลมร้อนขาออกอยู่ในช่วง 80-90°C, Feed rate 30% (7 มิลลิลิตรต่อนาที) ใช้ maltodextrin (10% DE) ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวอย่าง

ผลิตภัณฑ์ที่ 2 ไกลโฟโซมน้ำมันสาระแน พบว่า การแปรชนิดและปริมาณตัวทำอิมัลชัน สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีรูปแบบต่างกันและความสามารถในการกักเก็บน้ำมันสาระแนในปริมาณที่ต่างกัน การที่ผลิตภัณฑ์มีขนาดอนุภาคและความเข้มข้นของน้ำมันสาระแนต่างกันทำให้ออกฤทธิ์ด้านแบคทีเรียต่างกัน เมื่อนำมาขึ้นรูปฟิล์มโดยใช้คาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลส สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้ แต่สมบัติเชิงกลของฟิล์มและการป้องกันการซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มต้องมีการปรับปรุงต่อไป

ผลิตภัณฑ์ที่ 3 ไมโครแคปซูลของสารสกัดจากใบหม่อน โดยพบว่าสถานะที่เหมาะสมในการผลิตไมโครแคปซูลของสารสกัดจากใบหม่อนเพื่อให้ได้ไมโครแคปซูลที่สามารถกักเก็บสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญจากใบหม่อนนั้นมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้นั้นมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นของเอทานอล 60% เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญจากใบหม่อน เนื่องจากสารสกัดจากใบหม่อนที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง หลังจากนั้นเมื่อนำสารสกัดจากใบหม่อนที่ได้เอนแคปซูเลตด้วยสารเคลือบ 2 ชนิด คือ ผงบุกและมอลโตเดกซ์ทริน เพื่อเปลี่ยนสถานะของสารสกัดที่ได้จากของเหลวให้อยู่ในรูปของไมโครแคปซูลด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย สถานะที่ใช้ในการผลิตไมโครแคปซูลนั้นมีผลต่อความสามารถในการกักเก็บสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งอัตราส่วนของสารเคลือบ 2 ชนิด คือ ผงบุกและมอลโตเดกซ์ทริน ปริมาณของสารสกัดจากใบหม่อนต่อปริมาณสารเคลือบ และอุณหภูมิอากาศขาเข้า โดยสถานะที่เหมาะสมในการผลิตไมโครแคปซูลของสารสกัดจากใบหม่อนเพื่อให้ได้ไมโครแคปซูลที่สามารถกักเก็บสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง คือ อัตราส่วนของผงบุกต่อมอลโตเดกซ์ทรินเท่ากับ 3:1 ปริมาณสารสกัดจากใบหม่อนต่อปริมาณสารเคลือบเท่ากับ 30% และอุณหภูมิอากาศขาเข้าเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ยังสร้างเครื่องอบแห้งที่เหมาะสมสำหรับอบฟิล์มที่มีหน้าที่เฉพาะ เพื่ออบแห้งฟิล์มบริโกลได้ที่มีหน้าที่เฉพาะเสร็จสิ้นเรียบร้อย

บรรณานุกรม

ดวงใจ ลาภยืนยง.2548. การใช้โปรตีนเอสในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากหอยเป่าชื่อ *Haliotis asinine* Linnaeus. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ฉันทพร จันทรแสนโรจน์. 2550. การผลิตและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากหอยเป่าชื่อ (*Haliotis asinina*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- เลิศชัย พัฒนวิจิตร.2548. เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนจาก *Bacillus licheniformis* เพื่อเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโครงปลานิล *Oreochromis niloticus*. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต , สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วรัญญา ปานเกตุ. 2554. การทำไมโครแคปซูลของสารสกัดจากมะกรูดโดยการทำแห้งแบบพ่นฝอยสำหรับต้านจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ปลาสดบด. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 41 น.
- สุนทรี วราอุบล. 2537. การทำแห้งน้ำมะนาวแบบเยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- Abdul-Hamid, A., Bakar, J., and Bee, G.H. 2002. Nutritional quality of spray dried protein hydrolysate from Black Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Food Chemistry 78: 69-74.
- Arabbi, P.R., M.I. Genovese, and F.M. Lajolo. 2004. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52(5): p. 1124-1131.
- Arabshahi-Delouee, S. and A. Urooj. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry, 102(4): p. 1233-1240.
- Arcan, I., and Yemenicioglu, A. 2007. Antioxidant activity of protein extracts from heat-treated or thermally processed chickpeas and white beans. Food Chemistry 103: 301-312.
- Batista, I., Ramos, C., Coutinho, J., Bandarra, N.M., and Nunes, M.L. 2010. Characterization of protein hydrolysates and lipids obtained from black scabbardfish (*Aphanopus carbo*) by-products and antioxidative activity of the hydrolysates produced. Process Biochemistry 45: 18-24.
- Capitani, C.D., A.C.L. Carvalho, P.B. Botelho, M.M. Carrapeiro, and I.A. Castro. 2009. Synergism on antioxidant activity between natural compounds optimized by response surface methodology. European Journal of Lipid Science and Technology, 111(11): p. 1100-1110.
- Cheetham, N.W.H. and E.N.M. Mashimba. Conformational aspects of xanthan—Galactomannan gelation. Further evidence from optical-rotation studies. Carbohydrate Polymers, 1990. 14(1): p. 17-27.
- Chen F., Nakashima N., Kimura I., and Kimura M. 1995. Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves (*Folium mori*) and cortex *mori radices* in streptozotocin-induced diabetic mice. Yakugaku Zasshi, 115: 476-482.
- Chen, X. D., and Mujumdar, A. S. Drying Technologies in Food Processing. UK: Blackwell Publishing, 2008.
- Crushman, D.W., and Cheung, H.S. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. Biochem Pharmacology 20: 1637-1648.
- Dong, S., et al. 2008. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Food Chemistry 107: 1485-1493.

- Fuchs, M., C. Turchiuli, M. Bohin, M.E. Cuvelier, C. Ordonnaud, M.N. Peyrat-Maillard, and E. Dumoulin. 2006. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. Journal of Food Engineering, 75(1): p. 27-35.
- Gomez-Ruiz, J.A., Ramos, M., and Recio, I. 2004. Angiotensin converting enzyme-inhibitory activity of peptides isolated from Manchego cheese stability under simulated gastrointestinal digestion. International Dairy Journal 14: 1075-1080.
- Graversen, H., E. Becker, L. Skibsted, and M. Andersen. 2008. Antioxidant synergism between fruit juice and α -tocopherol. A comparison between high phenolic black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and high ascorbic blackcurrant (*Ribes nigrum*). European Food Research and Technology, 226(4): p. 737-743.
- Hernandez-Ledesma, B., Contreras, M.d.M., and Recio, I. 2011. Antihypertensive peptides: Production, bioavailability and incorporation into foods. Advances in Colloid and Interface Science 165(1): 23-35.
- Hogan, S.A., B.F. McNamee, E.D. O'Riordan, and M. O'Sullivan. 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. International Dairy Journal, 11(3): p. 137-144.
- Jamdar, S.N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M.D., Juan, F., Yardi, V., and Sharma, A. 2010. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. Food Chemistry 121(1): 178-184.
- Jeon, Y.J., Byun, H.G., and Kim, S.K. 1999. Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membrane. Process Biochemistry 35: 471-478.
- Jun, S.Y., Jung, W.K. and Kim, S.K. 2004. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. European Food Research and Technology. 219(1): 20-26.
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote D., and Shahidi F. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. Food Chemistry 102: 1317-1327.
- Marco, A., Rubio, R., Compano, R., and Casals, I. 2002. Comparison of the Kjeldahl method and a combustion method for total nitrogen determination in animal feed. Talanta 57: 1019-1026.
- Murray, B.A., Walsh, D.J., and FitzGerald, R.J. 2004. Modification of the furanacryloyl-L-phenylalanyl-glycylglycine assay for determination of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity. Journal of Biochemical and Biophysical Methods 59: 127-137.
- Nielsen, P.M., Petersen, D., and Dambrmann, C. 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. Journal of Food Science 66(5): 642-646.

- Pena-Ramos, E.A., and Xiong, Y.L. 2001. Antioxidative activity of whey protein hydrolysates in a liposomal system. Journal of Dairy Science 84: 2577-2583.
- Raghavan, S., and Kristinsson, H.G. 2009. ACE-inhibitory activity of tilapia protein hydrolysates. Food Chemistry 117: 582-588.
- Rajapakse, N., Mendis, E., Jung, W.K., Je, Y.J., and Kim, S.K. 2005. Purification of radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. Food Research International 38: 175-182.
- Risch, S. J., and Reineccius, G. A. 1988. Flavor Encapsulation. 2nd ed. Washington, D.C: American Chemical Society.
- Roberts, W.G. and M.H. Gordon. 2003. Determination of the total antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(5): p. 1486-93.
- Saiga, A., Tanabe, S., and Nishimura, T. 2003. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:3661-3667.
- Shan, B., Y.Z. Cai, M. Sun, and H. Corke. 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(20): p. 7749-59.
- Shiga, H., H. Yoshii, H. Ohe, M. Yasuda, T. Furuta, H. Kuwahara, M. Ohkawara, and P. Linko. 2004. Encapsulation of shiitake (*Lentinus edodes*) flavors by spray drying. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 68(1): p. 66-71.
- Steiner-Asiedu, M., Julshamn, K., and Lie, O. 1990. Effect of local processing methods (cooking, frying and smoking) on three fish species from Ghana: part I. proximate composition, fatty acids, minerals, trace elements and vitamin. Food Chemistry 40: 309-321.
- Suetsuna, K., Ukeda, H., and Ochi, H. 2000. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. Journal of Nutritional Biochemistry 11: 128-131.
- Thiansilakul, Y., Benjakul, S., and Shahidi, F. 2007. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). Food Chemistry 103: 1385-1394.
- Tsai, J.S., Chen, J.L. and Pan, B.S. 2008. ACE-inhibitory peptides identified from the muscle protein hydrolysate of hard clam (*Meretrix lusoria*). Process Biochemistry 43: 743-747.
- Wong, C., H. Li, K. Cheng, and F. Chen. 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food Chemistry, 97(4): p. 705-711.

- Wu, C., F. Chen, X. Wang, H. Kim, G. He, V. Haley-Zitlin, and G. Huang. 2006. Antioxidant constituents in fever few (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification. Food Chemistry, 96(2): p. 220-227.
- Wu, H.C., Chen, H.M., and Shiau, C.Y. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). Food Research International 36: 949-957.
- Wu, T.H., Stine, J.J., and Bechtel, P.J. 2011. Preliminary chemical and nutritional characterization of liver from longnose skates (*Raja rhina*). Journal of Food Composition and Analysis 24: 356-361.
- Xue J., H. Wang, I. Amadou, and X.J. Qin. 2012. Textural and rheological properties of hydrolyzed Konjac Glucomannan and Kappa-Carrageenan: Effect of molecular weight, total content, pH and temperature on the mixed system gels. Emirates Journal of Food and Agriculture. 24(3): 200-207
- Yang, J., J. Xiao, and L. Ding. 2009. An investigation into the application of konjac glucomannan as a flavor encapsulant. European Food Research and Technology, 229(3): p. 467-474.
- Yang, J.I., Liang, W.S., Chow, C.J., and Siebert, K.J. 2009. Process for the production of tilapia retorted skin gelatin hydrolysates with optimized antioxidative properties. Process Biochemistry 44: 1152-1157.
- Yasumoto, K. and H. Mitsuda. 1971. Enzyme-catalyzed Evolution of Lenthionine from Lenthinic Acid. Agricultural and Biological Chemistry, 35: p. 2072-2080.
- Zhan-li, W., Sai-sai, Z., Wei, W., Feng-qin, F., and Wei-guang, S. 2011. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from the milk casein : virtual screening and docking studies. Agricultural Science in China 10(3): 463-467.
- Zulueta, A., Esteve, M. J., and Frivola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant activity of food products. Food Chemistry 114: 310-316.

โครงการวิจัยย่อยที่ 3

เรื่อง บรรจุภัณฑ์แอคทีฟจากกระดาษเคลือบฟิล์มไคโตซานเสริมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Active packaging from bioactive compound-incorporated chitosan film-coated paper

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2555 จำนวนเงิน 500,000.00- บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 21 เดือน ตั้งแต่ 14 สิงหาคม 2555 ถึง 15 พฤษภาคม 2557

ชื่อผู้วิจัย

1. รศ.ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทรวรรณ

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พญาไท ปทุมวัน

กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0 2218 5536 โทรสาร 0 2254 4314

2. อ.ดร.นุจรินทร์ เหลืองสะอาด

ภาควิชาเทคโนโลยีการพิมพ์และบรรจุภัณฑ์

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

โทรศัพท์ 0 2470 8572 โทรสาร 0 2470 8571

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้พัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมจากไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร ขั้นตอนเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายฟิล์ม โดยใช้สารละลาย acetic acid 1 % (v/v) และ lactic acid 1 % (v/v) วัดสมบัติของฟิล์ม ได้แก่ ความหนา, tensile strength (TS), elongation at break (%EAB) และ ค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor transmission rate, WVTR) พบว่า การใช้ acetic acid ให้ฟิล์มที่มีความหนา % EAB และ WVTR ไม่ต่างจากการใช้ lactic acid แต่ให้ค่า TS สูงกว่า จึงเลือกใช้ acetic acid เป็นตัวทำละลาย การศึกษาชนิดและปริมาณของพลาสติกไซเซอร์ที่เหมาะสม ทำโดยใช้กลีเซอรอล 0, 10, 20, 30 และ 40 % ของน้ำหนักไคโตซาน วัดความหนา, TS, % EAB, WVTR และ ค่า glass transition temperature (T_g) โดยใช้ Differential Scanning Calorimeter (DSC) พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์ส่งผลให้ค่าความหนา และ % EAB เพิ่มขึ้น ส่วนค่า TS และ T_g ของฟิล์มลดลง พบว่าการใช้พลาสติกไซเซอร์ที่ 30% เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากฟิล์มมีค่า % EAB สูงขึ้นกว่าการใช้ที่เข้มข้น 20% โดยไม่ส่งผลต่อค่า TS และ WVTR ฟิล์มที่ได้จึงมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นในขณะที่ความแข็งแรงและ คุณสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำไม่เปลี่ยนแปลง

การศึกษารวมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยใช้น้ำมันอบเชย (essential cinnamon oil, CBO) และแปรความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 50, 100 และ 150 $\mu\text{L/g}$ ไคโตซาน วัดสมบัติของฟิล์ม ได้แก่ ความหนา, TS, % EAB, WVTR ค่าสี รวมทั้งศึกษา interaction ระหว่างหมู่ฟังก์ชันของไคโตซานกับ CBO และศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยคำนวณเป็นค่า %DPPH radical-scavenging activity พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ

CBO ทำให้ความหนาและค่า TS เพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่า % EAB ของฟิล์มลดลงแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) การเติม CBO ลงในฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้นทำให้คุณสมบัติทางกลของฟิล์มดีขึ้น และสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น และความเข้มข้นของ CBO ที่เหมาะสมคือ 150 $\mu\text{L/g}$ เนื่องจากฟิล์มที่ได้มีค่า tensile strength สูงขึ้น ค่า WVTR ลดลง และมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น การเติมสารสกัดจากเปลือกอบเชยลงในฟิล์มไคโตซาน มีผลทำให้ฟิล์มไคโตซานมีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น โดยฟิล์มจะมีลักษณะที่มีความต้านแรงดึงที่สูงขึ้น และมีความยืดหยุ่นมากขึ้น ทำให้ง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร

นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายฟิล์มไคโตซาน และไคโตซานที่มีการเติม CBO สามารถนำมาเคลือบบนกระดาษกราฟท์ โดยทำให้ค่า TS เพิ่มขึ้นกระดาษมีความแข็งแรงมากขึ้นและป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น จึงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร

Abstract

This research developed environmental friendly active packaging from chitosan containing natural active compound to be used as food packaging. The optimum solvent for film forming solution was determined using 1 % (v/v) acetic acid and 1 % (v/v) lactic acid. Film properties including thickness, tensile strength (TS), elongation at break (%EAB) and water vapor transmission rate (WVTR) were measured. The results showed that 1 % (v/v) acetic acid was suitable for film forming solution.

The optimum plasticizer for chitosan was determined by using various glycerol concentration including 0, 10, 20, 30, and 40 % of chitosan and film properties including thickness, TS, % EAB, WVTR and glass transition temperature (T_g) were measured. It was found that thickness and % EAB increased while TS and T_g of the films decreased with concentration of glycerol. The results also suggested that 30% glycerol was the optimum concentration because % EAB increased while TS and WVTR were not changed. Thus the resulting film was more flexible while maintaining the strength and moisture barrier property of the film.

The chitosan film containing natural active compound was determined adding essential cinnamon oil (CBO) with varied concentration including 0, 50, 100, and 150 $\mu\text{L/g}$ of chitosan. Film properties including thickness, TS, % EAB, WVTR, and the interaction between functional groups of chitosan and CBO, as well as %DPPH radical-scavenging activity of the resulting films were determined. The results showed that thickness, TS increased but % EAB decreased with the concentration of CBO. The results suggested that adding CBO improved mechanical and barrier properties of the film and the optimum concentration of the CBO was found to be 150 $\mu\text{L/g}$ because the resulting film has higher TS, lower WVTR and better antioxidant property. Chitosan film containing CBO had better mechanical property and is expected to be suitable for food packaging.

Moreover, it was found that film forming solution from chitosan and chitosan containing CBO could be coated on the Kraft paper. The coating improved the TS and WVTR of the paper.

Therefore, paper coated with chitosan film containing CBO has potential to be used as environmental friendly active packaging for food.

บทนำ

จากกระแสการรณรงค์เรื่องสิ่งแวดล้อมในปัจจุบัน ทำให้การใช้วัสดุบรรจุภัณฑ์จากสารสังเคราะห์ลดลง และมีการส่งเสริมการใช้วัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติและสลายตัวได้โดยวิธีทางธรรมชาติมากขึ้น ลดการใช้พลาสติก และใช้กระดาษ และ หรือฟิล์มที่ได้จากธรรมชาติมากขึ้น

ไคโตซานถือเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล นิยมนำมาใช้กับอาหาร ไคโตซานมีฤทธิ์ยับยั้งหรือชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ จากงานวิจัยที่ผ่านมามีการใช้ไคโตซานในรูปแบบของฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ในการยืดอายุการผลิตภัตอาหารแปรรูปได้ดี แต่การใช้งานยังอยู่ในรูปแบบของฟิล์มและสารเคลือบเท่านั้น ดังนั้นหากมีการปรับปรุงประสิทธิภาพของฟิล์มไคโตซานให้ดีขึ้นโดยการเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารสกัดจากธรรมชาติ ตลอดจนการศึกษาพัฒนานำฟิล์มไคโตซานมาใช้ในรูปแบบของบรรจุภัณฑ์อาหารที่มีความหลากหลายมากขึ้น ย่อมทำให้มีการใช้งานในขอบเขตที่กว้างขวางขึ้น

โครงการวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายเพื่อพัฒนาบรรจุภัณฑ์แอคทีฟที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมจากกระดาษเคลือบไคโตซานเพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ไคโตซานถือเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล นิยมนำมาใช้กับอาหาร ไคโตซานสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม (film forming) ฟิล์มที่ได้จะมีลักษณะใส เหนียว และยืดหยุ่น สามารถใช้ห่อหุ้มอาหารได้ เนื่องจากไคโตซานเองก็สามารถบริโภคได้และมีเสถียรภาพที่ดีอุณหภูมิสูง (Wong *et al.*, 1992) โดยมีการศึกษาพบว่าฟิล์มไคโตซาน มีคุณสมบัติที่ดีในการป้องกันการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (Conca and Yang, 1993) นอกจากนี้ฟิล์มไคโตซานยังช่วยควบคุมปฏิกิริยาการแพร่ของยาและสารเคมีบางชนิด (Kaya and Picard, 1996)

ไคโตซาน ($C_6H_{11}NO_4$)_n เป็นพอลิเมอร์ของ D-glucosamine การเกิดไคโตซานขึ้นอยู่กับปริมาณการเกิด deacetylation ซึ่งวัดได้จากค่า degree of deacetylation คิดเป็นหน่วยร้อยละ หรือ percent of deacetylation (%DD) กล่าวคือ การลดหมู่ acetyl ($-COCH_3$) ในไคตินลง ผลที่ได้คือการเพิ่มหมู่ amine ($-NH_2$) ซึ่งเป็นการเพิ่มสมบัติการเป็น polycationic activity (Han *et al.*, 2004)

ไคโตซาน ได้รับการยอมรับจาก United states Food and Drug Administration (USFDA) ให้เติมในอาหารสัตว์ได้ เนื่องจากการศึกษาทางพิษวิทยาบ่งชี้ว่าไม่เป็นอันตราย และยังสามารถยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคราภายหลังการเก็บเกี่ยวอีกด้วย ปัจจุบันไคโตซาน สามารถพบได้ทั่วไปในรูปแบบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (Kester and Fennema, 1986) ปกติไคโตซานที่อยู่ในรูป free amine จะไม่ละลายน้ำ ตัวทำละลายที่มีฤทธิ์เป็นกลางและต่าง แต่ละลายได้ในกรดอินทรีย์เกือบทุกชนิดเมื่อสารละลายมี pH < 6 กรดอินทรีย์เจือจางบางชนิด เช่น กรดไนตริก กรดไฮโดรคลอริก กรดเปอร์คลอริก กรดไฮโดรเจนฟอสเฟต ที่ pH เป็นกรด free amine group จะถูก protonated ได้เป็น cationic amine group (Koide, 1998)

มีการใช้ไคติน-ไคโตซานเป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางและเภสัชกรรม นำมาใช้งานในส่วนองวัสดุทางการแพทย์ เช่น ใช้เป็นตัวช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้เป็นอาหารเสริม (nutritional additives) ในอาหารสำหรับการควบคุมน้ำหนัก (diet food) เนื่องจากไคโตซานไม่ให้พลังงานและไม่มีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย มีการใช้ในรูปแบบของวัตถุเจือปนในอาหารและเครื่องดื่มเพื่อช่วยจับไขมันและคอเลสเตอรอลให้ร่างกายได้รับน้อยลง ปัจจุบันไคโตซานได้รับการยอมรับให้ใช้ในการผสม

อาหารและยาในประเทศญี่ปุ่น ไคโตซานเป็น polysaccharide ที่มีประจุบวกและมีโมเลกุลใหญ่ ไม่มีรสชาติ สามารถนำมาผลิตเป็นฟิล์มหรือสารเคลือบบริโภคได้เนื่องจากสามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์ม และคุณสมบัติทางชีวเคมีของไคโตซาน (Coffey and Bell, 1995)

มีการศึกษาการใช้ไคโตซาน ในรูปของ food preservative (Shahidi *et al.*, 1999) และใช้เป็นฟิล์มถนอมอาหารอย่างกว้างขวางไคโตซานสามารถยับยั้งไม่เพียงแต่แบคทีเรีย Gram+ และ Gram- เท่านั้น แต่ยังสามารถยับยั้งยีสต์และราได้ด้วย (Pranoto *et al.*, 2005) ส่วนกลไกของการต่อต้านเชื้อของไคโตซานยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่มีผู้วิจัยได้อธิบายว่าขั้วบวกของ NH_3^+ ซึ่งอยู่ใน glucosamine monomer ที่ $\text{pH} < 6.3$ จะทำปฏิกิริยากับขั้วลบของเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อสูญเสียการทำงาน (Helander *et al.*, 2001)

ปัจจุบันมีการนำฟิล์มไคโตซานมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร และมีการพัฒนาเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารเพื่อรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บของอาหาร จากงานวิจัยที่ผ่านมาการใช้ไคโตซานในรูปแบบของฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ในการยืดอายุการผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปได้ดี แต่การใช้งานยังอยู่ในรูปแบบของฟิล์มและสารเคลือบเท่านั้น ดังนั้นหากมีการปรับปรุงประสิทธิภาพของฟิล์มไคโตซานให้ดีขึ้นโดยการเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารสกัดจากธรรมชาติ ตลอดจนการศึกษาพัฒนานำฟิล์มไคโตซานมาใช้ในรูปแบบของบรรจุภัณฑ์อาหารที่มีความหลากหลายมากขึ้น ย่อมทำให้มีการใช้งานในขอบเขตที่กว้างขวางขึ้น

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

1. รวบรวมข้อมูล ออกแบบการทดลองและเตรียมวัตถุดิบ
2. ศึกษาการเตรียมสารละลายไคโตซานที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายที่มีความเหมาะสมกับการใช้เป็นสารเคลือบ โดยเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมชนิดและปริมาณของสารพลาสติกไซเซอร์ที่เหมาะสม เตรียมสารละลายฟิล์มไคโตซาน โดยใช้ไคโตซาน (Seafresh Chitosan (LAB) Co., Ltd., Bangkok, Thailand) ที่มีค่า degree of deacetylation 87% การศึกษาการเตรียมฟิล์มไคโตซานที่เหมาะสม ทำโดยศึกษาชนิดของตัวทำละลาย ชนิดและความเข้มข้นของ plasticizer ที่เหมาะสมที่จะสามารถขึ้นรูปเป็นฟิล์มได้ดี จากผลการทดลองเบื้องต้น (preliminary test) ในการศึกษาชนิดของสารละลายกรด โดยเตรียมสารละลายฟิล์มที่มีความเข้มข้น 2% (w/v) โดยใช้สารละลาย acetic acid 1 % (v/v) และ lactic acid 1 % (v/v) เป็นตัวทำละลาย วัดคุณสมบัติของฟิล์ม ได้แก่ ความหนา, tensile strength (TS), elongation at break (%EAB) และ water vapor transmission rate (WVTR) พบว่า ฟิล์มไคโตซานที่เตรียมได้จากสารละลาย acetic acid และ lactic acid ให้ลักษณะปรากฏของฟิล์มที่คล้ายคลึงกัน และพบว่าการใช้ acetic acid เป็นตัวทำละลายให้ฟิล์มที่มีความหนา % EAB และ WVTR ไม่แตกต่างจากการใช้ lactic acid แต่ให้ค่า TS สูงกว่า ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ acetic acid เป็นตัวทำละลาย

ในการเตรียมฟิล์มบริโภคได้จากไคโตซาน เนื่องจากฟิล์มที่เตรียมได้มักเปราะและยืดหยุ่นต่ำ ลักษณะดังกล่าวสามารถปรับปรุงได้โดยการใช้ plasticizer เพื่อช่วยให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่น อย่างไรก็ตาม plasticizer มักส่งผลให้คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น tensile strength ค่า elongation at break และ สมบัติการป้องกันการซึมผ่านของก๊าซและไอน้ำ จึงต้องศึกษาปริมาณของ plasticizer ที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ฟิล์มเคลือบที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุด

การศึกษาการใช้ปริมาณของ plasticizer ที่เหมาะสมในการเตรียมฟิล์มเคลือบบริโภคได้จากไคโตซานโดยใช้ กลีเซอรอล (glycerol) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) เป็น plasticizer

เตรียมฟิล์มไคโตซานโดยใช้สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์ และใช้สารละลายกรดอะซิติก การศึกษาปริมาณ plasticizer ที่เหมาะสม ทำโดยแปรปริมาณของกลีเซอรอลเป็น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไคโตซาน คนให้ละลายด้วยเครื่อง water bath shaker incubator ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วกรอง ก่อนนำไป ขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยแล้วเทสารละลายไคโตซานปริมาตร 100 ml ลงบนภาชนะเรขาคณิตขนาด 12 x 29 cm ปล่อยให้แห้งที่อบด้วยตู้อบลมร้อน (Modell 600, Memmert GmbH + Co.KG, German) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำแผ่นฟิล์มที่ได้จากการขึ้นรูปไปเก็บไว้ในที่มีความชื้นสัมพัทธ์ (RH) 50 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มต่อไป โดยวัดสมบัติต่างๆ ของฟิล์มไคโตซานดังต่อไปนี้

ความหนา

วัดความหนาของแผ่นฟิล์มจากบริเวณที่แตกต่างกันหกจุด โดยใช้ digital micrometer (Mitutoyo Absolute, Tester Sangyo Co., Ltd., Tokyo, Japan)

Tensile strength (TS) และ elongation at break (% EAB)

ตัดฟิล์มให้มีขนาด 15 x 2.5 cm วัดด้วยเครื่อง Instron Universal Testing machine (Instron Corporation, Canton, MA, USA) ตามวิธีของ ASTM Standard Test Method D 882-91 (ASTM, 2003) แล้วคำนวณค่า tensile strength (MPa) และค่า % EAB โดยใช้ สมการที่ 1 และสมการที่ 2 ตามลำดับ ทำการทดลอง 9 ซ้ำ

$$\text{Tensile strength} = \frac{F}{A} \quad (1)$$

เมื่อ F = แรงสูงสุดที่ใช้ในการดึงแผ่นฟิล์มขาด (N) และ A = พื้นที่หน้าตัดของแผ่นฟิล์ม (m^2)

$$\text{Elongation at break} = \frac{\Delta l}{l_0} \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ l_0 = ความยาวเริ่มต้นของฟิล์ม และ $\Delta l = l - l_0$

ค่าการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor transmission rate, WVTR)

การวัดค่า WVTR ดัดแปลงจากวิธี ASTM (2003) โดยตัดฟิล์มแล้วหุ้มบริเวณปากขวดแก้วที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 cm และมี silica gel บรรจุอยู่ภายใน เก็บขวดตัวอย่างในตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ 75% ที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งน้ำหนักขวดตัวอย่างเป็นระยะ จนกระทั่งตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ (± 0.0001 g) จากนั้นคำนวณหาค่า WVTR ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) ของแผ่นฟิล์ม (สมการที่ 4) โดยคำนวณจากค่า slope ของกราฟระหว่างน้ำหนัก (g) ของตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น (Δw) ต่อพื้นที่ของแผ่นฟิล์ม (A) และเวลา (Δt) (Siripatrawan and Jantawat, 2008)

$$WVTR = \frac{\Delta w}{A \Delta t} \quad (3)$$

ค่า glass transition temperature (T_g)

วัดค่า glass transition temperature (T_g) ของฟิล์มไคโตซานโดยใช้ differential scanning calorimeter โดยดัดแปลงจากวิธีของ Quijada-Garrido *et al.* (2007) ตัดตัวอย่างของแผ่นฟิล์ม (15 mg approximately) ใช้ Alpha-alumina เป็น reference material วิเคราะห์โดยใช้ heating rate ที่ 5 °C/min แล้วรายงานค่า midpoint ของค่าความจุความร้อนของฟิล์ม

วัดค่า glass transition temperature (T_g) โดยใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) (DSC-50, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) ซึ่งตัวอย่างฟิล์มน้ำหนักประมาณ 5 mg ใส่ Aluminum volatile sample pan แล้วปิดผนึก pan ด้วยเครื่องปิดผนึกให้สนิท ใส่ pan ในช่อง sample และใส่ pan เปล่าที่ปิดผนึกสนิทในช่อง reference ของเครื่อง DSC ใช้ Alpha-alumina เป็น reference material อัตราการให้ความร้อนที่ 5 °C/min อัตราการไหลเวียนของก๊าซไนโตรเจนที่ 20 mL/min วัดค่า T_g ที่ midpoint อยู่ตรงกลางระหว่างจุด onset และ endset

3. ศึกษาความเข้มข้นและวิธีที่เหมาะสมในการเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในฟิล์มไคโตซาน

เตรียมสารละลายฟิล์มไคโตซานโดยใช้วิธีที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในข้อ 2 และเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยแปรความเข้มข้นที่ระดับแตกต่างกัน ขึ้นรูปเป็นฟิล์ม ทำให้แห้ง แล้วนำไปตรวจสอบสมบัติที่เกี่ยวข้องกับการนำไปใช้ของฟิล์มที่ได้

เตรียมสารละลายฟิล์มไคโตซานเข้มข้น 2% โดยละลายไคโตซาน (94% Degree of Deacetylated) ในกรดอะซิติกเข้มข้น 1% (v/v) และเติมปริมาณของ plasticizer ที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองข้อ 2 เตรียมสารละลายฟิล์มไคโตซานโดยใช้วิธีที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในข้อ 2 และเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในงานวิจัยนี้ใช้น้ำมันเปลือกอบเชย (essential cinnamon bark oil, CBO) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) โดยแปรระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 50, 100 และ 150 $\mu\text{L/g}$ ไคโตซาน คนให้ละลายด้วยเครื่อง water bath shaker incubator ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วกรอง ก่อนนำไป ขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยแล้วเทสารละลายไคโตซานปริมาตร 100 mL ลงบนถาดเซรามิกขนาด 12 x 29 cm ปลอ่ยให้แห้งที่อบด้วยตู้อบลมร้อน (Modell 600, Memmert GmbH + Co.KG, German) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำแผ่นฟิล์มที่ได้จากการขึ้นรูปไปเก็บไว้ในที่มีความชื้นสัมพัทธ์ (RH) 50 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มต่อไป โดยวัดสมบัติของแผ่นฟิล์ม

4. ศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยวัดคุณสมบัติทางกลของฟิล์ม ได้แก่ ความหนาโดยใช้เครื่อง digital micrometer ค่า tensile strength และค่า Elongation at break (%) โดยใช้เครื่อง Texture Analyzer (TA-XT 2i) ตามวิธีของ ASTM standard test method D882 (ASTM, 2001) อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor transmission rate, WVTR) ดัดแปลงจากวิธี ASTM E 96-95 (1995) ค่าสีโดยใช้เครื่อง Minolta Chroma Meter

5. ศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในการทดลองนี้ใช้สารสกัดจากน้ำมันเปลือกอบเชย (cinnamon bark oil, CBO) ได้แก่ ความหนาโดยใช้เครื่อง digital micrometer ค่า tensile strength และค่า Elongation at break (%) โดยใช้เครื่อง Texture Analyzer (TA-XT 2i) ตาม อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ทำเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2 การวัดค่าสีของแผ่นฟิล์ม วัดด้วยเครื่อง Chroma Meter (Model CR-300 Series, Minolta, Osaka, Japan) ระบบ CIELAB และบันทึกค่า L* value (lightness) a* value (redness) ค่า b* value (yellowness)

6. ศึกษา interaction ของหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การศึกษา interaction ของหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มไคโตซานที่ CBO ที่ความเข้มข้น 0 (control) และ 150 $\mu\text{L/g}$ ไคโตซาน วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) (Spectrum One, Perkin-Elmer, Waltham, USA) วัดค่าการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ความยาวคลื่น 400-4000 cm^{-1} วิเคราะห์ตัวอย่างโดยตั้งค่า resolution เท่ากับ 4.0 cm^{-1} และจำนวน scan 16 ครั้ง

7. ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

วิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) (Blois, 1958) โดยเตรียมโดยละลายฟิล์มตัวอย่าง 0.1g ในน้ำ 12ml นำสารสกัดฟิล์มที่ได้มา 2.8 ml ผสมกับสารละลาย 1 mM methanolic DPPH 0.2 ml และใช้น้ำกลั่น 2.8 ml ผสมกับสารละลาย 1 mM methanolic DPPH 0.2ml เป็น blank เก็บตัวอย่างในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Genesys 10 UV, Spectronic, UK) คำนวณค่า %DPPH radical-scavenging activity จากสมการ (4)

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{DPPH}} - \text{Abs}_{\text{film extract}}}{\text{Abs}_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (4)$$

8. การศึกษาเคลือบกระดาษด้วยไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชย

เตรียมสารละลายฟิล์มไคโตซานที่เติมความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่แปรรูปความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 50, 100 และ 150 $\mu\text{L/g}$ ไคโตซาน ซึ่งเตรียมโดยวิธีที่ได้จากการทดลองข้อต้นแล้วเคลือบกระดาษ (grease proof paper) ขนาดกระดาษมาตรฐาน A4 ซึ่งติดไว้บนเครื่อง K Control Coater (K202, R K Print-Coat Instruments Ltd., UK) หลังจากนั้น ใช้ K bar กลิ้งไปบนกระดาษให้สม่ำเสมอแล้วนำกระดาษที่ผ่านการเคลือบ ไปทำให้แห้งในตู้อบลมร้อน (Thermotec 2000, Contherm, New Zealand) อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำกระดาษเคลือบฟิล์มที่ได้ไปเก็บในตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ 50% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปวัดคุณสมบัติของแผ่นฟิล์ม

วัดคุณสมบัติทางกายภาพของฟิล์ม

- ความหนาโดยใช้เครื่อง digital micrometer วัดที่ตำแหน่งต่างกัน 5 ตำแหน่ง
- ค่า tensile strength และค่า Elongation at break (%) โดยใช้เครื่อง Instron® Universal materials testing machine

วัดอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor transmission rate, WVTR) ตัดแปลงจากวิธี ASTM E 96-95 (1995)

9. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของ plasticizer และความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เหมาะสมในการเติมลงในฟิล์มไคโตซาน ออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ผลการรวบรวมข้อมูล ออกแบบการทดลองและเตรียมวัตถุดิบ

สามารถรวบรวมข้อมูลที่เป็นจำเป็นในการพัฒนาฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางกายภาพ โดยคาดว่าจะเลือกสารออกฤทธิ์ทางกายภาพเป็นสารสกัดจากอบเชย เนื่องจากมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้

สำหรับการเติมเติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ใช้น้ำมันอบเชย (cinnamon oil) โดยแปรความเข้มข้นที่ระดับแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 50, 100 และ 150 $\mu\text{L/g}$ ไคโตซานคนให้ละลายด้วยเครื่อง water bath shaker ที่ความเร็ว 70 รอบต่อนาที อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 60 องศาเซลเซียส นำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม โดยเทสารละลายไคโตซาน ลงบนภาชนะระamikสำหรับขึ้นรูป ทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นำแผ่นฟิล์มที่ได้ไปเก็บในตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ (RH) 50% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปตรวจสอบสมบัติที่เกี่ยวข้องกับการนำไปใช้ของฟิล์มที่ได้

การศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยวัดคุณสมบัติทางกลของฟิล์ม ได้แก่ ความหนาโดยใช้เครื่อง digital micrometer ค่า tensile strength และค่า Elongation at break (%) อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ และค่าสีโดยใช้เครื่อง Minolta Chroma Meter

2. การเตรียมฟิล์มไคโตซานโดยศึกษาปริมาณพลาสติกไซเซอร์ที่เหมาะสม

สำหรับการเตรียมสารละลายฟิล์มไคโตซาน สามารถทำได้ในเบื้องต้นคือ เตรียมสารละลายไคโตซาน 1, 2 และ 3% ในสารละลายกรดอะซิติก พบว่าการเตรียมไคโตซานเข้มข้น 1 และ 2% สามารถขึ้นรูปฟิล์มได้ดี แต่ที่ 1% ฟิล์มบางและฉีกขาดได้ง่าย ส่วนการเตรียมที่ 3% ไคโตซานมีความข้นหนืดมากเกินไป จึงเตรียมไคโตซานที่ความเข้มข้น 2% ในกรดอะซิติกเข้มข้น 1% (v/v) และใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์

(a) ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมสารละลายฟิล์มไคโตซาน

จากผลการทดลองเบื้องต้น (preliminary test) ในการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ acetic acid 1 % และ lactic acid 1 % ในการเตรียมฟิล์มไคโตซาน พบว่าฟิล์มที่ได้มีความหนาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความสามารถในการละลายของไคโตซานสามารถละลายในกรดทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกัน

พบว่าค่า TS ของแผ่นฟิล์มที่ใช้ acetic acid เป็นตัวทำละลายจะมีค่า มากกว่าฟิล์มที่ใช้ lactic acid เป็นตัวทำละลายอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องจากโมเลกุลของ acetic acid เล็กกว่า lactic acid จึงทำให้ acetyl group สามารถเข้าไปแทรกอยู่ระหว่างโครงสร้างของไคโตซานพอลิเมอร์ ซึ่งความแข็งแรงของฟิล์มขึ้นอยู่กับการเกิด crystallinity ในโครงสร้างของฟิล์ม (Hernandez, Selke and Culter, 2000) ฟิล์มที่ใช้สารละลาย acetic acid ให้ฟิล์มที่มีค่า TS และ WVTR ต่ำกว่าการใช้กรดชนิดอื่นๆ เนื่องจากการใช้ acetic acid เกิดพันธะไฮโดรเจนอยู่ในโครงสร้างของไคโตซานได้ดี

และพบว่าค่า % EAB ของฟิล์มที่ได้จากตัวทำละลาย acetic acid มีค่าต่ำกว่าฟิล์มที่ผลิตได้จากตัวทำละลาย lactic acid แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ซึ่งผลของค่า % EAB มักมีทิศทางตรงข้ามกับค่า TS เนื่องจากเมื่อค่า TS สูงฟิล์มจะมีความแข็งแรง แต่ความยืดหยุ่นลดลง เมื่อพิจารณาค่า WVTR ของฟิล์มที่เตรียมจากตัวทำละลายต่างชนิดกัน พบว่า ฟิล์มที่เตรียมโดยใช้ acetic acid มีค่า WVTR ต่ำกว่าฟิล์มที่เตรียมโดยใช้ lactic acid แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) จึงสรุปได้ว่าการใช้ acetic acid เป็นตัวทำละลายให้ฟิล์มที่มีความหนา % EAB และ WVTR ไม่แตกต่างจากการใช้ lactic acid แต่ให้ค่า TS สูงกว่า จึงเลือกใช้ acetic acid เป็นตัวทำละลาย

(b) การศึกษาปริมาณพลาสติกไซเซอร์ที่เหมาะสม

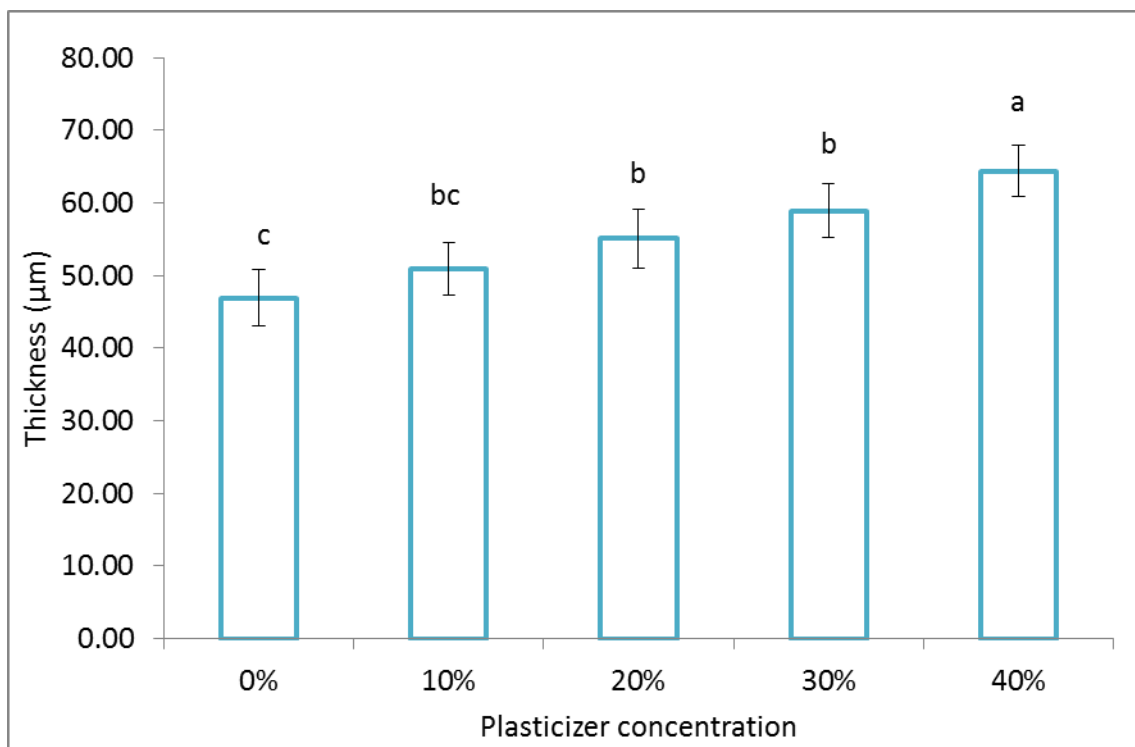
ผลของการใช้พลาสติกไซเซอร์โดยในงานวิจัยนี้ใช้กลีเซอรอลที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อสมบัติทางกลของฟิล์ม โดยแปรปรมาณของกลีเซอรอลเป็น 0, 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไคโตซาน แล้ววัดสมบัติของฟิล์มได้แก่ thickness, tensile strength และ elongation at break ผลการทดลองพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์ส่งผลให้ค่าความหนาเพิ่มขึ้น ค่า tensile strength ลดลง และค่า elongation at break เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่า thickness, tensile strength และ elongation at break

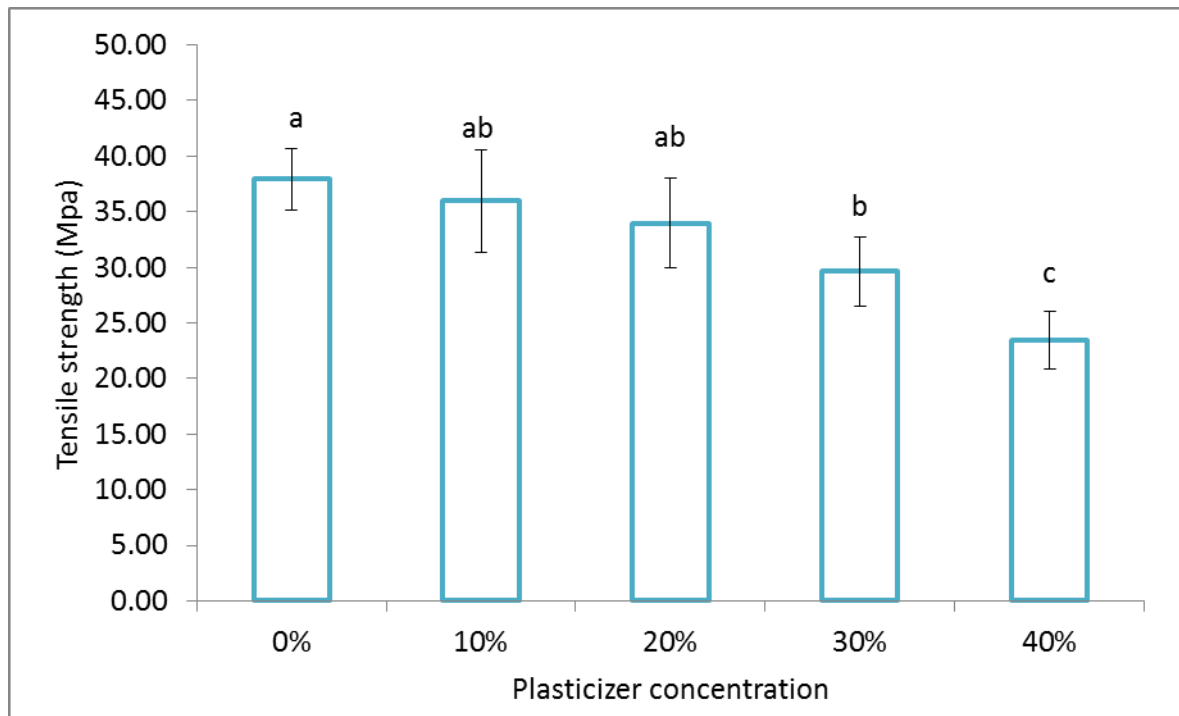
ค่าความหนาของฟิล์มไคโตซานเพิ่มขึ้น (รูปที่ 43) แต่ค่า tensile strength ลดลง (รูปที่ 44) เมื่อเติมพลาสติกไซเซอร์เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากการเติมพลาสติกไซเซอร์ซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดเล็ก สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนแทรกอยู่ภายในโครงสร้างของไคโตซาน ทำให้ลดการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่ของไคโตซานพอลิเมอร์ ส่งผลให้ intermolecular interaction ระหว่างสายโซ่ของไคโตซานพอลิเมอร์ลดลง และการจัดเรียงตัวอย่างมีระเบียบในโครงสร้างของไคโตซานลดลง ฟิล์มมีความหนาเพิ่มขึ้นและมีความหนาแน่นลดลง

โดยทั่วไปค่า tensile strength และ elongation at break มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกัน โดยเมื่อเติมพลาสติกไซเซอร์ทำให้ค่า tensile strength ลดลง ส่วนค่า elongation at break เพิ่มขึ้น เนื่องจากกลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็กและมีคุณสมบัติเป็น hydrophilic จึงสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนแทรกอยู่ภายในโครงสร้างของไคโตซาน ทำให้ลดการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่ของไคโตซานพอลิเมอร์ ฟิล์มจึงมีความยืดหยุ่นสูงขึ้น แต่ความแข็งแรงลดลง

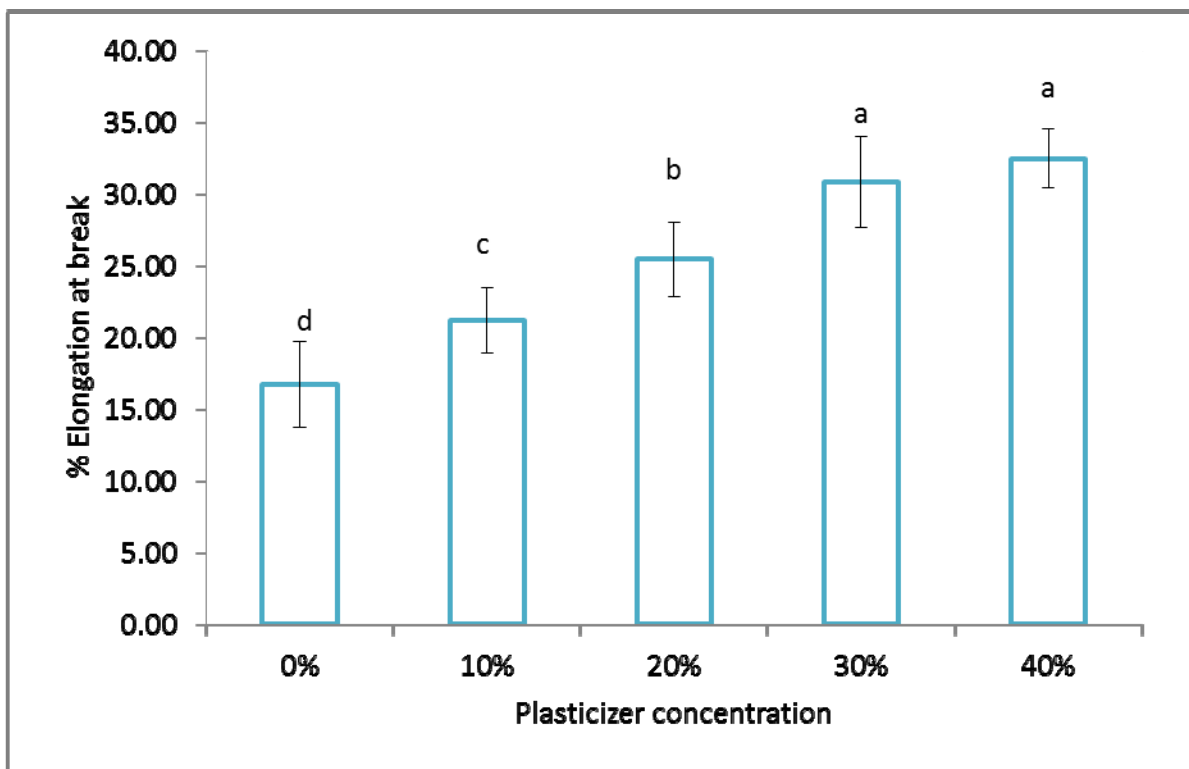
ค่า elongation at break (รูปที่ 45) เพิ่มขึ้นจาก 15.54 ± 2.48 เป็น 30.49 ± 2.10 % เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์จาก 0-40% อย่างไรก็ตามเมื่อเติมพลาสติกไซเซอร์เพิ่มเป็นมากกว่า 40 % ค่า elongation at break ลดลง อาจเนื่องจากความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์ในปริมาณสูงไปขัดขวางแรงระหว่างโมเลกุล (intermolecular and intramolecular interaction) ของโครงสร้างไคโตซาน ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Arvanitoyannis *et al.* (1998) ซึ่งพบว่าค่า elongation ของฟิล์มธรรมชาติมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพลาสติกไซเซอร์แต่ที่ความเข้มข้นสูงกว่าระดับที่เหมาะสมทำให้ค่า tensile strength และค่า modulus ลดลง การเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงกลของฟิล์มชีวภาพเนื่องจากการใช้ hydrophilic plasticizers ในลักษณะดังกล่าวพบได้ใน hydrocolloid-based films หลายๆ ชนิด (Caner *et al.*, 1998; Srinivasa *et al.*, 2007).



รูปที่ 43 ค่าความหนา ของฟิล์มไคโตซานที่เติมพลาสติกไซเซอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ
a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



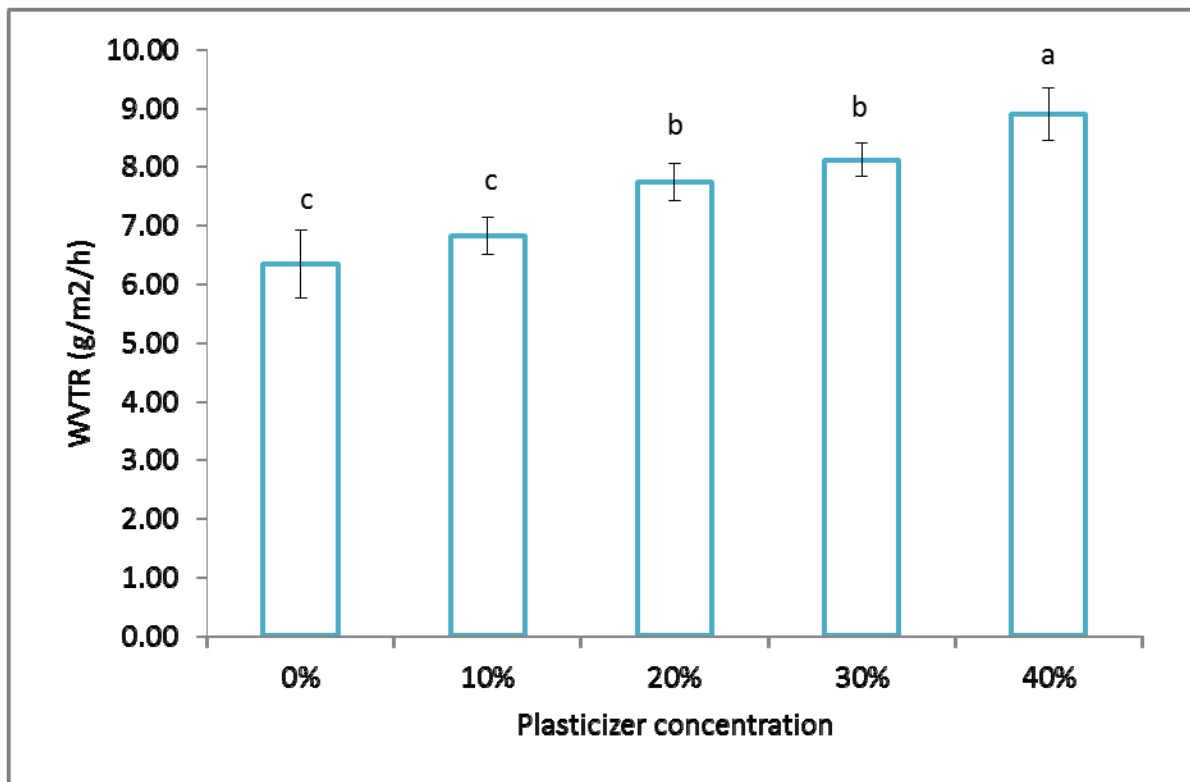
รูปที่ 44 Tensile strength ของฟิล์มไคโตซานที่เติมพลาสติกไซเซอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 45 ค่า Elongation at break ของฟิล์มไคโตซานที่เติมพลาสติกไซเซอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (WVTR)

จากการศึกษาผลของการเติมพลาสติกไซเซอรต์ต่อค่า WVTR ของฟิล์ม (รูปที่ 46) พบว่า ค่า WVTR ของฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) การใช้กลีเซอรอลเพิ่มจาก 0 เป็น 10 % w/w ไม่ส่งผลต่อค่า water vapor transmission rate อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณพลาสติกไซเซอรต์จาก 20% w/w ค่า WVTR ของฟิล์มเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสามารถอธิบายได้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไคโตซานเนื่องจากการใช้พลาสติกไซเซอรต์ซึ่งส่งผลให้ free volume ในโครงสร้างของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ความหนาแน่นลดลง ก๊าซและไอน้ำจึงเกิดการซึมผ่านได้ง่ายขึ้น ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Srinivasa *et al.* (2007) ซึ่งพบว่าการใช้ hydrophilic plasticizers ทำให้ค่า water vapor permeability ของ hydrocolloid-based films ลดลง



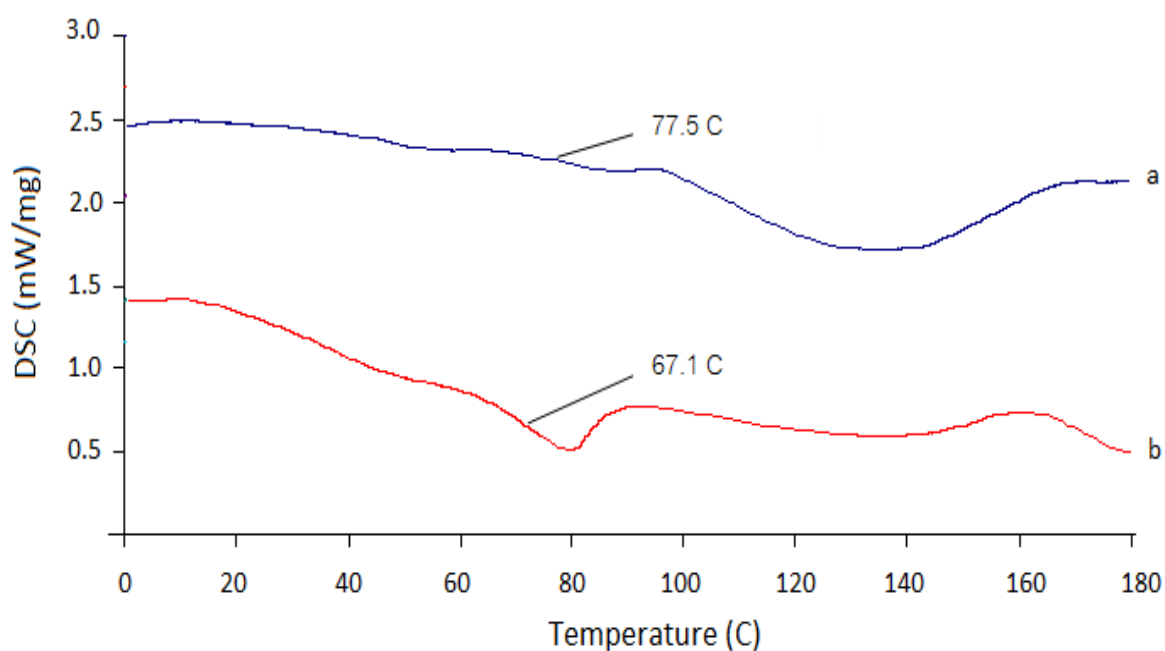
รูปที่ 46 ค่า WVTR ของฟิล์มไคโตซานที่เติมพลาสติกไซเซอรต์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ
a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่า TS, % EAB และ WVTR พบว่าการใช้พลาสติกไซเซอรต์ที่ 30% เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากฟิล์มมีค่า % EAB สูงขึ้น โดยไม่ส่งผลต่อค่า TS และค่า WVTR ของการใช้พลาสติกไซเซอรต์ที่ 20% ฟิล์มที่ได้จึงมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นในขณะที่ความแข็งแรงและคุณสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำไม่เปลี่ยนแปลง

ค่า glass transition temperature (T_g)

การวัดค่า T_g ทำโดยใช้เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) ค่า T_g เป็นอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยน glass transition ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับฟิล์ม โดยไม่เปลี่ยนสถานะ เมื่ออุณหภูมิห้องต่ำกว่าค่า T_g ฟิล์มจะมีลักษณะเป็นของแข็งโดยมีสถานะเป็น glassy state ฟิล์มจะมีลักษณะที่ค่อนข้างแข็งแต่เปราะ และเมื่ออุณหภูมิห้องสูงกว่าค่า T_g ฟิล์มจะมีสถานะเป็น rubbery state

จากผลทดลองการเติมพลาสติกไซเซอร์มีผลทำให้ค่า T_g ของฟิล์มไคโตซานลดลง ดังแสดงใน รูปที่ 47 ค่าของฟิล์มลดลงจาก 77.5 °C เป็น 67.1 °C เมื่อเติมกลีเซอรอล 30% อาจเนื่องจากกลีเซอรอลมีสมบัติเป็น hydrophilic และมีโมเลกุลขนาดเล็ก สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนแทรกอยู่ภายในโครงสร้างของไคโตซาน ทำให้ลดการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่ของไคโตซานพอลิเมอร์ ส่งผลให้ intermolecular interaction ระหว่างสายโซ่ของไคโตซานพอลิเมอร์ลดลง และการจัดเรียงตัวอย่างมีระเบียบในโครงสร้างของไคโตซานลดลง ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาสมบัติทางกลของฟิล์ม ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าฟิล์มที่เติมพลาสติกไซเซอร์ทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรง (tensile strength) ลดลง แต่มีความยืดหยุ่น (%EAB) สูงขึ้น



รูปที่ 47 DSC thermograms แสดงค่า T_g ของฟิล์มไคโตซาน

3. การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมาะสม

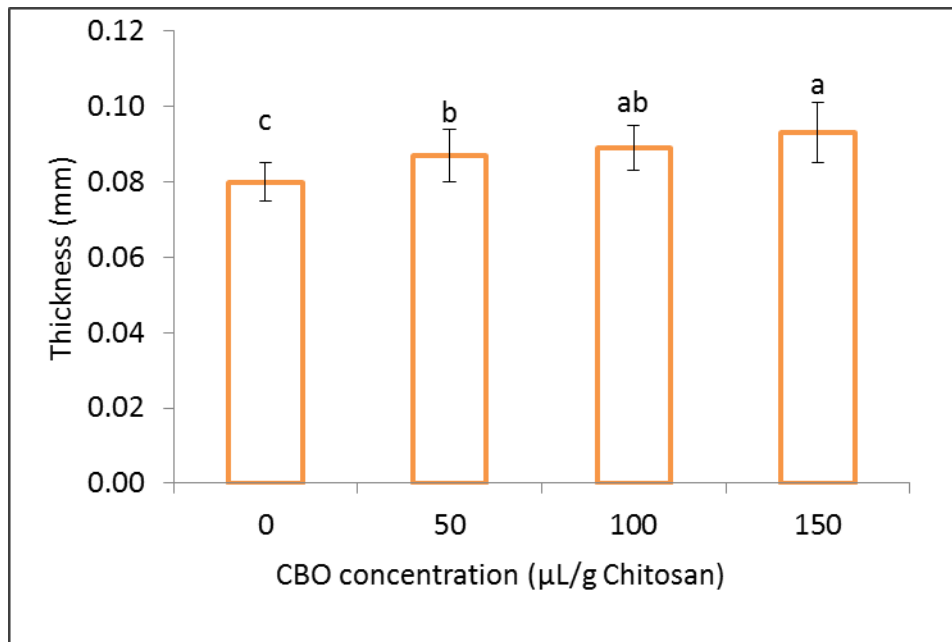
การศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในงานวิจัยนี้เลือกใช้น้ำมันอบเชย (cinnamon bark oil, CBO) โดยแปรความเข้มข้นที่ระดับแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 50, 100 และ 150 $\mu\text{L/g}$ ไคโตซาน จากผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าการใช้น้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้นสูงกว่า 150 $\mu\text{L/g}$ ทำให้การขึ้นรูปฟิล์มทำได้ยากเนื่องจากฟิล์มแตกได้ง่ายและยากต่อการลอกฟิล์มออกจากแม่พิมพ์ การเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมพิจารณาจากคุณสมบัติของฟิล์ม ได้แก่ ความหนา, tensile strength, %Elongation at break, อัตราการซึมผ่านของไอน้ำและค่าสี ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

ความหนา tensile strength และ %Elongation at break

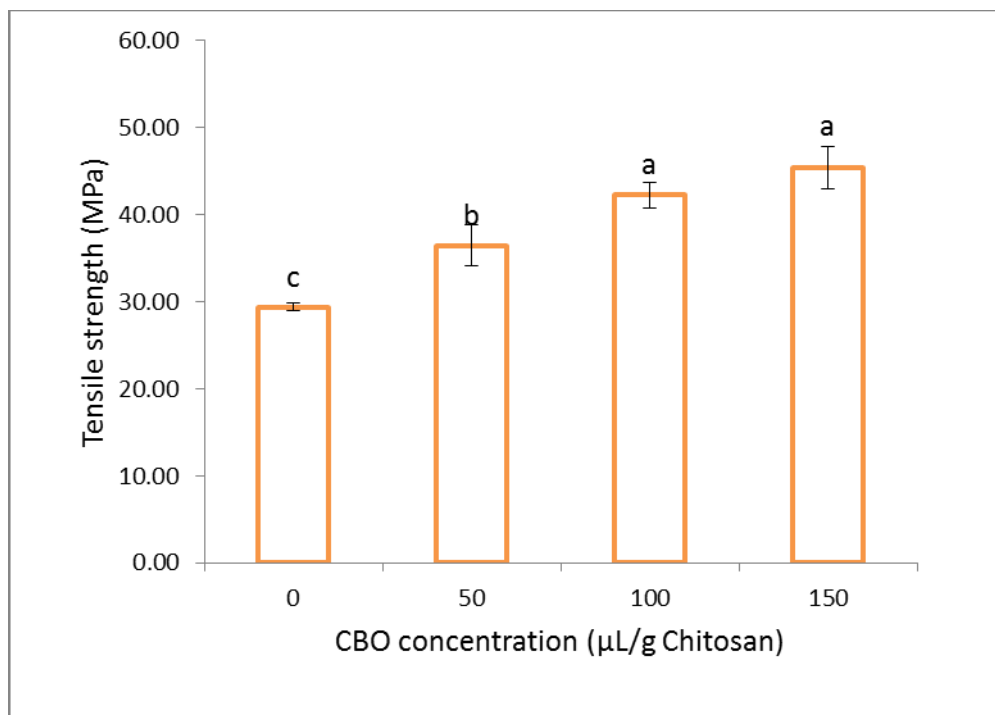
จากผลการทดลองในรูปที่ 48, 49 และ 50 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์มไคโตซานทำให้ความหนาและค่า tensile strength ของฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ค่า % Elongation at break ของฟิล์มลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จากผลการวัดค่า TS ของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดจากน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 150 $\mu\text{L/g}$ มีค่า TS สูงที่สุด และฟิล์มไคโตซานที่ไม่เติมสารสกัดจากน้ำมันเปลือกอบเชยมีค่า TS ต่ำที่สุด จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่า TS แปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์มไคโตซานคือ เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยสูงขึ้น ส่งผลให้ค่า TS สูงขึ้นด้วย การที่ค่า TS ของฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยสูงขึ้น อาจเนื่องจากการเกิด interaction ภายในโมเลกุลระหว่างไคโตซานและสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกอบเชย หรืออาจกล่าวได้ว่าการเติมสารสกัดจากเปลือกอบเชยลงในฟิล์มไคโตซาน มีผลทำให้ฟิล์มไคโตซานมีสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้น โดยฟิล์มจะมีลักษณะที่มีความต้านแรงดึงที่สูงขึ้น และมีความยืดหยุ่นมากขึ้น ทำให้ง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการห่อผลิตภัณฑ์อาหาร

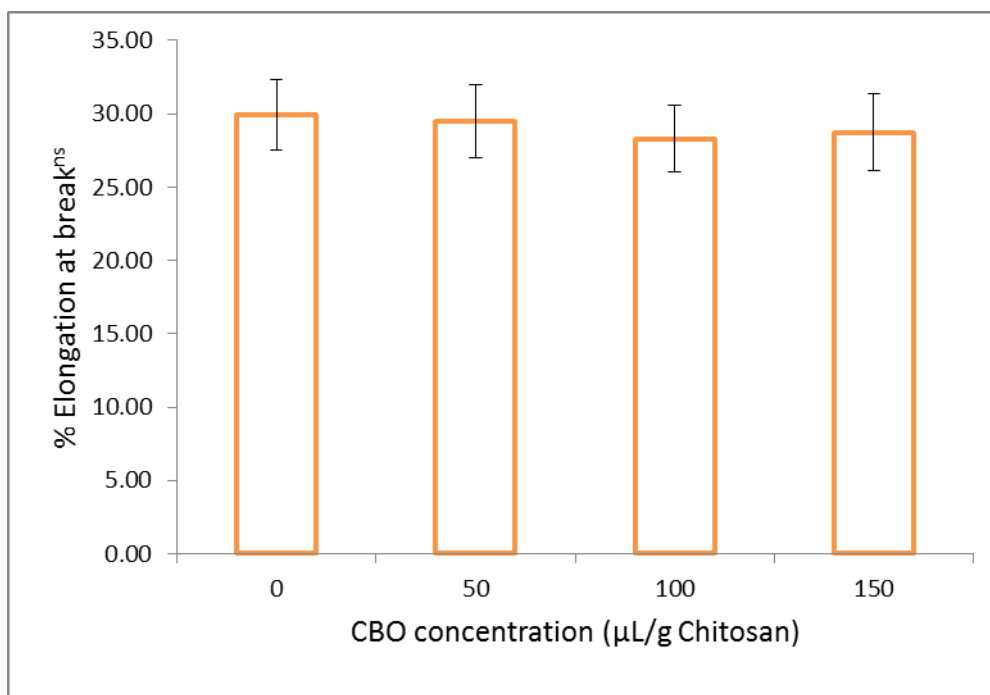
อย่างไรก็ตามการเติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 50-150 $\mu\text{L/g}$ ไม่ส่งผลต่อค่า %EAB ของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) อาจเนื่องจากการเกิดพันธะภายในโครงสร้างฟิล์มในปริมาณที่สูงขึ้น ส่งผลให้ฟิล์มมีลักษณะที่แข็งแรงขึ้นแต่ไม่ทำให้มีความยืดหยุ่นของฟิล์มเปลี่ยนแปลง จากการศึกษา Pranoto, Rakshit and Salokhe (2005) ศึกษาค่า TS และ %EAB ของฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันกระเทียมที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าการเติมน้ำมันกระเทียมที่ความเข้มข้นสูงขึ้นให้ค่า TS และ %EAB ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มไคโตซานที่ไม่เติมน้ำมันกระเทียม การศึกษาของ Zivanovic, Chi and Draughon (2005) ศึกษาค่า TS และ %EAB ของฟิล์มไคโตซานที่เติม oregano oil พบว่าการเติม oregano oil ลงในฟิล์มไคโตซานที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ส่งผลให้ค่า TS ลดลง และค่า % EAB สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มไคโตซานที่ไม่เติม oregano oil ทั้งนี้ผู้วิจัยได้อธิบายไว้ว่า ค่า TS และ % EAB อาจขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของโครงสร้างของฟิล์ม อาทิเช่น ประเภทของกรดที่ใช้ หรือสารสกัดที่เติมลงในฟิล์ม เป็นต้น ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า TS และ % EAB ของฟิล์ม



รูปที่ 48 ความหนาของฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



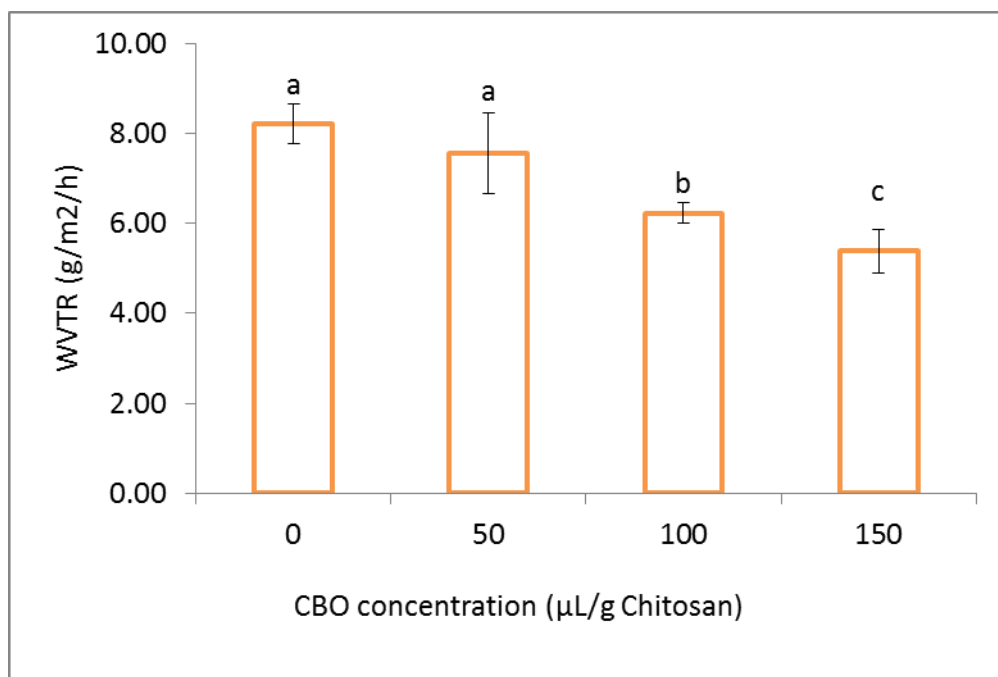
รูปที่ 49 ค่า Tensile strength ของฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 50 ค่า Elongation at break ของฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ns หมายถึง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (WVTR)

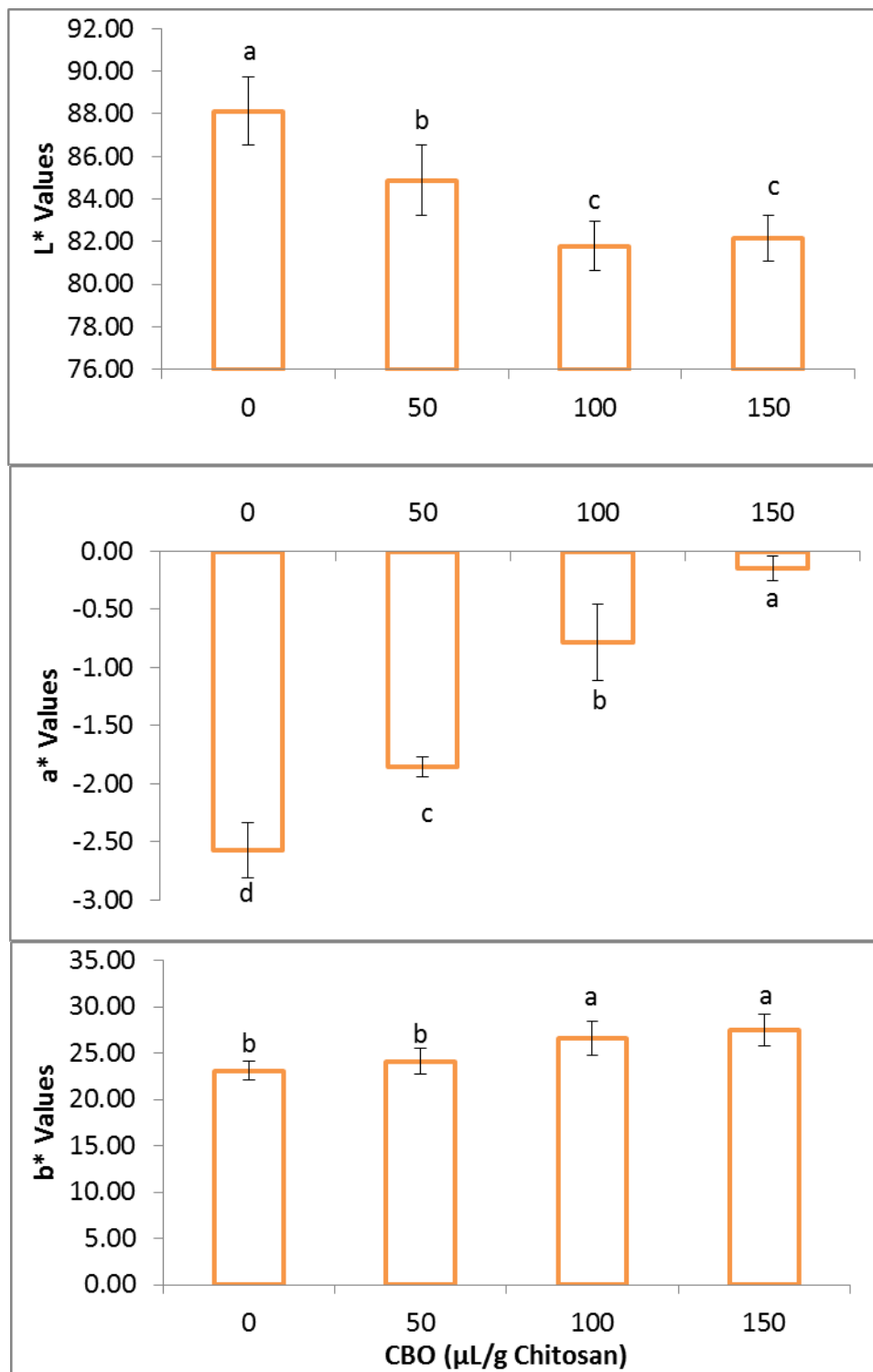
จากผลการทดลองในรูปที่ 51 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์มไคโตซาน ทำให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำลดลงโดยเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) เมื่อน้ำมันอบเชยที่เติมลงในฟิล์มมีความเข้มข้น 100 μL/g ทั้งนี้อาจเนื่องจากการสารประกอบที่อยู่ในน้ำมันเปลือกอบเชย ซึ่งได้แก่ cinnamaldehyde และสารประกอบฟีนอลิกต่างๆ อาจเกิดพันธะกับ hydroxyl และ amine groups ของฟิล์มไคโตซาน ทำให้ functional groups ในฟิล์มที่สามารถเกิด hydrogen bond กับโมเลกุลของไอน้ำลดลง นอกจากนี้ จากงานวิจัยของของ Pranoto *et al.* (2005) และ Moradi *et al.* (2012) ซึ่งเติมน้ำมันหอมระเหยลงในฟิล์มธรรมชาติ ได้ระบุไว้ว่า การเติมสารไม่มีขั้ว เช่น น้ำมันหอมระเหยลงในฟิล์ม จะทำให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มมีค่าลดลง ทั้งนี้เป็นเพราะการถ่ายเทมวลไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์มจะขึ้นอยู่กับสัดส่วนขององค์ประกอบที่มีขั้วและไม่มีขั้วในฟิล์มเนื่องจากไอน้ำจะเกิดการถ่ายเทผ่านองค์ประกอบที่มีขั้วของแผ่นฟิล์มเท่านั้น(Hernandez, 1994) ดังนั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์มไคโตซาน จึงเป็นการลดสัดส่วนขององค์ประกอบที่มีขั้วของฟิล์ม ไอน้ำจะถูกถ่ายเทผ่านแผ่นฟิล์มได้ลดลง อัตราการซึมผ่านของไอน้ำจึงมีค่าลดลงด้วยเช่นกัน



รูปที่ 51 อัตราการซึมผ่านของฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

สีของแผ่นฟิล์ม

สีของฟิล์มไคโตซานที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการเติมน้ำมันเปลือกอบเชย แสดงดังรูปที่ 52 พบว่าการเติมน้ำมันเปลือกอบเชยทำให้ฟิล์มไคโตซานมีความสว่าง (L^*) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตามความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในสารละลายฟิล์ม นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมน้ำมันเปลือกอบเชยในฟิล์มไคโตซานทำให้ค่า a^* และ b^* เพิ่มขึ้น ซึ่งค่า b^* จะแสดงการค่าสีจากสีน้ำเงินไปจนถึงสีเหลืองเมื่อ b^* มีค่าเพิ่มขึ้น แสดงว่าฟิล์มมีสีเหลืองขึ้น โดยเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์มมีความเข้มข้น 100 µL/g จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเติมน้ำมันเปลือกอบเชยลงในฟิล์มไคโตซานจะทำให้ฟิล์มมีความสว่างลดลงและมีสีเหลืองมากขึ้น ซึ่งสีที่เปลี่ยนแปลงไปนั้นมีสาเหตุมาจากสีเหลืองของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์มไคโตซาน



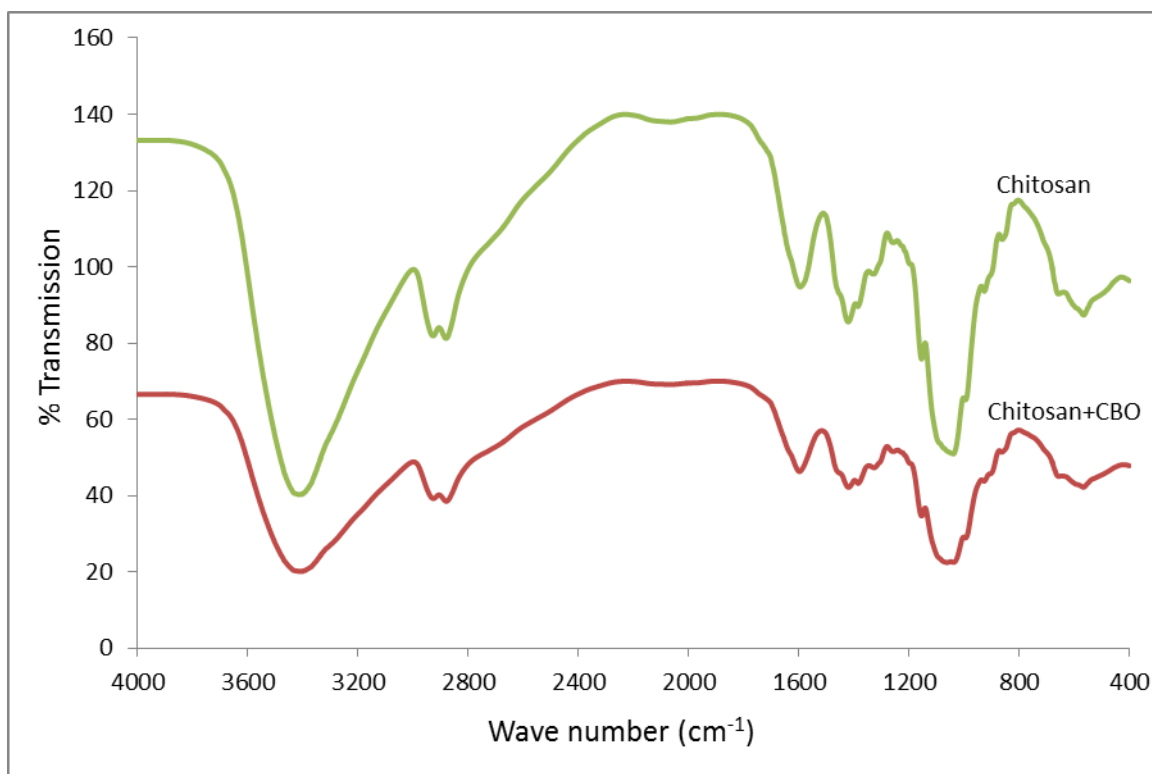
รูปที่ 52 ค่า L^* , a^* , b^* ของฟิล์มไคโตซานที่เติม CBO ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ
a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4. Interaction ของหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การศึกษา interaction ของหมู่ฟังก์ชันของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารจากน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 150 $\mu\text{L/g}$ ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 53 จากผลการทดลองพบว่าฟิล์มมี FT-IR spectrum ที่คล้ายคลึงกันโดยพบหมู่ hydroxyl group (-OH) (Kim *et al.*, 2006) N-H stretching ดูดกลืนคลื่นอินฟราเรดที่ 3500-3300 cm^{-1} (Nunthanids *et al.*, 2001), C-H stretching ซึ่งดูดกลืนคลื่นอินฟราเรดที่ 3000-2850 cm^{-1} ester และ ether (C-O) ซึ่งดูดกลืนคลื่นอินฟราเรดที่ 1280-1000 cm^{-1}

นอกจากนี้ยังพบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชย มีการเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนคลื่นอินฟราเรดที่ 3400-3200 cm^{-1} ดูดกลืนคลื่นที่อินฟราเรดที่ 1280-1000 cm^{-1} เนื่องจากการเกิด interaction ระหว่าง amine group และ hydroxyl group ของไคโตซาน กับสารประกอบจากน้ำมันเปลือกอบเชยซึ่งมี cinnamaldehyde ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก และพบการเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนคลื่นที่อินฟราเรดที่ 1280-1000 cm^{-1}

ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาสมบัติเชิงกลของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารสกัดจากน้ำมันเปลือกอบเชย โดยพบว่าเมื่อเติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้นสูงขึ้นลงในฟิล์มไคโตซาน มีผลทำให้ค่า TS ของฟิล์มไคโตซานสูงขึ้น และค่า WVTR ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารประกอบ cinnamaldehyde ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ ที่มีอยู่ในน้ำมันเปลือกอบเชย สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่ฟังก์ชันที่อยู่ในโครงสร้างของไคโตซานพอลิเมอร์ได้ ทำให้หมู่ฟังก์ชันของไคโตซานที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำได้มีปริมาณลดลง (Balasundram, Sundram and Samman, 2006) ทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงขึ้นและสมบัติความชอบน้ำ (hydrophilicity) ของฟิล์มลดลงฟิล์มจึงสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Siripatrawan and Harte (2010) ซึ่งศึกษา interaction ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับไคโตซาน โดยใช้ FT-IR และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ NH_3^+ ในโครงสร้างของฟิล์มไคโตซาน และส่งผลให้ค่า TS ของฟิล์มสูงขึ้น ดังนั้นการเติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้นลงในฟิล์มไคโตซานทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงขึ้น และส่งผลให้เกิดพันธะไฮโดรเจนกับโครงสร้างของไคโตซานพอลิเมอร์เพิ่มมากขึ้น

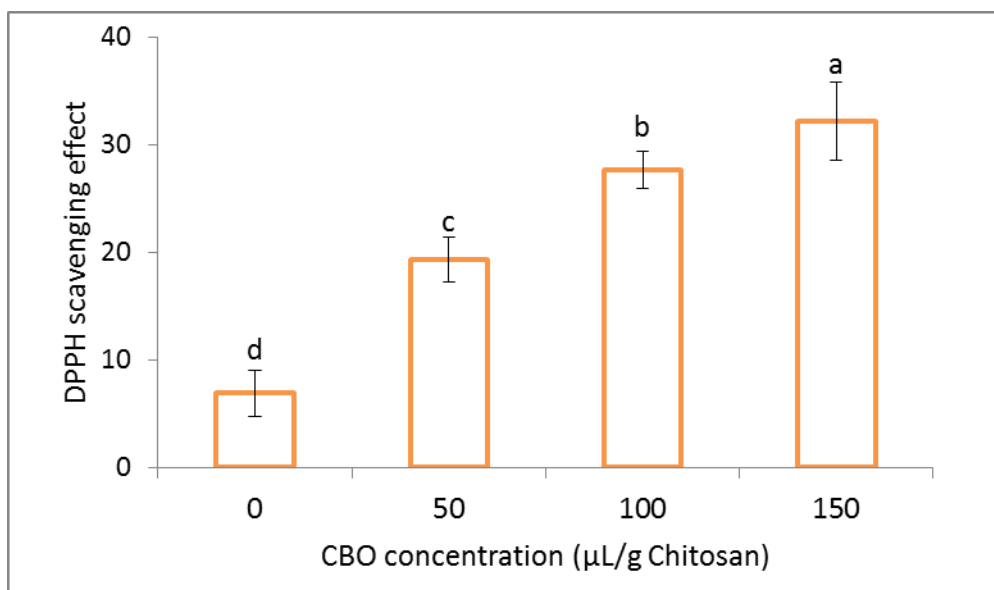


รูปที่ 53 FT-IR spectra ของไคโตซานฟิล์ม และฟิล์มที่เติม CBO 150 $\mu\text{L/g}$

5. สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของฟิล์มไคโตซานที่เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้นซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระการวิเคราะห์สมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นวิธีที่ใช้วัดความสามารถของสารทดสอบในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (Blois, 1958) รายงานผลเป็น % scavenging effect

จากผลการทดลองในรูปที่ 54 พบว่า ฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชย 150 $\mu\text{L/g}$ Chitosan มี % DPPH scavenging effect เท่ากับ $32.2 \pm 3.67\%$ ซึ่งสูงกว่าฟิล์มไคโตซานที่มีค่าเท่ากับ $6.9 \pm 2.72\%$ ที่เป็นเช่นนี้ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยจากอบเชยมีสารซินนามาลดีไฮด์ หรือ 3-phenyl-2-propenal เป็นองค์ประกอบหลัก (Ojagh et al., 2010; Senanayak and Wijesekera, 2004) และยังประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกจำนวนมากที่มีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่น hydroxycinnamaldehyde, hydroxycinnamic acid (Pellegrino, and Tomarino, 1998) เมื่อเติมลงในฟิล์มไคโตซานจึงทำให้ฟิล์มมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น



รูปที่ 54 DPPH scavenging effect ของสารละลายฟิล์มไคโตซานที่เติม CBO a, b,... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

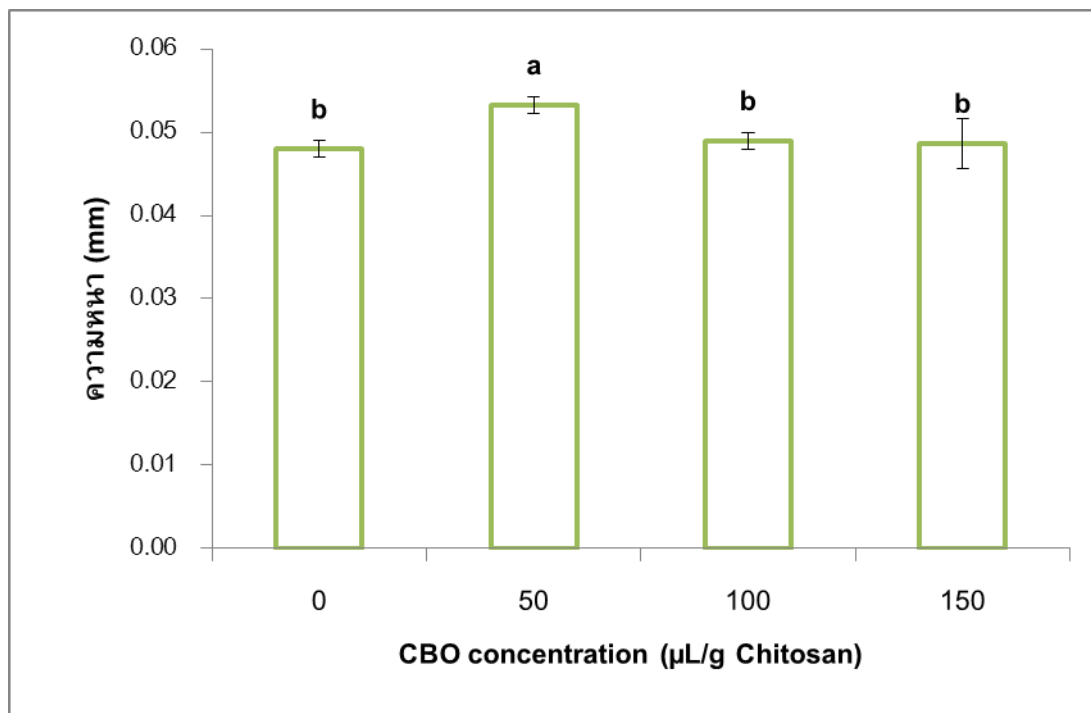
6 กระดาษเคลือบด้วยไคโตซานที่มีความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยต่างกัน

6.1 คุณสมบัติทางกล

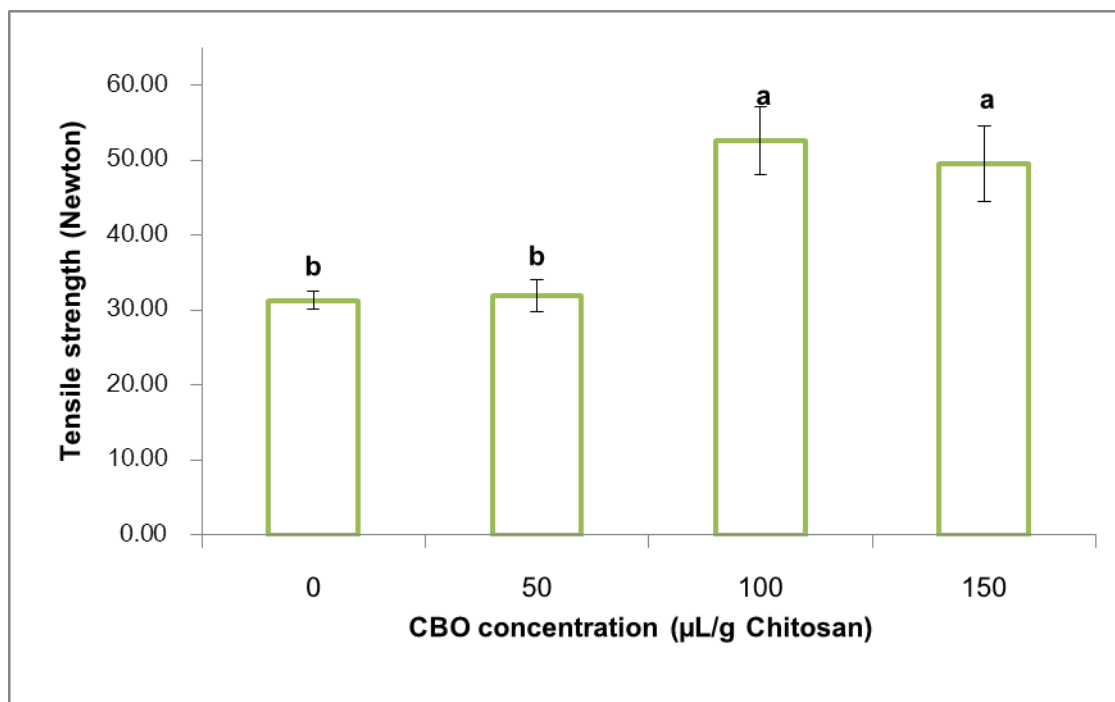
วัดคุณสมบัติของกระดาษเคลือบฟิล์ม ได้แก่ ความหนา, tensile strength, %Elongation at break และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ของกระดาษที่ผ่านการเคลือบด้วยไคโตซานที่มีเติมน้ำมันเปลือกอบเชย โดยแปรระดับความเข้มข้นเป็น 4 ระดับ คือ 0, 50, 100 และ 150 µL/g ไคโตซาน แสดงในรูปที่ 55-57 ตามลำดับ

จากผลการทดลองในรูปที่ 55-57 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 0 และ 50 µL/g ไคโตซาน ที่เติมลงในฟิล์มไคโตซานซึ่งเคลือบบนกระดาษกราฟ ทำให้ความหนาและค่า tensile strength ของกระดาษเคลือบฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) ในขณะที่ค่า %Elongation at break ของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาที่น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 100 µL/g ไคโตซาน พบว่า ค่าความหนาลดลงเมื่อเทียบกับความเข้มข้น 50 µL/g ไคโตซาน โดยมีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ค่า tensile strength ของกระดาษเคลือบฟิล์มที่เติมน้ำมันหอมระเหย 100 µL/g ไคโตซาน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) ในขณะที่ค่า %Elongation at break ของฟิล์มนั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

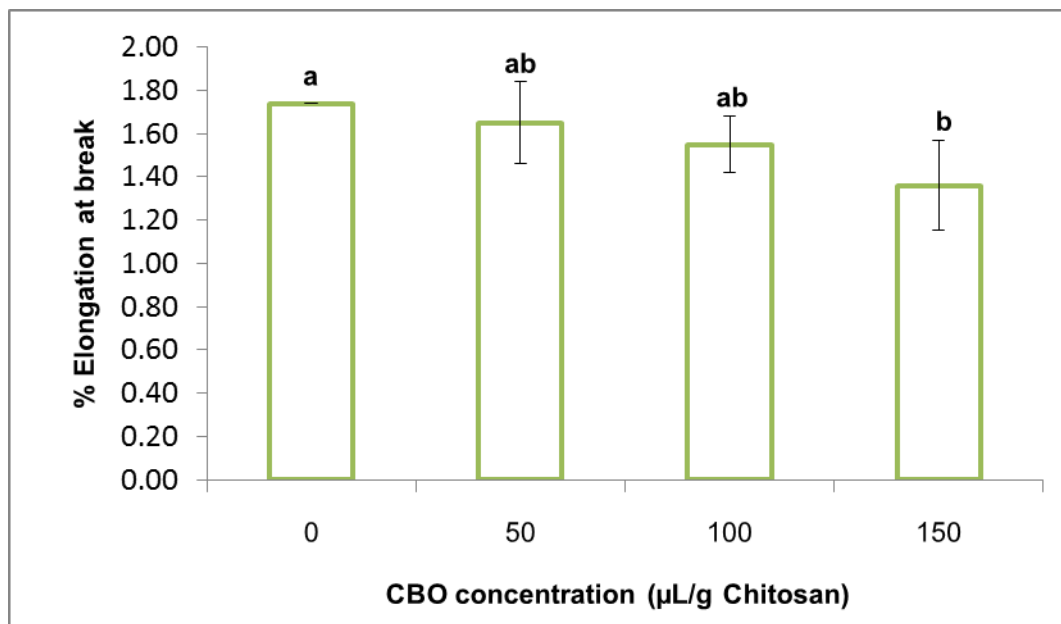
ค่า tensile strength และ %Elongation at break เป็นค่าที่แสดงถึงคุณสมบัติทางกลของฟิล์ม โดยทั่วไป ค่า tensile strength และ %Elongation at break มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกัน โดยผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 0 – 100 µL/g ไคโตซาน ซึ่งเติมลงในฟิล์มไคโตซานที่เคลือบกระดาษกราฟเพิ่มขึ้น จะทำให้ฟิล์มมีความแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งคุณสมบัติทางกลของกระดาษเคลือบฟิล์มที่เปลี่ยนแปลงไปนั้น อาจเนื่องมาจากแรงปฏิกิริยาระหว่างหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลของไคโตซานและสารประกอบในน้ำมันเปลือกอบเชย



รูปที่ 55 ความหนาของกระดาษเคลือบฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 56 ค่า Tensile strength ของกระดาษเคลือบฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

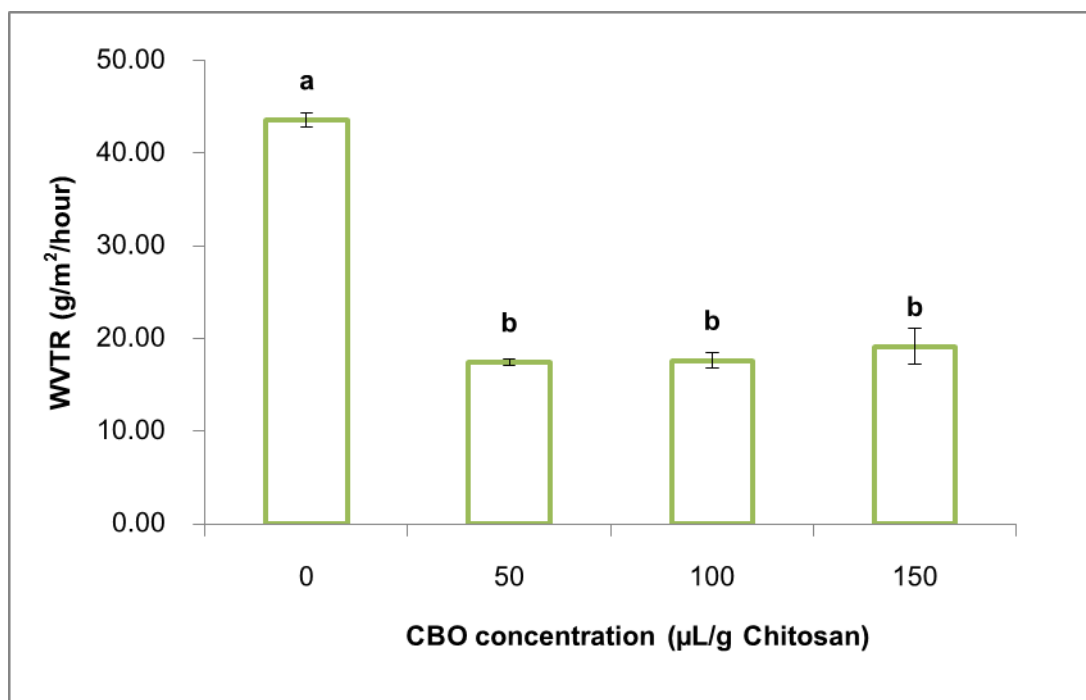


รูปที่ 57 ค่า Elongation at break ของกระดาษเคลือบฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

6.2 อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (WVTR)

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับต่างๆต่อค่า WVTR ของกระดาษเคลือบฟิล์ม แสดงในรูปที่ 58 พบว่า ค่า WVTR ของกระดาษเคลือบไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้นต่างๆเพิ่มขึ้น แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 50 μL/g ไคโตซาน เทียบกับการไม่เติมน้ำมันเปลือกอบเชย พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสามารถอธิบายได้ เนื่องจากการเติมน้ำมันเปลือกอบเชยซึ่งเป็นสารละลายไม่มีขั้วลงในฟิล์มไคโตซาน ส่งผลให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มมีค่าลดลง อันเนื่องมาจากการถ่ายเทมวลไอน้ำผ่านแผ่นฟิล์มจะขึ้นอยู่กับสัดส่วนขององค์ประกอบที่มีขั้วและไม่มีขั้วของฟิล์ม ไอน้ำจะถูกถ่ายเทผ่านแผ่นฟิล์มลดลง ซึ่งมีผลให้อัตราการซึมผ่านของไอน้ำลดลงด้วย

Sanchez-Gonzalez *et al.* (2010) ได้ศึกษาการเตรียมฟิล์มไคโตซานผสมน้ำมันมะกรูด พบว่าฟิล์มไคโตซานที่ผสมน้ำมันมะกรูดความเข้มข้น 0.5 %, 1%, 2% และ 3% w/w มีค่า Tensile Strength, Elongation และ WVTR ที่ลดต่ำลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มไคโตซานที่ไม่ได้เติมน้ำมันมะกรูด เนื่องจากน้ำมันมะกรูดจะไปเปลี่ยนการดึงดูดระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ ทำให้ความแข็งแรงของฟิล์มลดลง อีกทั้งสภาพไม่มีขั้วของน้ำมันมะกรูดมีทำให้การซึมผ่านไอน้ำของฟิล์มลดลง



รูปที่ 58 อัตราการซึมผ่านไอน้ำของกระดาษเคลือบฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การเติมน้ำมันเปลือกอบเชยลงในฟิล์มไคโตซานจะทำให้คุณสมบัติทางกลของฟิล์มดีขึ้น คือมีความแข็งแรงมากขึ้น และสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น โดยคุณสมบัติดังกล่าวขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์ม และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในฟิล์มไคโตซานคือ 150 µL/g chitosan เนื่องจากฟิล์มที่ได้ มีค่า tensile strength สูงขึ้น ค่า WTR ลดลง และมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ สูงกว่าฟิล์มไคโตซาน

การศึกษาเคลือบกระดาษด้วยไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อพิจารณาค่า Tensile strength และ %Elongation at break ซึ่งบ่งบอกความแข็งแรงของกระดาษเคลือบฟิล์ม พบว่าค่าดังกล่าวมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์มที่เคลือบบนกระดาษ ส่วนค่า WTR มีค่าลดลง นั่นคือกระดาษเคลือบฟิล์มที่มีความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยเพิ่มขึ้น สามารถกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีขึ้น ทั้งนี้การเติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 150 µL/g ไคโตซาน และ 150 µL/g ไคโตซาน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อพิจารณาร่วมกันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเปลือกอบเชยเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดเมื่อเติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 150 µL/g ไคโตซาน ในขั้นตอนนี้สามารถสรุปได้ว่า กระดาษเคลือบฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 150 µL/g ไคโตซาน เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด

ทั้งนี้ทั้งฟิล์มไคโตซานที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยและกระดาษที่เคลือบด้วยฟิล์มที่เติมน้ำมันเปลือกอบเชยมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นบรรจุภัณฑ์แอคทีฟสำหรับอาหาร เนื่องจากทั้งฟิล์มไคโตซาน และกระดาษเคลือบฟิล์มไคโตซานมีสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสมกับการใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ กระดาษเคลือบด้วยฟิล์มไคโตซานช่วยให้มีรูปแบบของการนำไปใช้ที่หลากหลายมากขึ้น อีกทั้งสมบัติของน้ำมันเปลือกอบเชยที่เติมลงในฟิล์มไคโตซานมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระส่งผลให้ช่วยรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บอาหารได้

บรรณานุกรม

- Arvanitoyannis, I. and Biliaderis, C.G. 1998. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. Food Chemistry 62: 333-342.
- ASTM. (2003). *Annual Book of ASTM Standards*. Pennsylvania: American Society for Testing and Materials.
- Balasundram, N., Sundarm, K., and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, potential uses. Food Chemistry 99: 191-203.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 181, 1199-1200.
- Butler, B.L., Vergano, P.J., Testin, R.F., Bunn, J.M., and Wiles, J.L. 1996. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. Journal of Food Science 61: 953 - 955.
- Caner, C., and Cansiz, O., (2008). Chitosan coating minimises eggshell breakage and improves egg quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88, 56-61.
- Caner, C., Vergano, P. J., and Wiles, J. L. 1998. Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. Journal of Food Science. 63: 1049-1053.
- Conca, K.R., and Yang, T.C.S. 1993. Edible food barrier coatings. In C. Ching, D. Kaplan, and E. Thomas (eds.), Biodegradable Polymers and Packaging, pp. 357 - 369. Lancaster, PA: Technomic Publishing.
- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S.W. and Traber, M.G. 2004. Edible coating to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). Postharvest Biology and Technology. 33 (1): 67-78.
- Helander, I. M., Nurmiaho-Lassila, E. L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., and Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. International Journal of Food Microbiology. 71: 235-244.
- Hernandez, R. J., Selke, S.E.M. and Culter, J. D. 2000. Plastic Packaging. Hanser Publishers, Munich.
- Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Valle, V.D., Del Velez, V. and Gavara, R. 2008. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality during refrigerated storage. Food Chemistry, 110, 2008, 428-435.
- Kaya, V.M., and Picard, G. 1996. Stability of chitosan gel as entrapment matrix of viable *Scenedesmus bicellularis* cells immobilized on screens for tertiary treatment of wastewater. Bioresource Technology 56: 147 - 155.

- Kester, J.J. and Fennema, O.R., 1986. Edible films and coating: a review. Food Technology. 40: 47-59.
- Kim, K. M., Son, J. H., Kim, S. K., Weller, C. L., and Hanna, M. A. 2006. Properties of chitosan films as a function of pH and solvent type. Journal of Food Science. 71: 119-124.
- Koide, S.S. 1998. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. Nutrition Research. 18 : 1091-1101.
- Nunthanids, J., Puttupipatkachorn, S., Yamamoto, K., and Peck, G. E. 2001. Physical properties and molecular behavior of chitosan films. Drug Development and Industrial Pharmacy. 27: 143-257.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. Food Chemistry 122: 161–166.
- Pranoto, Y., Rakshit, S. K., and Salokhe, V. M. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT. 38, 859-865.
- Sanchez-Gonzalez, L., Varga, M., Gonzalez-Martinez, C., Chiralt, A. and Chafer, . 2012. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. Food Hydrocolloids. 23, 2102-2109.
- Senanayake, U. M. and Wijesekera, R. O. B. 2004. Chemistry of cinnamon and cassia. In Ravindran, P. N., Nirmal Babu, K. and Shylaja M. (Eds.), Cinnamon and cassia, pp. 80 - 120. New York: CRC Press.
- Siripatrawan, U., and Harte, B. R. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloid. 24, 770-775.
- Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., and Tharanathan, R. N. 2007. Effect of plasticizers and fatty acid on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. Food Hydrocolloids 21: 1114-1122.
- Wong, D.W.S., Gastineau, F.A., Gregorski, K.S., Tillin, S.J., and Pavlath, A.E. 1992. Chitosan - lipid films: Microstructure and surface energy. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40: 540-544.
- Zhang, L., and Kosaraju, S. L. 2007. Biopolymeric delivery system for controlled release of polyphenolic antioxidants. European Polymer Journal, 43, 2956-2966.
- Zivanovic, S., Chi, S., and Draughon, A. F. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. Journal of Food Science. 70: 45-51.